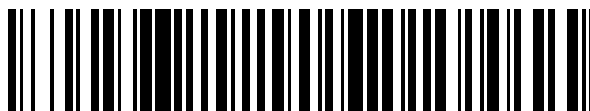


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 422 259**

51 Int. Cl.:

**A61L 27/54** (2006.01)

**A61L 27/12** (2006.01)

**A61K 38/18** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.02.2009** **E 09708984 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2013** **EP 2259807**

54 Título: **Composiciones para la osteogénesis por distracción**

30 Prioridad:

**07.02.2008 US 26934**

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

**10.09.2013**

73 Titular/es:

**BIOMIMETIC THERAPEUTICS, LLC (100.0%)**  
**389 Nichol Mill Lane**  
**Franklin TN 37067, US**

72 Inventor/es:

**HART, CHARLES E.;**  
**LYNCH, SAMUEL E.;**  
**EHRLICH, MICHAEL G. y**  
**MOORE, DOUGLAS C.**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO FACES, José**

**ES 2 422 259 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

Composiciones para la osteogénesis por distracción.

### 5 REFERENCIA CRUZADA CON SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica el beneficio bajo la 35 U.S.C. § 119(e) de la Solicitud Provisional N° de Serie 61/026.934, presentada el 7 de Febrero del 2008.

### 10 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a composiciones y métodos para el uso en procedimientos de osteodistracción.

### 15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

20 La osteodistracción u osteogénesis por distracción es el proceso por el que se usa la distracción incremental del callo de la fractura para estimular y prolongar la formación de hueso activa, proporcionando de este modo un medio de obviar lo que de otra manera sería un defecto óseo grande. La osteogénesis por distracción se usa en la reconstrucción de deformidades esqueléticas y en el alargamiento de los huesos, como en el tratamiento de la desigualdad de la longitud de las extremidades pediátrica.

25 En los procedimientos de osteodistracción, el hueso es dividido quirúrgicamente en dos segmentos, y los dos extremos del hueso se separan gradualmente (fase de distracción). La tasa a la que los dos segmentos del hueso se separan es lo suficientemente lenta de tal forma que el nuevo hueso se pueda formar en el espacio. Cuando se ha alcanzado la longitud deseada, sigue una fase de consolidación.

30 Ya sea en los huesos largos o en el esqueleto craneofacial, la osteogénesis por distracción tiene lugar principalmente a través de osificación intramembranosa. Los estudios histológicos han identificado 4 etapas que resultan en la eventual formación del hueso maduro.

35 Etapa I: El espacio de intervención está compuesto inicialmente de tejido fibroso (colágeno orientado longitudinalmente con fibroblastos con forma de huso dentro de una matriz mesenquimal de células no diferenciadas).

40 Etapa II: Se observa que las trabéculas delgadas del hueso se extienden desde los extremos óseos. La formación del hueso temprana avanza a lo largo de las fibras de colágeno con osteoblastos en la superficie de estas espículas óseas tempranas estableciendo la matriz ósea. Histoquímicamente, se notan los niveles significativamente aumentados de fosfatasa alcalina, ácido pirúvico, y ácido láctico.

45 Etapa III: La remodelación comienza con zonas de avance de la aposición y resorción del hueso y un aumento en el número de osteoclastos.

50 Etapa IV: Se forma el hueso cortical compacto temprano adyacente al hueso maduro de los extremos de hueso seccionados, con cada vez menos espículas óseas orientadas longitudinalmente: esto se asemeja a la arquitectura normal.

55 La remodelación del hueso comienza durante la fase de consolidación y continua durante 1-2 años, transformando eventualmente el hueso regenerado en una estructura ósea madura similar en tamaño y forma al hueso adyacente. Aunque el volumen de hueso nuevo es comparable al de los huesos adyacentes, los estudios en animales muestran que el contenido de mineral y la radiodensidad son aproximadamente un 30% menos, como lo es la resistencia a la tracción del segmento regenerado.

60 Además, la consolidación retrasada después de la distracción es una complicación problemática. Cuando tiene lugar la consolidación retrasada, la retirada de los fijadores del hueso se pospone y aumenta el riesgo de otras complicaciones, como infección.

65 En vista de los problemas asociados con la consolidación y la estructura de nuevo hueso resultante, sería deseable proporcionar sistemas de regeneración osteogénica alternativos para el uso en procedimientos de osteodistracción. Sería además deseable proporcionar métodos para usar sistemas de regeneración osteogénica alternativos en procedimientos de osteodistracción.

### RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona composiciones y métodos para estimular la osteogénesis durante y/o después de la distracción ósea. Las presentes composiciones facilitan y, en algunas realizaciones, aceleran la fase

de consolidación ósea después de la distracción ósea.

En un aspecto, una composición de la presente invención para estimular la osteogénesis durante y/o después de la distracción ósea consiste de una solución que comprende factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y una matriz biocompatible, en donde la solución está dispuesta en la matriz biocompatible como se define en la Reivindicación 1. El PDGF está presente en la solución en una concentración que varía de 0,01 mg/ml a 10 mg/ml preferiblemente de alrededor de 0,05 mg/ml a alrededor de 5 mg/ml o de alrededor de 0,1 mg/ml a alrededor de 1,0 mg/ml, o alrededor de 0,3 mg/ml. La concentración de PDGF dentro de la solución puede estar dentro de cualquiera de los rangos de concentración indicados anteriormente.

En algunas realizaciones de la presente invención, el PDGF comprende homodímeros y heterodímeros de PDGF, incluyendo PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC, PDGF-DD, y mezclas y derivados de los mismos. En algunas realizaciones, el PDGF comprende PDGF-BB. En otra realización el PDGF comprende un PDGF recombinante humano (rh) como PDGF-BB recombinante humano (rhPDGF-BB).

En algunas realizaciones de la presente invención, el PDGF comprende fragmentos de PDGF. En algunas realizaciones el rhPDGF-B comprende los siguientes fragmentos: secuencias de aminoácidos 1-31, 1-32, 33-108, 33-109 y/o 1-108 de la cadena B completa. La secuencia de aminoácidos completa (1-109) de la cadena B del PDGF se proporciona en la Figura 15 de la Patente U.S. N° 5.516.896. Se debe entender que las composiciones de rhPDGF de la presente invención pueden comprender una combinación de rhPDGF-B intacta (1-109) y fragmentos de la misma. Se pueden emplear otros fragmentos de PDGF como los divulgados en la Patente U.S. N° 5.516.896. De acuerdo con una realización, el rhPDGF-BB comprende al menos un 50% de rhPDGF-B (1-109) intacto.

Una matriz biocompatible, comprende un material de armazón óseo. En algunas realizaciones, un material de armazón óseo comprende fosfato cálcico. El fosfato cálcico, en algunas realizaciones, comprende fosfato  $\beta$ -tricálcico. En algunas realizaciones, un material de armazón óseo comprende colágeno u otros materiales poliméricos biocompatibles.

La presente invención proporciona una composición para estimular la osteogénesis durante y/o después de la distracción ósea que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible, en donde la matriz biocompatible comprende un material de armazón óseo y opcionalmente un aglutinante biocompatible. La solución de PDGF tiene una concentración de PDGF como se ha descrito anteriormente. Un material de armazón óseo, en algunas realizaciones, comprende un fosfato cálcico. En algunas realizaciones, un fosfato cálcico comprende un fosfato  $\beta$ -tricálcico. Además, en algunas realizaciones, un aglutinante biocompatible, por ejemplo, puede promover la adhesión entre partículas de un material de armazón en la formación de una matriz biocompatible. En algunas realizaciones, por ejemplo, un aglutinante biocompatible que comprende colágeno puede promover la adhesión entre las partículas  $\beta$ -TCP de un material de armazón.

En algunas realizaciones, las matrices biocompatibles incluyen partículas de fosfato sódico con o sin aglutinantes biocompatibles o aloinjertos óseos como aloinjerto óseo liofilizado (DFDBA), aloinjerto óseo liofilizado mineralizado (FDBA), o matriz ósea desmineralizada particulada (DBM). En otra realización, las matrices biocompatibles comprenden aloinjerto óseo como DFDBA, DBM, u otros materiales de aloinjerto óseo incluyendo formas de hueso corticales, como bloques, cuñas, cilindros, o partículas, o partículas de hueso esponjoso de varias formas y tamaños.

Además, un aglutinante biocompatible, de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención, comprende proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, carbohidratos, polímeros sintéticos, o mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, un aglutinante biocompatible comprende colágeno. En otra realización, un aglutinante biocompatible comprende colágeno, como colágeno bovino o colágeno humano.

Las composiciones de la invención pueden ser para el uso al tratar un hueso durante un procedimiento de osteodistracción y/o para el uso en la fabricación de un medicamento útil para tratar un hueso durante un procedimiento de osteodistracción. Se debe entender que el uso de la composición puede implicar cualquiera de las composiciones y/o métodos como se describen en la presente. Un aspecto de la invención es el uso de una composición que comprende una solución de PDGF y una matriz biocompatible, en donde la solución está dispuesta en la matriz biocompatible, en la preparación de un medicamento útil para estimular la osteogénesis en un procedimiento de osteodistracción. Una realización de la invención es el uso de una composición que comprende una solución de PDGF y una matriz biocompatible, en donde la solución está dispuesta en la matriz biocompatible, en la preparación de un medicamento útil para acelerar la consolidación ósea en un procedimiento de osteodistracción.

La presente invención también proporciona un kit que comprende una matriz biocompatible en un primer paquete y una solución que comprende PDGF en un segundo paquete. En algunas formas, la solución comprende una concentración predeterminada de PDGF. La concentración de PDGF puede ser predeterminada de acuerdo con la naturaleza del procedimiento de osteodistracción que se está realizando. Además, la cantidad de matriz biocompatible proporcionada por un kit puede ser dependiente de la naturaleza o clasificación del procedimiento de

osteodistracción que se está realizando. Una jeringuilla puede facilitar la disposición de la solución de PDGF en la matriz biocompatible para la aplicación en el sitio quirúrgico, como un sitio de distracción ósea.

5 La presente invención adicionalmente proporciona métodos para producir composiciones para promover la osteogénesis. Opcionalmente un método para producir una composición comprende proporcionar una solución que comprende PDGF, proporcionar una matriz biocompatible, y disponer la solución en la matriz biocompatible.

10 La presente invención proporciona adicionalmente métodos para tratar un hueso durante un procedimiento de osteodistracción, y método para promover y/o acelerar la osteogénesis durante y/o después de la distracción ósea.

15 También se divulga un método para estimular y/o acelerar la osteogénesis que comprende proporcionar una composición que comprende solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y aplicar una cantidad efectiva de la composición a al menos un sitio de distracción ósea. En algunos métodos la composición que comprende solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible se aplica durante la distracción ósea. Cuando se aplica durante la distracción ósea, la composición se puede aplicar al sitio una o más (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más) veces durante la distracción ósea. En otros métodos, la composición se aplica después de la distracción ósea. Cuando se aplica después de la distracción ósea, la composición se puede aplicar al sitio una o más (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más) veces después de la distracción ósea. En algunos métodos la cantidad efectiva de la composición se aplica durante y después de la distracción ósea.

25 Opcionalmente un método de estimular la osteogénesis comprende: aplicar una cantidad efectiva de una composición que comprende una solución de factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) dispuesta en una matriz biocompatible a la menos un sitio de distracción ósea. Opcionalmente la composición se aplica durante la fase de distracción del procedimiento de osteodistracción. En algunos métodos, la composición se aplica durante la fase de consolidación del procedimiento de osteodistracción. En algunos métodos la composición se aplica durante las fases de distracción y consolidación del procedimiento de osteodistracción. Opcionalmente, el método comprende acelerar la consolidación ósea después de la distracción ósea. En algunos métodos la composición se aplica en el sitio al menos dos veces. En algunos métodos, la matriz biocompatible comprende un fosfato cálcico poroso. En algunos métodos, el fosfato cálcico comprende  $\beta$ -TCP. En algunos métodos el fosfato cálcico tiene poros interconectados. En algunos métodos, el fosfato cálcico tiene una porosidad mayor de alrededor del 40%. En algunos métodos en fosfato cálcico consiste de partículas en un intervalo de 100 micras a 5000 micras de tamaño. En algunos métodos el fosfato cálcico consiste de partículas en un intervalo de alrededor de 100 micras a alrededor de 300 micras de tamaño. En algunos métodos, la matriz biocompatible es reabsorbible de tal formar que al menos el 80% del fosfato cálcico es reabsorbido dentro de alrededor de un año de haber sido implantado. En algunos métodos, el fosfato cálcico es capaz de absorber una cantidad de la solución de PDGF que es igual a al menos alrededor del 25% del peso del fosfato cálcico. En algunos métodos la matriz biocompatible comprende colágeno. En algunos métodos, el PDGF está presente en la solución a una concentración de alrededor de 0,1 mg/ml a alrededor de 1,0 mg/ml. En algunos métodos, el PDGF está presente en la solución a una concentración de alrededor de 0,3 mg/ml. En algunos métodos, la solución comprende un regulador. En algunos métodos, la matriz biocompatible tiene una porosidad que facilita la migración celular en la composición. En algunos métodos, la matriz biocompatible comprende colágeno y  $\beta$ -TCP en una proporción de alrededor de 20:80. En algunos métodos la composición es inyectable.

45 Opcionalmente un método para estimular la osteogénesis comprende acelerar la consolidación ósea después de la distracción ósea, en donde acelerar comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y aplicar la composición a un sitio de distracción ósea.

50 La presente invención también proporciona métodos para acelerar la unión ósea después de la distracción ósea. Opcionalmente un método para acelerar la unión ósea después de la distracción ósea comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y aplicar una cantidad efectiva de la composición a al menos un sitio de distracción ósea.

55 Además, la presente invención proporciona métodos de realizar procedimientos de osteodistracción. Opcionalmente un método de realizar un procedimiento de osteodistracción comprende (a) dividir un hueso en un primer segmento óseo y un segundo segmento óseo, (b) mover al menos uno del primer y segundo segmentos óseos para producir un espacio entre el primer y el segundo segmentos óseos, y (c) estimular la osteogénesis en el espacio, en donde estimular la osteogénesis comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y al menos aplicar parcialmente una cantidad efectiva de la composición en el espacio. En algunos métodos los pasos (b) y (c) se pueden repetir tantas veces como sea necesario para alargar el hueso cualquier cantidad deseada.

65 Opcionalmente un método de realizar un procedimiento de osteodistracción comprende: (a) dividir un hueso en un primer segmento óseo y un segundo segmento óseo; (b) mover al menos uno del primer y segundo segmentos óseos para formar un espacio entre el primer y el segundo segmentos óseos, y (c) estimular la

osteogénesis en el espacio, en donde estimular la osteogénesis comprende aplicar una cantidad efectiva de una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible en el espacio. Opcionalmente, el método comprende además repetir los pasos (b) y (c) un número de veces necesarias para alargar el hueso una cantidad deseada.

5 En varios métodos el hueso se puede alargar un total de al menos alrededor de 1 mm, al menos alrededor de 2 mm, al menos alrededor de 3 mm, al menos alrededor de 4 mm, al menos alrededor de 5 mm, al menos alrededor de 6 mm, al menos alrededor de 8 mm, al menos alrededor de 10 mm, al menos alrededor de 12 mm, al menos alrededor de 15 mm, al menos alrededor de 20 mm, al menos alrededor de 25 mm, al menos alrededor de 30 mm, al menos alrededor de 35 mm, al menos alrededor de 50 mm, al menos alrededor de 75 mm, al menos alrededor de 100 mm, al menos alrededor de 125 mm, al menos alrededor de 150 mm, al menos alrededor de 175 mm, al menos alrededor de 200 mm. En los métodos, el primer y segundo segmentos óseos están separados por al menos alrededor de 0,1 mm, al menos alrededor de 0,2 mm, al menos alrededor de 0,3 mm, al menos alrededor de 0,4 mm, al menos alrededor de 0,5 mm, al menos alrededor de 0,6 mm, al menos alrededor de 0,7 mm, al menos alrededor de 0,8 mm, al menos alrededor de 0,9 mm, al menos alrededor de 1,00 mm por métodos de paso de distracción (por ejemplo durante el paso (b) anterior). En algunos métodos, el primer y segundo segmentos óseos están separados por de alrededor de 0,5 mm a alrededor de 1,5 mm por paso de distracción. En algunos métodos, el primer y segundo segmentos óseos están separados por de alrededor de 0,8 mm a alrededor de 1,2 mm por paso de distracción. En algunos métodos, el primer y segundo segmentos óseos están separados por alrededor de 1 mm por paso de distracción. En varios métodos se pueden realizar al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 25 pasos de distracción.

25 En algunos métodos aplicar una composición que comprende solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible comprende inyectar la composición en un sitio de distracción ósea. En algunos métodos inyectar comprende inyección percutánea de la composición en el sitio de distracción. En otro método la composición se inyecta en un sitio abierto o quirúrgicamente expuesto de distracción ósea. En un método adicional aplicar la composición comprende disponer la composición en un sitio de distracción ósea con una espátula u otro dispositivo.

30 En algunos métodos, la composición se aplica al sitio de distracción una vez. En varios métodos, la composición se aplica al sitio de distracción al menos dos veces, al menos tres veces, al menos cuatro veces, al menos 5 veces, al menos seis veces, al menos ocho veces, al menos diez veces durante las fases de distracción y/o consolidación. En varios métodos, la composición se puede administrar al sitio de distracción más de una vez al día, diariamente, cada dos días, cada tres días, cada cuatro días, cada cinco días, cada seis días, semanalmente, o menos de una vez por semana durante las fases de distracción y/o consolidación.

35 En algunos métodos, la matriz biocompatible comprende un material de armazón óseo. En algunos métodos, la matriz biocompatible comprende un material de armazón óseo y un aglutinante biocompatible.

40 Como se establece en la presente, opcionalmente una composición de la presente invención se aplica a al menos un sitio de distracción ósea durante la fase de distracción de un procedimiento de osteodistracción. En otras posibilidades, una composición de la presente invención se aplica a al menos un sitio de distracción ósea durante la fase de consolidación después de la distracción ósea. En una opción adicional una composición de la presente invención se aplica a al menos un sitio de distracción ósea durante las fases de distracción y consolidación.

45 Como se establece en la presente, los procedimientos de osteodistracción, pueden comprender los usados en el tratamiento de hipoplasia mandibular bilateral, microsomía hemifacial, fémur corto congénito, hemimelia peronea, hemiatrofia, acondroplasia, neurofibromatosis, piernas arqueadas, fracturas de la placa de crecimiento, defectos óseos, aplicaciones craneofaciales, osteomielitis, artritis séptica y poliomielitis. Además, los procedimientos de osteodistracción, pueden comprender los usados en el tratamiento de varios traumas. Los traumas que requieren procedimientos de osteodistracción pueden comprender fracturas de huesos largos del cuerpo incluyendo el fémur, tibia, peroné, húmero, y/o radio. Los traumas que requieren procedimientos de osteodistracción pueden también incluir fracturas de los huesos craneofaciales. Por ejemplo, los procedimientos de osteodistracción pueden ser usados para alargar el hueso en la preparación para el uso con una prótesis.

55 Por lo tanto, es un objeto de la presente invención el proporcionar métodos y composiciones que comprenden PDGF dispuestas en una matriz biocompatible útiles para facilitar y, en algunas realizaciones, acelerar la osteogénesis en sitios de distracción ósea.

60 Es otro objeto de la presente invención el proporcionar kits para la construcción de composiciones que comprenden PDGF dispuesto en una matriz biocompatible, las composiciones siendo útiles para facilitar y, en algunas realizaciones, acelerar la consolidación ósea después de la distracción ósea.

65 Estos se describen con mayor detalle en la descripción detallada siguiente. Estos y otros objetos, características, y ventajas de la presente invención se harán evidentes después de la revisión de la siguiente descripción detallada de las realizaciones y reivindicaciones divulgadas.

## BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 ilustra el volumen de formación de hueso nuevo en un procedimiento de distracción como una función de la composición administrada y el tiempo de curación de acuerdo con una realización de la presente invención.

La Figura 2 ilustra la fracción de formación de hueso nuevo en un procedimiento de distracción como una función de la composición administrada y el tiempo de curación de acuerdo con una realización de la presente invención.

## DESCRIPCION DETALLADA

La presente invención proporciona composiciones y métodos para estimular y/o acelerar la osteogénesis durante y/o después de la distracción ósea. Las presentes composiciones facilitan y, en algunas realizaciones, aceleran la unión ósea y la fase de consolidación ósea después de la distracción ósea. Una composición comprende una solución que comprende PDGF y una matriz biocompatible, en donde la solución está dispuesta en la matriz biocompatible. Una composición comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible, en donde la matriz biocompatible comprende un material de armazón óseo y opcionalmente un aglutinante biocompatible.

Sin desear estar atados por la teoría, se formula la hipótesis de que la osteogénesis por distracción es distinta de tratar fracturas, en que los segmentos óseos se separan gradualmente durante la fase de distracción, volviendo a lesionar por lo tanto el sitio repetidamente, y manteniendo por lo tanto el nuevo tejido en la curación ósea de etapa temprana durante la fase de distracción. Durante la distracción, se formula la hipótesis de que el estado del nuevo tejido es callo de tejido fibroso, suave (Fases I-III anteriores), con alguna formación de hueso en los extremos de los huesos que están siendo distraídos, y el tratamiento del espacio de distracción durante la fase de distracción del procedimiento implica tratar el tejido durante las Fases I, II, y quizás la Fase III. Adicionalmente, sin desear estar atados por la teoría, se formula la hipótesis de que la curación de la fractura normal tiene lugar por osificación endocortical (que incluye un intermedio de cartílago), mientras que la curación por osteogénesis por distracción implica principalmente osificación intramembranosa (sin intermedio de cartílago).

Volviendo ahora a los componentes que pueden ser incluidos en varias realizaciones de la presente invención, las composiciones de la presente invención comprenden una solución que comprende PDGF.

Soluciones de PDGF

El PDGF juega un papel importante en la regulación del crecimiento y la migración celular. El PDGF, como con otros factores de crecimiento, es operable para enlazar con los dominios extracelulares de las receptores tirosina quinasas. En enlace del PDGF con estas proteínas de la transmembrana activa la actividad de la quinasa de sus dominios catalíticos localizados en el lado citosólico de la membrana. Fosforilando residuos de tirosina de las proteínas objetivo, las quinasas inducen una variedad de procesos celulares que incluyen el crecimiento celular y la producción de la matriz extracelular.

En un aspecto, una composición proporcionada por la presente invención comprende una solución que comprende factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y una matriz biocompatible. El PDGF está presente en la solución en una concentración que varía de 0,01 mg/ml a 10 mg/ml preferiblemente de alrededor de 0,05 mg/ml a alrededor de 5 mg/ml, o de alrededor de 0,1 mg/ml a alrededor de 1,0 mg/ml. El PDGF puede estar presente en la solución en cualquier concentración dentro de los intervalos expuestos. El PDGF está presente en la solución en cualquiera de las concentraciones siguientes: alrededor de 0,05 mg/ml, alrededor de 0,1 mg/ml; alrededor de 0,15 mg/ml; alrededor de 0,2 mg/ml; alrededor de 0,25 mg/ml; alrededor de 0,3 mg/ml; alrededor de 0,35 mg/ml; alrededor de 0,4 mg/ml; alrededor de 0,45 mg/ml; alrededor de 0,5 mg/ml; alrededor de 0,55 mg/ml, alrededor de 0,6 mg/ml, alrededor de 0,65 mg/ml, alrededor de 0,7 mg/ml; alrededor de 0,75 mg/ml; alrededor de 0,8 mg/ml; alrededor de 0,85 mg/ml; alrededor de 0,9 mg/ml; alrededor de 0,95 mg/ml; alrededor de 1,0 mg/ml; o alrededor de de 3,0 mg/ml. En algunas realizaciones, el PDGF está presente en la solución en una concentración que varía de desde alrededor de 0,2 mg/ml a alrededor de 2 mg/ml, desde alrededor de 0,3 mg/ml a alrededor de 3 mg/ml, desde alrededor de 0,4 mg/ml a alrededor de 4 mg/ml, desde alrededor de 0,5 mg/ml a alrededor de 5 mg/ml, desde alrededor de 0,25 mg/ml a alrededor de 0,5 mg/ml, o desde alrededor de 0,2 mg/ml a alrededor de 0,75 mg/ml. Se debe entender que estas concentraciones son simplemente ejemplos de realizaciones particulares, y que la concentración de PDGF puede estar dentro de los intervalos de concentración expresados anteriormente.

Se pueden usar varias concentraciones de PDGF en las composiciones de la presente invención. Las cantidades de PDGF que se podrían usar incluyen cantidades en los intervalos siguientes: de alrededor de 1 ug a alrededor de 50 mg, de alrededor de 10 ug, a alrededor de 25 mg, de alrededor de 100 ug a alrededor de 10 mg, y de alrededor de 250 ug a alrededor de 5 mg.

La concentración de PDGF u otros factores de crecimiento en las realizaciones de la presente invención pueden ser determinados usando un inmunoensayo enzimático como se describe en las Patentes U.S. N° 6.221.625, 5.747.273 y 5.290.708, o cualquier otro ensayo conocido en la técnica para determinar la concentración de PDGF. Cuando se proporciona en la presente, la concentración molar del PDGF se determina en base al peso molecular del dímero del PDGF (por ejemplo, PDGF-BB; Peso Molecular de alrededor de 25 kDa).

En realizaciones de la presente invención, el PDGF comprende homodímeros y heterodímeros de PDGF, incluyendo PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC, PDGF-DD, y mezclas y derivados de los mismos. En algunas realizaciones, el PDGF comprende PDGF-BB. En otra realización el PDGF comprende un PDGF humano recombinante, como el rhPDGF-BB. En algunas realizaciones, el PDGF comprende mezclas de varios homodímeros y/o heterodímeros. Las realizaciones de la presente invención contemplan cualquier combinación de PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC, y/o PDGF-DD.

El PDGF, en algunas realizaciones, puede ser obtenido de fuentes naturales. En otras realizaciones, el PDGF puede ser producido por técnicas de ADN recombinante. En otras realizaciones, el PDGF o fragmentos del mismo se pueden producir usando técnicas de síntesis de péptidos conocidas por alguien experto en la técnica, como síntesis de péptidos de fase sólida. Cuando se obtiene de fuentes naturales, el PDGF puede estar derivado de fluidos biológicos. Los fluidos biológicos, de acuerdo con algunas realizaciones, pueden comprender cualquier fluido tratado o no tratado asociado con organismos vivos incluyendo la sangre.

Los fluidos biológicos, en otra realización, pueden también comprender componentes sanguíneos incluyendo concentrado de plaquetas (PC), plaquetas aferesadas, plasma rico en plaquetas (PRP), plasma, suero, plasma congelado fresco (FFP), y capa leucocitaria (BC). Los fluidos biológicos, en una realización adicional, pueden comprender plaquetas separadas del plasma y resuspendidas en un fluido fisiológico.

Cuando se produce por técnicas de ADN recombinante, se puede insertar, en algunas realizaciones, una secuencia de ADN que codifica un único monómero (por ejemplo la cadena B o la cadena A del PDGF) en células procariotas o eucariotas cultivadas para la expresión para producir posteriormente un homodímero (por ejemplo PDGF-BB o PDGF-AA). En otras realizaciones, un heterodímero de PDGF puede ser generado insertando secuencias de ADN que codifican para ambas unidades monoméricas del heterodímero en células procariotas o eucariotas cultivadas y permitiendo que las unidades monoméricas traducidas sean procesadas por las células para producir el heterodímero (por ejemplo, PDGF-AB). Se puede obtener comercialmente PDGF-BB recombinante cGMP comercialmente disponible de Novartis Corporation (Emeryville, CA). rhPDGF-BB de grado de investigación se puede obtener de múltiples fuentes incluyendo R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN), BD Biosciences (San Jose, CA), y Chemicon, International (Temecula, CA). En algunas realizaciones, las unidades monoméricas se pueden producir en células procariotas de una forma desnaturalizada, en donde la forma desnaturalizada en posteriormente replegada en una molécula activa.

En realizaciones de la presente invención, el PDGF comprende fragmentos de PDGF. En algunas realizaciones el rhPDGF-B comprende los siguientes fragmentos: secuencias de aminoácidos 1-31, 1-32, 33-108, 33-109 y/o 1-108 de la cadena B completa. La secuencia de aminoácidos completa (1-109) de la cadena B del PDGF se proporciona en la Figura 15 de la Patente U.S. N° 5.516.896. Se debe entender que las composiciones de rhPDGF de la presente invención pueden comprender una combinación de rhPDGF-b (1-109) intacto y fragmentos del mismo. Se pueden emplear otros fragmentos de PDGF como los divulgados en la Patente U.S. N° 5.516.896. De acuerdo con una realización, el rhPDGF-BB comprende al menos alrededor del 60% de rhPDGF-B (1-109) intacto. En otra realización, el rhPDGF-BB comprende al menos alrededor del 65%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o el 99% de rhPDGF-B (1-109) intacto.

En algunas realizaciones de la presente invención, el PDGF puede estar purificado. El PDGF purificado, como se usa en la presente, comprende composiciones que tienen más de alrededor del 95% por peso de PDGF antes de la incorporación en las soluciones de la presente invención. Las soluciones puede ser cualquier solución farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, el PDGF puede estar sustancialmente purificado. El PDGF sustancialmente purificado, como se usa en la presente, comprende composiciones que tienen de alrededor del 5% a alrededor del 95% por peso de PDGF antes de la incorporación en soluciones de la presente invención. En algunas realizaciones, el PDGF sustancialmente purificado comprende composiciones que tienen de alrededor del 65% a alrededor del 95% por peso de PDGF antes de la incorporación en las soluciones de la presente invención. En otras realizaciones, el PDGF sustancialmente purificado comprende composiciones que tienen de alrededor del 70% a alrededor del 95%, de alrededor del 75% a alrededor del 85%, de alrededor del 80% a alrededor del 95%, de alrededor del 85% a alrededor del 995%, o de alrededor del 90% a alrededor del 95%, por peso de PDGF, antes de la incorporación en las soluciones de la presente invención. El PDGF purificado y el PDGF sustancialmente purificado se pueden incorporar en armazones y aglutinantes.

En una realización adicional, el PDGF puede estar parcialmente purificado. PDGF parcialmente purificado, como se usa en la presente, comprende composiciones que tienen PDGF en el contexto de plasma rico en plaquetas (PRP), plasma congelado fresco (FFP), o cualquier otro producto sanguíneo que requiere recogida y separación para producir PDGF. Las realizaciones de la presente invención contemplan que cualquiera de las

5 isoformas de PDGF proporcionadas en la presente, incluyendo homodímeros y heterodímeros, pueden ser purificadas o parcialmente purificadas. Las composiciones de la presente invención que contienen mezclas de PDGF pueden contener isoformas de PDGF o fragmentos de PDGF en proporciones parcialmente purificadas. El PDGF parcialmente purificado y purificado, en algunas realizaciones, se puede preparar como se describe en la Solicitud de Patente U.S. N° de Serie 11/159.533 (N° de publicación: 20060084602).

10 En algunas realizaciones, las soluciones que comprenden PDGF están formadas solubilizando PDGF en uno o más reguladores. Los reguladores adecuados para el uso en soluciones de PDGF de la presente invención pueden comprender, pero no están limitados a, carbonatos, fosfatos (por ejemplo, solución salina regulada por fosfato), histidina, acetatos (por ejemplo, acetato sódico), reguladores ácidos como el ácido acético y el HCl, y reguladores orgánicos como la lisina, reguladores Tris (por ejemplo tris(hidroximetil)aminoetano), ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etanosulfónico (HEPES), y ácido 3-(N-morfolino) propanosulfónico (MOPS). Los reguladores se pueden seleccionar en base a la biocompatibilidad con el PDGF y la capacidad del regulador de impedir modificaciones de proteínas no deseables. Los reguladores se pueden seleccionar adicionalmente en base a la compatibilidad con los tejidos huésped. En algunas realizaciones, se usa regulador de acetato sódico. Los reguladores se pueden emplear a diferentes molaridades, por ejemplo de alrededor de 0,1 mM a alrededor de 100 mM, de alrededor de 1 mM a alrededor de 50 mM, de alrededor de 5 mM a alrededor de 40 mM, de alrededor de 10 mM a alrededor de 30 mM, o de alrededor de 15 mM a alrededor de 25 mM, o cualquier molaridad dentro de estos intervalos. En algunas realizaciones, se emplea un regulador de acetato (por ejemplo acetato sódico) a una molaridad de alrededor de 20 mM.

En otra realización, las soluciones que comprenden PDGF se forman solubilizando PDGF liofilizado en agua, en donde antes de la solubilización el PDGF es liofilizado de un regulador apropiado.

25 Las soluciones que comprenden PDGF, de acuerdo con las realizaciones de la presente invención, pueden tener un pH que varía de alrededor de 3,0 a alrededor de 8,0. En algunas realizaciones, una solución que comprende PDGF tiene un pH que varía de alrededor de 8,0 a alrededor de 8,0, más preferiblemente de alrededor de 5,5 a alrededor de 7,0, más preferiblemente de alrededor de 5,5 a alrededor de 6,5, o cualquier valor dentro de estos intervalos. En algunas realizaciones, el pH es de alrededor de 6,0. El pH de las soluciones que comprenden PDGF, en algunas realizaciones, puede ser compatible con la estabilidad prolongada y la eficacia del PDGF o cualquier otro agente biológicamente activo deseado. El PDGF es generalmente más estable en un ambiente ácido. Por lo tanto, de acuerdo con una realización la presente invención comprende una formulación de almacenamiento ácida de una solución de PDGF. De acuerdo con esta realización, la solución de PDGF tiene preferiblemente un pH de alrededor de 3,0 a alrededor de 7,0, y más preferiblemente de alrededor de 4,0 a alrededor de 6,5. La actividad biológica del PDGF, sin embargo, se puede optimizar en una solución que tenga un intervalo de pH neutro. Por lo tanto, en una realización adicional, la presente invención comprende una formulación de pH neutra de una solución de PDGF. De acuerdo con esta realización, la solución de PDGF tiene preferiblemente un pH de alrededor de 5,0 a alrededor de 8,0, más preferiblemente de alrededor de 5,5 a alrededor de 7,0, más preferiblemente de alrededor de 5,5 a alrededor de 6,5. De acuerdo con un método de la presente invención, una solución de PDGF ácida se reformula a una composición de pH neutro, en donde dicha composición se usa después para promover el crecimiento óseo en los sitios de distracción en procedimientos de osteodistracción. De acuerdo con una realización de la presente invención, el PDGF utilizado en las soluciones es rhPDGF-BB.

45 En algunas realizaciones, el pH de la solución que contiene PDGF se puede alterar para optimizar las cinéticas de enlace del PDGF con un sustrato o conector de la matriz. Si se desea, como el pH del material se equilibra con el material adyacente, el PDGF enlazado se puede volver lábil.

50 El pH de las soluciones que comprenden PDGF, en algunas realizaciones, puede ser controlado por los reguladores enumerados en la presente. Varias proteínas demuestran diferentes intervalos de pH en los que son estables. Las estabildades de las proteínas se reflejan principalmente por los puntos isoeléctricos y cargas de las proteínas. El intervalo de pH puede afectar la estructura conformacional de una proteína y la susceptibilidad de una proteína a la degradación proteolítica, hidrólisis, oxidación, y otros procesos que pueden resultar en la modificación de la estructura y/o la actividad biológica de la proteína.

55 Además de las soluciones que comprenden PDGF, las composiciones de la presente invención comprenden también una matriz biocompatible en la que disponer las soluciones de PDGF y pueden también comprender un aglutinante biocompatible ya sea con o sin una matriz biocompatible.

#### 60 Matriz Biocompatible

##### *Material de Armazón*

65 Una matriz biocompatible, de acuerdo con las realizaciones de la presente invención, comprende un material de armazón. El material de armazón, de acuerdo con las realizaciones de la presente invención, proporciona el marco o armazón para que tenga lugar el crecimiento de nuevo tejido y/o hueso. Un material de armazón, en algunas realizaciones, comprende poros multi-direccionales e interconectados de diámetros variables.



En algunas realizaciones, un material de armazón comprende una pluralidad de bolsillos y poros no interconectados de varios diámetros además de los poros interconectados.

5 Un material de armazón, en algunas realizaciones, comprende al menos un fosfato cálcico. En otras realizaciones, un material de armazón puede comprender una pluralidad de fosfatos cálcicos. Los fosfatos cálcicos adecuados para el uso como un material de armazón, en algunas realizaciones de la presente invención, tienen una proporción atómica de calcio a fósforo que varía desde 0,5 a 2. En algunas realizaciones, la matriz biocompatible comprende aloinjertos como aloinjerto óseo liofilizado desmineralizado (DFDBA), matriz ósea desmineralizada particulada (DBM), matriz ósea mineralizada, o combinaciones de los mismos.

10 Ejemplos no limitativos de fosfatos cálcicos adecuados para el uso como materiales de armazón comprenden fosfato cálcico amorfo, monohidrato de fosfato monocálcico (MCPM), anhídrido de fosfato monocálcico (MCPA), dihidrato de fosfato di-cálcico (DCPD), anhídrido de fosfato dicálcico (DCPA), fosfato octacálcico (OCP), fosfato  $\alpha$ -tricálcico, fosfato  $\beta$ -tricálcico, hidroxiapatita (OHAP), hidroxiapatita poco cristalina, fosfato tetracálcico (TTCP), decafosfato heptacálcico, metafosfato cálcico, dihidrato de pirofosfato cálcico, fosfato cálcico carbonatado, pirofosfato cálcico, hidroxiapatita, o derivados de los mismos.

15 En algunas realizaciones, un material de armazón comprende un material polimérico. Un armazón polimérico, en algunas realizaciones, comprende colágeno, ácido poliláctico, poli(L-láctido), poli(D,L-láctido), ácido poliglicólico, poli(L-láctido-coglicólido), poli(L-láctido-co-D,L-láctido), poliacrilato, polimetacrilato, polimetilmacrilato, quitosano, o combinaciones o derivados de los mismos.

20 Un material de armazón comprende estructura porosa. Los materiales de armazón porosos, de acuerdo con algunas realizaciones, pueden comprender poros que tienen diámetros que varían de alrededor de 1  $\mu$ m a alrededor de 1 mm. En algunas realizaciones, un material de armazón comprende macroporos que tienen diámetros que varían de alrededor de 100  $\mu$ m a alrededor de 1 mm o más. En otra realización, un material de armazón comprende mesoporos que tienen diámetros que varían de alrededor de 10  $\mu$ m a alrededor de 100  $\mu$ m. En una realización adicional, un material de armazón comprende microporos que tienen diámetros menores de menos de alrededor de 10  $\mu$ m. Las realizaciones de la presente invención contemplan materiales de armazón que comprenden macroporos, mesoporos, y microporos o cualquier combinación de los mismos.

25 Un material de armazón poroso, en algunas realizaciones, tiene una porosidad mayor de alrededor del 35% o más de alrededor del 40%. En otra realización, un material de armazón poroso tiene una porosidad mayor de alrededor del 50%, mayor de alrededor del 60%, mayor de alrededor del 65%, mayor de alrededor del 70%, mayor de alrededor del 80%, o mayor de alrededor del 85%. En una realización adicional, un material de armazón poroso tiene una porosidad mayor de alrededor del 90%. En algunas realizaciones, un material de armazón poroso comprende una porosidad que facilita la migración celular en el material de armazón.

30 Un material de armazón puede comprender una pluralidad de partículas. Las partículas de armazón pueden ser de mm,  $\mu$ m, o submicras (nm) de tamaño. Las partículas de armazón, pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 1  $\mu$ m a alrededor de 5 mm. Las partículas pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 1 mm a alrededor de 2 mm, de alrededor de 1 mm a alrededor de 3 mm, o de alrededor de 250  $\mu$ m a alrededor de 750  $\mu$ m. Las partículas de armazón, pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 100  $\mu$ m a alrededor de 300  $\mu$ m. Las partículas de armazón pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 75  $\mu$ m a alrededor de 300  $\mu$ m. Las partículas de armazón pueden tener un diámetro medio menor de alrededor de 25  $\mu$ m, menor de alrededor de 1  $\mu$ m, o menos de alrededor de 1 mm. Las partículas de armazón pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 100  $\mu$ m a alrededor de 5 mm o de alrededor de 100  $\mu$ m a alrededor de 2 mm. Las partículas de armazón pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 250  $\mu$ m a alrededor de 2 mm, de alrededor de 250  $\mu$ m a alrededor de 1 mm, o de alrededor de 200  $\mu$ m a alrededor de 3 mm. Las partículas pueden estar también en el intervalo de alrededor de 1 nm a alrededor de 1  $\mu$ m, menos de alrededor de 500 nm, o menos de alrededor de 250 nm.

35 Los materiales de armazón, de acuerdo con algunas realizaciones, son moldeables, extruibles y/o inyectables. Los materiales de armazón moldeables, extruibles, y/o inyectables pueden facilitar la colocación eficiente de las composiciones de la presente invención en y alrededor de sitios de distracción ósea. En algunas realizaciones, los materiales de armazón moldeables, extruibles y/o inyectables se aplican a sitios de distracción ósea con una espátula o dispositivo equivalente. En algunas realizaciones, los materiales de armazón son capaces de fluir. Los materiales de armazón capaces de fluir, en algunas realizaciones, se pueden aplicar a un sitio de distracción ósea a través de una jeringuilla y una aguja o cánula. En otras realizaciones, los materiales de armazón capaces de fluir se pueden aplicar a un sitio expuesto quirúrgicamente de distracción ósea. Además, en algunas realizaciones, los materiales de armazón se proporcionan como bloques o partículas.

40 En algunas realizaciones, los materiales de armazón son bioreabsorbibles. Un material de armazón, en algunas realizaciones, puede ser reabsorbido en al menos un 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90% dentro de un año posterior a la implantación *in vivo*. En otra realización, un material de armazón puede ser reabsorbido al menos un 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85% o 90% dentro de alrededor de

1, 3, 6, 9, 12, ó 18 meses de al implantación *in vivo*. En algunas realizaciones, los materiales de armazón son reabsorbidos en más del 90% dentro de alrededor de 1, 3, 6, 9, 12, ó 18 meses de la implantación *in vivo*. La bioreabsorbilidad dependerá de: (1) la naturaleza del material de la matriz (es decir, su composición química, estructura física y tamaño); (2) la localización dentro del cuerpo en el que la matriz es colocada; (3) la cantidad de material de matriz que se usa; (4) el estado metabólico del paciente (diabético/no diabético, osteoporótico, fumador, edad avanzada, uso de esteroides, etc.); (45) la extensión y/o tipo de lesión tratada; y (6) el uso de otros materiales además de la matriz como otros factores anti-catabólicos, catabólicos y anabólicos óseos.

#### Armazón que Comprende Fosfato $\beta$ -Tricálcico

Un material de armazón para el uso como una matriz biocompatible, en algunas realizaciones, comprende fosfato  $\beta$ -tricálcico ( $\beta$ -TCP). El  $\beta$ -TCP, de acuerdo con algunas realizaciones, puede comprender una estructura porosa que tiene poros multidireccionales e interconectados de diámetros variables. En algunas realizaciones, el  $\beta$ -TCP comprende una pluralidad de bolsillos y poros no interconectados de varios diámetros además de los poros interconectados. La estructura porosa del  $\beta$ -TCP, en algunas realizaciones, comprende macroporos que tienen diámetros que varían de alrededor de 100  $\mu\text{m}$  a alrededor de 1 mm o más, mesoporos que tienen diámetros que varían de alrededor de 10  $\mu\text{m}$  a alrededor de 100  $\mu\text{m}$ , y microporos que tienen diámetros de menos de alrededor de 10  $\mu\text{m}$ . Los macroporos y mesoporos del  $\beta$ -TCP pueden facilitar el crecimiento tisular incluyendo la osteoinducción y la osteoconducción mientras que los macroporos, los mesoporos y los microporos pueden permitir la comunicación fluida y el transporte de nutrientes para apoyar el rebrote tisular y óseo, a lo largo de la matriz biocompatible de  $\beta$ -TCP.

Al comprender una estructura porosa, el  $\beta$ -TCP, en algunas realizaciones, puede tener una porosidad mayor de alrededor del 25%, o mayor de alrededor del 40%. En otras realizaciones el  $\beta$ -TCP puede tener una porosidad mayor de alrededor del 50%, mayor de alrededor del 60%, mayor de alrededor del 65%, mayor de alrededor del 70%, mayor de alrededor del 75%, mayor de alrededor del 80%, o mayor de alrededor del 85%. En una realización adicional, el  $\beta$ -TCP puede tener una porosidad mayor de alrededor del 90%. en algunas realizaciones, el  $\beta$ -TCP puede tener una porosidad que facilita la migración celular en el  $\beta$ -TCP.

En algunas realizaciones, un material de armazón comprende partículas de  $\beta$ -TCP. Las partículas de  $\beta$ -TCP, en algunas realizaciones, pueden demostrar individualmente cualquiera de los diámetros de poro, estructuras de poro, y porosidades proporcionadas en la presente para materiales de armazón.

Las partículas de  $\beta$ -TCP, pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 1  $\mu\text{m}$  a alrededor de 5 mm. Las partículas de  $\beta$ -TCP pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 1 mm a alrededor de 2 mm, de alrededor de 1 mm a alrededor de 3 mm, de alrededor de 100  $\mu\text{m}$  a alrededor de 5 mm, de alrededor de 100  $\mu\text{m}$  a alrededor de 3 mm, de alrededor de 250  $\mu\text{m}$  a alrededor de 2 mm, de alrededor de 250  $\mu\text{m}$  a alrededor de 750  $\mu\text{m}$ , de alrededor de 250  $\mu\text{m}$  a alrededor de 1 mm, de alrededor de 250  $\mu\text{m}$  a alrededor de 2 mm, o de alrededor de 200  $\mu\text{m}$  a alrededor de 3 mm. Las partículas de  $\beta$ -TCP pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 100  $\mu\text{m}$  a alrededor de 300  $\mu\text{m}$ . Las partículas de  $\beta$ -TCP pueden tener un diámetro medio de menos de alrededor de 25  $\mu\text{m}$ , menos de alrededor de 1  $\mu\text{m}$ , o menos de alrededor de 1 mm. Las partículas de  $\beta$ -TCP pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 1 nm a alrededor de 1  $\mu\text{m}$ . Las partículas de  $\beta$ -TCP pueden tener un diámetro medio menor de alrededor de 500 nm o menor de alrededor de 250 nm.

En algunas realizaciones se puede proporcionar una matriz biocompatible que comprende partículas de  $\beta$ -TCP, en una forma adecuada para la implantación (por ejemplo, una esfera, un cilindro, o un bloque). En otras realizaciones, un material de armazón de  $\beta$ -TCP es moldeable, extruible, y/o inyectable facilitando de esta manera la aplicación de la matriz a sitios de distracción ósea. Las matrices capaces de fluir pueden ser aplicadas a través de jeringuillas, tubos, cánulas o espátulas.

Un material de armazón de  $\beta$ -TCP, de acuerdo con algunas realizaciones, es bioreabsorbible. En algunas realizaciones, un material de armazón de  $\beta$ -TCP ser reabsorbido en al menos alrededor de un 30%, 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, ó 85% en alrededor de un año posterior a la implantación *in vivo*. En otra realización, un material de armazón de  $\beta$ -TCP puede ser reabsorbido en más del 90% en alrededor de un año posterior a la implantación *in vivo*.

#### Material de Armazón y Aglutinante Biocompatible

En otra realización, una matriz biocompatible comprende un material de armazón y un aglutinante biocompatible.

Los aglutinantes biocompatibles, de acuerdo con algunas realizaciones, pueden comprender materiales operables para promover la cohesión entre sustancias combinadas. un aglutinante biocompatible, por ejemplo, puede promover la adhesión entre partículas de un material de armazón en la formación de una matriz biocompatible. En ciertas realizaciones, el mismo material puede servir tanto como material de armazón como de

aglutinante. En otras realizaciones, por ejemplo, materiales poliméricos descritos en la presente como colágeno y quitosano pueden servir tanto como material de armazón como de un aglutinante.

5 Los aglutinantes biocompatibles, en algunas realizaciones pueden comprender colágeno, elastina, polisacáridos, ácidos nucleicos, carbohidratos, proteínas, polipéptidos, poli(ácidos  $\alpha$ -hidroxi), poli(lactonas), poli(aminoácidos), poli(anhídridos), poliuretanos, poli(ortoésteres), poli(anhídrido-co-imidas), poli(ortocarbonatos), poli( $\alpha$ -hidroxi alcanooatos), poli(dioxanonas), poli(fosfoésteres), ácido poliláctico, poli(L-láctido) (PLLA), poli(D,L-láctido) (PDLLA), poliglicólido (PGA), poli(láctido-co-glicólido)(PLGA), poli(L-láctido-coD,L-láctido), poli(D,L-láctido-co-trimetileno carbonato), ácido poliglicólico, polihidroxitbutirato (PHB), poli( $\epsilon$ -caprolactona), poli( $\delta$ -valerolactona), poli( $\gamma$ -butirolactona), poli(caprolactona), ácido poliacrílico, ácido policarboxílico, poli(hidrocloruro de alilamina), poli(cloruro de dialildimetilamonio), poli(etileneiminea, polipropileno fumarato, polivinil alcohol, polivinilpirrolidona, polietileno, polimetilmetacrilatoe, fibras de carbono, poli(etileno glicol), poli(óxido de etileno), poli(vinil alcohol), poli(vinilpirrolidona), poli(etiloxazolina), poli(óxido de etileno)-co-poli(óxido de propileno) copolímeros de bloque, poli(etileno tereftalato)poliamida, y copolímeros y mezclas de los mismos.

10 15 Los aglutinantes biocompatibles, en otras realizaciones, pueden comprender ácido algínico, goma arábica, goma guar, goma xantana, gelatina, quitina, quitosano, acetato de quitosano, lactato de quitosano, sulfato de condroitina, N,O-carboximetil quitosano, un dextrano (por ejemplo,  $\alpha$ -ciclodextrina,  $\beta$ -ciclodextrina,  $\gamma$ -ciclodextrina, o sulfato de dextrano sódico), colada e fibrina, lecitina, derivados de fosfatidilcolina, glicerol, ácido hialurónico, hialuronato sódico, una celulosa, (por ejemplo, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropil metilcelulosa, o hidroxietil celulosa), una glucosamina, un proteoglicano, un almidón (por ejemplo almidón de hidroxietil o almidón soluble), ácido láctico, ácidos plurónicos, glicerol fosfato de sodio, glicógeno, una queratina, seda, y derivados y mezclas de los mismos.

20 25 En algunas realizaciones, un aglutinante biocompatible es soluble en agua. Un aglutinante soluble en agua puede disolverse de la matriz biocompatible poco después de su implantación, introduciendo de esta manera macroporosidad en la matriz biocompatible. La macroporosidad, como se comenta en la presente, puede aumentar la osteoconductividad del material del implante aumentando el acceso y, consecuentemente, la actividad de remodelación de los osteoclastos y osteoblastos en el sitio de implante.

30 35 En algunas realizaciones, un aglutinante biocompatible puede estar presente en una matriz biocompatible en una cantidad que varía de alrededor del 5 por ciento en peso a alrededor del 50 por ciento en peso de la matriz. En otras realizaciones, un aglutinante biocompatible puede estar presente en una cantidad que varía de alrededor del 10 por ciento en peso a alrededor del 40 por ciento en peso de la matriz biocompatible. En otra realización, un aglutinante biocompatible puede estar presente en una cantidad que varía de alrededor del 15 por ciento en peso a alrededor del 35 por ciento en peso de la matriz biocompatible. En una realización adicional, un aglutinante biocompatible puede estar presente en una cantidad que varía de alrededor del 20 por ciento en peso de la matriz biocompatible. En otra realización, un aglutinante biocompatible puede estar presente en una matriz biocompatible en una cantidad mayor de alrededor del 50 por ciento en peso o el 60 por ciento en peso de la matriz. En algunas realizaciones, un aglutinante biocompatible puede estar presente en una matriz biocompatible en una cantidad de hasta el 99 por ciento en peso de la matriz.

40 45 Una matriz biocompatible que comprende un material de armazón y un aglutinante biocompatible, de acuerdo con algunas realizaciones, puede ser capaz de fluir, moldeable, y/o extruible. En dichas realizaciones, una matriz biocompatible puede estar en la forma de una pasta o masilla. Una matriz biocompatible en la forma de una pasta o masilla, en algunas realizaciones, puede comprender partículas de un material de armazón adheridas entre sí por un aglutinante biocompatible.

50 Una matriz biocompatible en forma de pasta o masilla puede ser moldeada en la forma de implante deseada o puede ser moldeada a los contornos del sitio de implantación. En algunas realizaciones, una matriz biocompatible en forma de pasta o masilla puede ser inyectada en un sitio de implantación con una jeringuilla o cánula.

55 En algunas realizaciones, una matriz biocompatible en forma de pasta o masilla no se endurece y mantiene una forma capaz de fluir y moldeable posteriormente a la implantación. En otras realizaciones, una pasta o masilla puede endurecerse posteriormente a la implantación, reduciendo de esta manera la capacidad de fluir y la moldeabilidad de la matriz.

60 65 Una matriz biocompatible que comprende un material de armazón y un aglutinante biocompatible, en algunas realizaciones es bioreabsorbible. Una matriz biocompatible, en dichas realizaciones, puede ser reabsorbida dentro de alrededor de un año de la implantación *in vivo*. En otra realización, una matriz biocompatible que comprende un material de armazón y un aglutinante biocompatible puede ser reabsorbida dentro de alrededor de 1, 3, 6, ó 9 meses de la implantación *in vivo*. En algunas realizaciones, una matriz biocompatible que comprende un material de armazón y un aglutinante biocompatible puede ser reabsorbido dentro de alrededor de 1, 3, ó 6 años de la implantación *in vivo*. La bioreabsorbibilidad dependerá de: (1) la naturaleza del material de la matriz (es decir, su composición química, estructura física y tamaño); (2) la localización dentro del cuerpo en el que la matriz es

colocada; (3) la cantidad de material de matriz que se usa; (4) el estado metabólico del paciente (diabético/no diabético, osteoporótico, fumador, edad avanzada, uso de esteroides, etc.); (45) la extensión y/o tipo de lesión tratada; y (6) el uso de otros materiales además de la matriz como otros factores anti-catabólicos, catabólicos y anabólicos óseos.

5

Matriz Biocompatible que comprende  $\beta$ -TCP y Colágeno

En algunas realizaciones, una matriz biocompatible puede comprender un material de armazón de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágeno biocompatible. Los materiales de armazón de  $\beta$ -TCP adecuados para la combinación con un aglutinante de colágeno son consistentes con los proporcionados en la presente anteriormente.

10

Un aglutinante de colágeno, en algunas realizaciones comprende cualquier tipo de colágeno, incluyendo colágenos de Tipo I, Tipo II, y Tipo III. En algunas realizaciones, un aglutinante de colágeno comprende una mezcla de colágenos, como una mezcla de colágenos de Tipo I y Tipo II. En otras realizaciones, un aglutinante de colágeno es soluble bajo condiciones fisiológicas. Se pueden emplear otros tipos de colágeno presentes en los tejidos musculoesqueléticos u óseos. Se pueden usar formas recombinantes, sintéticas y de origen natural de colágeno en la presente invención.

15

Una matriz biocompatible, de acuerdo con algunas realizaciones, puede comprender una pluralidad de partículas de  $\beta$ -TCP adheridas entre sí con un aglutinante de colágeno. Las partículas de  $\beta$ -TCP para la combinación con un aglutinante de colágeno pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 1  $\mu$ m a alrededor de 5 mm. Las partículas de  $\beta$ -TCP pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 1 mm a alrededor de 2 mm, de alrededor de 1 mm a alrededor de 3 mm, de alrededor de 100  $\mu$ m a alrededor de 5 mm, de alrededor de 100  $\mu$ m a alrededor de 3 mm, de alrededor de 250  $\mu$ m a alrededor de 2 mm, de alrededor de 250  $\mu$ m a alrededor de 750  $\mu$ m, de alrededor de 250  $\mu$ m a alrededor de 1 mm, de alrededor de 250  $\mu$ m a alrededor de 2 mm, o de alrededor de 200  $\mu$ m a alrededor de 3mm. Las partículas de  $\beta$ -TCP pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 100  $\mu$ m a alrededor de 300  $\mu$ m. Las partículas de  $\beta$ -TCP pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 75  $\mu$ m a alrededor de 300  $\mu$ m. Las partículas de  $\beta$ -TCP pueden tener un diámetro medio de menos de alrededor de 25  $\mu$ m, menos de alrededor de 1  $\mu$ m, o menos de alrededor de 1 mm. Las partículas de  $\beta$ -TCP pueden tener un diámetro medio que varía de alrededor de 1 nm a alrededor de 1  $\mu$ m. Las partículas de  $\beta$ -TCP pueden tener un diámetro medio de menos de alrededor de 500 nm o menos de alrededor de 250 nm.

20

25

30

Las partículas de  $\beta$ -TCP, en algunas realizaciones, pueden estar adheridas entre sí por el aglutinante de colágeno para producir una matriz biocompatible que tiene una estructura porosa. En algunas realizaciones, la estructura porosa de una matriz biocompatible que comprende partículas de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágeno manifiesta poros multidireccionales e interconectados de diámetros variables. En algunas realizaciones, la matriz biocompatible comprende una pluralidad de bolsillos y poros no interconectados de varios diámetros además de los poros interconectados.

35

En algunas realizaciones, una matriz biocompatible que comprende partículas de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágeno puede comprender poros que tienen diámetros que varían de alrededor de 1  $\mu$ m a alrededor de 1 mm. Una matriz biocompatible que comprende partículas de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágeno puede comprender macroporos que tienen diámetros que varían de alrededor de 100  $\mu$ m a alrededor de 1 mm o mayores, mesoporos que tienen diámetros que varían de alrededor de 10  $\mu$ m a alrededor de 100  $\mu$ m, y microporos que tienen diámetros menores de alrededor de 10  $\mu$ m.

40

45

Una matriz biocompatible que comprende partículas de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágenos puede tener una porosidad mayor de alrededor de un 35%, o mayor de alrededor de un 40%. En varias realizaciones, la matriz biocompatible puede tener una porosidad mayor de alrededor de un 50%, mayor de alrededor de un 65%, mayor de alrededor de un 70%, mayor de alrededor de un 75%, mayor de alrededor de un 80%, o mayor de alrededor de un 85%. En una realización adicional, la matriz biocompatible puede tener una porosidad mayor de alrededor del 90%. En algunas realizaciones, la matriz biocompatible puede tener una porosidad que facilite la migración celular en la matriz.

50

En algunas realizaciones, las partículas de  $\beta$ -TCP, pueden demostrar individualmente cualquiera de los diámetros de poro, estructuras de poro, y porosidades proporcionadas en la presente para una matriz biocompatible que comprende el  $\beta$ -TCP y aglutinante de colágeno.

55

Una matriz biocompatible que comprende partículas de  $\beta$ -TCP, en algunas realizaciones, puede comprender un aglutinante de colágeno en una cantidad que varía de alrededor del 5 por ciento en peso a alrededor del 50 por ciento en peso de la matriz. En otras realizaciones, un aglutinante de colágeno puede estar presente en una cantidad que varía de alrededor del 10 por ciento en peso a alrededor del 40 por ciento en peso de la matriz biocompatible. En otra realización, un aglutinante de colágeno puede estar presente en una cantidad que varía de alrededor del 15 por ciento en peso a alrededor del 35 por ciento en peso de la matriz biocompatible. En una realización adicional, un aglutinante de colágeno puede estar presente en una cantidad de alrededor del 20 por ciento en peso de la matriz biocompatible. En otra realización, un aglutinante de colágeno está presente en una

60

65

cantidad de alrededor del 20 por ciento en peso de la matriz biocompatible, y el  $\beta$ -TCP está presente en una cantidad de alrededor del 80 por ciento en peso de la matriz biocompatible. En algunas realizaciones, el colágeno es colágeno de tipo I bovino soluble. En algunas realizaciones, el  $\beta$ -TCP comprende gránulos que tienen un diámetro de alrededor de 100 a alrededor de 300 micras.

5 En algunas realizaciones, la matriz biocompatible está compuesta de un 20% de colágeno de tipo I bovino soluble y un 80% de gránulos de  $\beta$ -TCP (intervalo de diámetro de partícula de 100-300 micras) por masa. En algunas realizaciones, la matriz se combina con una formulación líquida de 0,3 mg/ml de rhPDGF-Bb en 20 mM de solución de acetato sódico, pH 6,0, y los dos componentes se mezclan para generar una pasta que puede ser inyectada o extendida sobre una superficie ósea.

10 Una matriz biocompatible que comprende partículas de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágeno, de acuerdo con algunas realizaciones, puede ser capaz de fluir, moldeable y/o extruible. En dichas realizaciones, la matriz biocompatible puede estar en la forma de una pasta o masilla. Una pasta o masilla se puede modelar en la forma de implante deseada o puede ser moldeada con los contornos del sitio de implantación. En algunas realizaciones, una matriz biocompatible en forma de pasta o masilla que comprende partículas de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágeno puede ser inyectada en un sitio de implantación con una jeringuilla o una cánula. En varias realizaciones, la matriz biocompatible que comprende partículas de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágenos puede ser inyectada en un sitio de implantación a través de, por ejemplo, agujas de calibre 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ó 20.

20 En algunas realizaciones, una matriz biocompatible en forma de pasta o masilla que comprende partículas de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágeno puede mantener una forma capaz de fluir y moldeable cuando se implanta. En otras realizaciones la pasta o masilla puede endurecerse posteriormente a la implantación, reduciendo de esta manera la capacidad de fluir la moldeabilidad.

25 Una matriz biocompatible que comprende partículas de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágeno, en algunas realizaciones, se puede proporcionar en una forma predeterminada como un bloque, esfera o cilindro.

30 Una matriz biocompatible que comprende partículas de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágeno puede ser reabsorbible. En algunas realizaciones, una matriz biocompatible que comprende partículas de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágeno puede ser reabsorbida en al menos alrededor del 75% en alrededor de un año posterior a la implantación *in vivo*. En otra realización, una matriz biocompatible que comprende partículas de  $\beta$ -TCP y un aglutinante de colágeno puede ser reabsorbida en más de alrededor del 90% en alrededor de un año posterior a la implantación *in vivo*.

35 Una solución que comprende PDGF puede estar dispuesta en una matriz biocompatible para producir una composición para el uso en procedimientos de osteodistracción.

#### 40 Disponer una Solución de PDGF en una matriz Biocompatible

La presente invención proporciona métodos para producir composiciones para estimular la osteogénesis durante y/o después de la distracción ósea. Un método para producir dichas composiciones comprende proporcionar una solución que comprende PDGF, proporcionar una matriz biocompatible, y disponer la solución en la matriz biocompatible. Las soluciones de PDGF y las matrices biocompatibles adecuadas para la combinación son consistentes con las descritas anteriormente en la presente.

45 En algunos métodos, una solución de PDGF puede estar dispuesta en una matriz biocompatible empapando la matriz biocompatible en la solución de PDGF. Una solución de PDGF, en otro método puede estar dispuesta en una matriz biocompatible inyectando la matriz biocompatible con la solución de PDGF. En algunos métodos inyectar una solución de PDGF puede comprender disponer la solución de PDGF en una jeringuilla y expulsar la solución de PDGF en la matriz biocompatible para saturar la matriz biocompatible.

50 En algunos métodos, el PDGF es absorbido en los poros de la matriz biocompatible. En algunos métodos, el PDGF es adsorbido en una o más superficies de la matriz biocompatible, incluyendo superficies dentro de los poros de la matriz biocompatible.

55 En algunos métodos la matriz biocompatible es capaz de absorber una cantidad de líquido que comprende PDGF que es igual a al menos alrededor del 25% del peso de la matriz biocompatible. En varios métodos, la matriz biocompatible es capaz de absorber una cantidad de líquido que comprende PDGF que es igual a al menos alrededor del 50%, al menos alrededor del 200%, al menos alrededor del 300% del peso de la matriz biocompatible.

60 La matriz biocompatible, de acuerdo con algunos métodos puede estar en una forma predeterminada, como un ladrillo o cilindro, antes de recibir una solución de PDGF. Posteriormente a recibir una solución de PDGF, la matriz biocompatible puede tener una forma de pasta o masilla que es capaz de fluir, extruible, y/o inyectable. En otros métodos, la matriz biocompatible puede manifestar una forma de pasta o masilla capaz de fluir, extruible, y/o inyectable antes de recibir una solución que comprende PDGF.

65

Métodos de estimular la Osteogénesis

- 5 Se divulga un método para estimular y/o acelerar la osteogénesis comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y aplicar una cantidad efectiva de la composición a al menos un sitio de distracción ósea. La composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible se puede aplicar durante la distracción ósea. Alternativamente, la composición se puede aplicar tras la distracción ósea. Opcionalmente, una cantidad efectiva de la composición se aplica durante y después de la distracción ósea.
- 10 La presente invención también proporciona métodos de acelerar la unión ósea después de la distracción ósea. Un método para acelerar la unión ósea después de la distracción ósea comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y aplicar una cantidad efectiva de la composición a al menos un sitio de distracción ósea.
- 15 La presente invención proporciona adicionalmente métodos de realizar procedimientos de osteodistracción. Un método de realizar un procedimiento de osteodistracción comprende (a) dividir un hueso en un primer segmento óseo y un segundo segmento óseo, (b) mover al menos uno del primer y segundo segmentos óseos para producir un espacio entre el primer y el segundo segmentos óseos, y (c) estimular la osteogénesis en el espacio, en donde estimular la osteogénesis comprende proporcionar una composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y al menos disponer parcialmente una cantidad efectiva de la composición en el espacio. Los pasos (b) y (c) se pueden repetir tantas veces como sea necesario para alargar el hueso cualquier cantidad deseada.
- 20 En algunos métodos, aplicar la composición comprende inyectar la composición en un sitio de distracción ósea. En algunos métodos, inyectar comprende la inyección percutánea de la composición en el sitio de distracción. En otro método la composición se inyecta en un sitio abierto o quirúrgicamente expuesto de distracción ósea. En un método adicional aplicar la composición comprende disponer (es decir, extender) la composición en un sitio de distracción ósea con una espátula u otro dispositivo.
- 25 La composición puede ser inyectada en el sitio de implantación a través de por ejemplo una aguja de calibre 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, ó 20.
- 30 En algunos la matriz biocompatible comprende un material de armazón óseo. En algunos métodos, la matriz biocompatible comprende un material de armazón óseo y una aglutinante biocompatible.
- 35 Una composición de la presente invención se puede aplicar a al menos un sitio de distracción ósea durante la fase de distracción de un procedimiento de osteodistracción. En otros métodos la composición de la presente invención se aplica a al menos un sitio de distracción ósea durante la fase de consolidación después de la distracción ósea. En un método adicional, una composición de la presente invención se aplica a al menos un sitio de distracción ósea durante las fases de distracción y consolidación.
- 40 El hueso puede ser alargado un total de al menos alrededor de 1 mm, al menos alrededor de 2 mm, al menos alrededor de 3mm, al menos alrededor de 4mm, al menos alrededor de 5 mm, al menos alrededor de 6 mm, al menos alrededor de 8 mm, al menos alrededor de 10 mm, al menos alrededor de 12 mm, al menos alrededor de 15 mm, al menos alrededor de 20 mm, al menos alrededor de 25 mm, al menos alrededor de 30 mm, al menos alrededor de 35 mm, al menos alrededor de 50 mm, al menos alrededor de 75 mm, al menos alrededor de 100 mm, al menos alrededor de 125 mm, al menos alrededor de 150 mm, al menos alrededor de 175 mm, al menos alrededor de 200 mm. En varios métodos, el primer y el segundo segmentos óseos están separados por al menos alrededor de 0,1 mm, al menos alrededor de 0,2 mm, al menos alrededor de 0,3 mm, al menos alrededor de 0,4 mm, al menos alrededor de 0,5 mm, al menos alrededor de 0,6 mm, al menos alrededor de 0,7 mm, al menos alrededor de 0,8 mm, al menos alrededor de 0,9 mm, al menos alrededor de 1,0 mm por paso de distracción (por ejemplo durante el paso (b) anterior). En algunos métodos el primer y segundo segmentos óseos están separados por de alrededor de 0,8 mm a alrededor de 1,2 mm por paso de distracción. En algunos métodos, el primer y segundo segmentos óseos están separados por alrededor de 1 mm por paso de distracción.
- 45
- 50
- 55 En algunos métodos, la composición se aplica al sitio de distracción una vez. En varios métodos la composición se aplica al sitio de distracción al menos dos veces, al menos tres veces, al menos cuatro veces, al menos cinco veces, al menos seis veces, al menos ocho veces, al menos diez veces durante las fases de distracción y/o consolidación. en varios métodos, la composición se puede administrar al sitio de distracción más de una vez al día, diariamente, cada dos días, cada tres días, cada cuatro días, cada cinco días, cada seis días, semanalmente, o menos de una vez por semana durante las fases de distracción y/o consolidación.
- 60
- 65 En varios métodos, hay un aumento significativo en el volumen óseo ( $\text{mm}^3$ ) y/o la fracción de volumen óseo (BV/TV) en el nuevo tejido dentro de alrededor de 1 semana, dentro de alrededor de 2 semanas, dentro de alrededor de 3 semanas, dentro de alrededor de 4 semanas, dentro de alrededor de 5 semanas, dentro de alrededor de 6 semanas, dentro de alrededor de 7 semanas, dentro de alrededor de 8 semanas, dentro de alrededor de 9 semanas,

o dentro de alrededor de 10 semanas del comienzo de la dosificación con la composición, en comparación con los controles de matriz y no tratados. En varios métodos hay un aumento significativo en el volumen óseo ( $\text{mm}^3$ ) y/o la fracción de volumen óseo (BV/TV) en el nuevo tejido dentro de alrededor de 1 semana, dentro de alrededor de 2 semanas, dentro de alrededor de 3 semanas, dentro de alrededor de 4 semanas, dentro de alrededor de 5 semanas, dentro de alrededor de 6 semanas, dentro de alrededor de 7 semanas, dentro de alrededor de 8 semanas, dentro de alrededor de 9 semanas, o dentro de alrededor de 10 semanas del cese de la dosificación con la composición, en comparación con los controles de matriz y no tratados.

Como se proporcionan en la presente, los procedimientos de osteodistracción, comprenden los usados en el tratamiento de hipoplasia mandibular, microsomía hemifacial, fémur corto congénito, hemimelia peronea, hemiatrofia, acondroplasia, neurofibromatosis, piernas arqueadas, fracturas de la placa de crecimiento, defectos óseos, aplicaciones craneofaciales, osteomielitis, artritis séptica y poliomielititis.

Los métodos además comprenden proporcionar al menos una composición farmacéutica además de la composición que comprende una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible y administrar la al menos una composición farmacéutica localmente y/o sistemáticamente. La al menos una composición farmacéutica, en algunas realizaciones, comprende vitaminas, como la vitamina D<sub>3</sub>, suplementos de calcio, o cualquier inhibidor de los osteoclastos conocido por alguien experto en la técnica, incluyendo bifosfonatos. En algunos métodos la al menos una composición farmacéutica se administra localmente. En dichos métodos, la al menos una composición farmacéutica puede ser incorporada en la matriz biocompatible o dispuesta de otra manera en y alrededor de un sitio de distracción ósea. En otros métodos, la al menos una composición farmacéutica se administra sistemáticamente a un paciente. En algunos métodos, por ejemplo, la al menos una composición farmacéutica se administra oralmente a un paciente. En otro método la al menos una composición farmacéutica se administra intravenosamente a un paciente.

Los siguientes ejemplos servirán para ilustrar adicionalmente la presente invención, sin, al mismo tiempo, sin embargo, constituir ninguna limitación de la misma. Al contrario, se debe entender claramente que se puede recurrir a varias realizaciones, modificaciones y equivalentes de la misma que, después de leer la descripción de la presente, pueden sugerir por sí mismas a aquellos expertos en la técnica sin apartarse del espíritu de la invención.

#### EJEMPLO 1

##### *Preparación de una Composición que Comprende una Solución de PDGF y una Matriz Biocompatible*

Se preparó una composición que comprende una solución de PDGF y una matriz biocompatible de acuerdo con el siguiente procedimiento.

Se obtuvo un bloque pre-pesado de matriz biocompatible que comprendía  $\beta$ -TCP y colágeno. El  $\beta$ -TCP comprendía partículas de  $\beta$ -TCP que tenían un tamaño medio que variaba de desde alrededor de 100  $\mu\text{m}$  a alrededor de 300  $\mu\text{m}$ . Las partículas de  $\beta$ -TCP se formularon con alrededor del 20 por ciento en peso de aglutinante de colágeno bovino de Tipo I soluble. Dichas matriz biocompatible de  $\beta$ -TCP/colágeno se puede obtener comercialmente de Kensey Nash (Exton, Pennsylvania).

Se obtuvo una solución que comprendía rhPDGF-BB. El rhPDGF-BB está disponible comercialmente de Novartis Corporation a una concentración madre de 10 mg/ml (es decir, Lot# QA2217) en un regulador de acetato sódico. El rhPDGF-BB se produce en un sistema de expresión de levadura por Novartis Corporation y se deriva de la misma instalación de producción que el rhPDGF-BB que se utiliza en los productos REGRANEX, (Johnson&Johnson) y GEM 21S (BioMimetic Therapeutics) que se han aprobado para el uso humano por la United States Food and Drug Administration. Este rhPDGF-BB también se ha aprobado para el uso humano en la Unión Europea y Canadá. La solución de rhPDGF-BB se diluyó a 0,3 mg/ml en el regulador de acetato sódico. La solución de rhPDGF-BB puede ser diluida a cualquier concentración deseada de acuerdo con las realizaciones de la presente invención.

Se usó una proporción de alrededor de 3 ml de solución de rhPDGF-BB a alrededor de 1 g de peso seco de la matriz biocompatible  $\beta$ -TCP/colágeno para producir la composición. La solución de rhPDGF-BB se expulsó a la matriz biocompatible con una jeringuilla y la composición resultante se mezcló y moldeó en una hebra delgada para la inserción en una jeringuilla para la inyección en un sitio de distracción ósea.

#### EJEMPLO 2

##### *Preparación de una Composición que Comprende una Solución de PDGF y una Matriz Biocompatible*

Se preparó una composición que comprendía una solución de PDGF dispuesta en una matriz biocompatible de acuerdo con el siguiente procedimiento.

Se obtuvo una matriz seca de colágeno bovino soluble que pesaba alrededor de 50 mg de Kensey Nash de Exton, PA. La matriz de colágeno se añadió a un tubo de ensayo de microcentrífuga de 1,5 ml. se añadió 1,0 ml de una solución de rhPDGF-BB en 20 mM de acetato sódico al tubo de ensayo que contenía la matriz de colágeno. Las concentraciones de la solución reguladora de rhPDGF-BB era de 0,3 mg/ml de rhPDGF-BB. Sin embargo, se puede usar cualquier concentración deseada de rhPDGF. La matriz de colágeno se empapó en la solución reguladora de rhPDGF-BB durante alrededor de 10 minutos. Después de 10 minutos, la matriz de colágeno se retiró del tubo de ensayo, se invirtió, y se reemplazó en el tubo de ensayo para ayudar en el procedimiento de hidratación. La matriz de colágeno se dejó en el tubo de ensayo que contenía la solución de rhPDGF-BB durante cinco minutos adicionales.

La matriz de colágeno hidratada y cualquier solución de rhPDGF-BB restante el tubo de ensayo se colocó en una fuente Petri estéril. La matriz de colágeno hidratada y cualquier solución de rhPDGF-BB restante se mezcló con una espátula estéril para completar el procedimiento de hidratación. La matriz de colágeno hidratada se dispuso en una primera jeringuilla de 3 ml. Una vez en la primera jeringuilla, la matriz de colágeno hidratado se extruyó en una segunda jeringuilla de 3 ml. La matriz de colágeno hidratada se extruyó posteriormente de vuelta en la primera jeringuilla de 3 ml. La extrusión de ida y vuelta de la matriz de colágeno hidratada entre la primera y la segunda jeringuillas se realizó tres veces para convertir la matriz de colágeno hidratada en una masilla capaz de fluir. La extrusión entre la primera y la segunda jeringuillas tuvo lugar a través de los orificios abiertos de las jeringuillas sin agujas unidas.

Después de tres ciclos, una aguja de calibre 16 se añadió a la jeringuilla de 3 ml que contenía la matriz de colágeno hidratada, y la matriz de colágeno hidratada se extruyó a través de la aguja de calibre 16. La matriz de colágeno hidratada fue posteriormente extruida a través de una aguja de calibre 20 y se cargó en una jeringuilla de 1 ml para la disposición en el sitio de distracción ósea.

### EJEMPLO 3

#### *Método de Realizar un Procedimiento de Osteodistracción*

Se dividieron 83 ratas Sprague Dawley macho (edad de alrededor de 6 meses, peso 400-500 g) aleatoriamente en cinco grupos de tratamiento conforme a lo dispuesto en la Tabla 1. Cada rata se sometió a un alargamiento femoral de la diafisaria media unilateral (Ver Moore y otros J. Orthop. Res. 2003, 21:489-496). Se aplicó un fijador monolateral de cuatro clavijas distraible a medida al fémur derecho, seguido por una corticotomía diafisaria media de preservación del periostio para permitir el alargamiento femoral. Las heridas se cerraron en capas y los animales se devolvieron a sus cajas y se permitió la carga de peso sin restricciones. Después de un periodo de latencia de siete días, los fémures se alargaron 0,17 mm dos veces por día durante 21 días, para un alargamiento total de 7 mm.

Tabla 1: Estrategia de Tratamiento

Grupos de Tratamiento	Número de Animales
1) Regulador (0.2 M de acetato sódico)	17
2) Colágeno-Regulador Inyectable (0.2 M de acetato sódico)	16
3) Colágeno-/PDGF Inyectable (0.1 mg/ml de PDGF)	16
4) Colágeno-/PDGF Inyectable (0.3 mg/ml de PDGF)	17
5) Colágeno-/PDGF Inyectable (1.0 mg/ml de PDGF)	17
Total	83

La solución de rhPDGF-BB o el regulador se mezcló con colágeno bovino soluble inyectable en la concentración definida en la Tabla 1. El colágeno bovino soluble se obtuvo de Kensey Nash de Exton, PA y se combinó con la solución de PDGF o el regulador de acetato sódico de acuerdo con el procedimiento en el Ejemplo 2.

En los días del post-operatorio 7, 14, 21, y 28, como se establece en el tratamiento y el esquema de adquisición de datos de la Tabla 2, se inyectaron 2,50 µl de la composición asignada en el espacio de distracción de cada animal en cada grupo de tratamiento. La administración de 50 µl de la composición asignada resultó en los animales del Grupo 3 recibiendo 5 µg de rhPDGF-BB mientras que los animales de los Grupos 4 y 5 recibieron 15 µg y 50 µg de rhPDGF-BB respectivamente. La curación se siguió cada dos semanas con radiografías tomadas por un sistema de rayos x de cabina de alta resolución (Faxitron MX 20 X-Ray, Faxitron X-Ray Corporation, Wheeling, IL).



Tabla 2 - Tratamiento y Esquema de Adquisición de Datos para Todos los Grupos

	1	7*	14*	21*	28*	35	42	49	56	63
5	Día									
	Inyección:	↑	↑	↑	↑					
	Faxitron X-ray	↑	↑	↑	↑		↑		↑	↑
	μCT & Histología (n=3/pt)					↑	↑	↑	↑	↑
10	*Fase de Distracción									

15 Se sacrificaron humanamente animales (n=3) de cada grupo en los días del post-operatorio 35, 42, 49, 56, y 63. En el sacrificio los fémures fueron retirados en bloque y colocados en formalina. Se generaron imágenes 3D de alta resolución (tamaño de voxel isométrico de 16 μm) de una región de 16,5 mm en la diáfisis media por tomografía micro-computerizada (μCT40, Scanco Medical AG, Bassersdorf, CH). Las imágenes escaneadas originales se segmentaron usando un filtro de reducción de ruido de paso bajo ( $\sigma=1$ , apoyo=1,0) y umbral fijo (316), y se generaron representaciones de volumen para visualización. Se calcularon entonces la formación ósea nueva (BV) y la fracción de volumen de hueso en el callo (BV/TV) de un segmento de 6,4 mm (400-porción) centrado en el espacio de distracción usando el software de procesamiento de imágenes incorporado en el sistema de escáner. La unión se evaluó por inspección de representaciones de volumen para puenteo óseo.

20 Todos los datos se analizaron usando SAS® versión 9.1.3 (SAS Institute, Inc., Cary, NC). Las comparaciones a posteriori se realizaron usando la prueba HOLM, con alfa mantenido  $\leq 0,05$ . Antes del análisis, los datos de la BV se transformaron logarítmicamente para reducir oblicuidades positivas (Shapiro-Wilk  $p=0,28$  después de la transformación). Después de esto los medios geométricos fueron retrotraducidos para la representación.

25 Las radiografías revelaron nueva formación de hueso dentro del espacio de distracción en cada uno de los Grupos 3-5 que recibían composición de rhPDGF-BB-colágeno. En el día 28, la formación de hueso nuevo en los Grupos 1 y 2 se clasificó significativamente inferior que la formación de hueso nuevo en los Grupos 3-5. Además, la formación de hueso nuevo en el Grupo 4 (0,3 mg/ml de rhPDGF-BB) se clasificó significativamente más alta que la formación de hueso nuevo en el Grupo 5 (1,0 mg/ml de rhPDGF-BB) y los Grupos de control 1 y 2 ( $p<0,05$  para todos). En el día 42, el Grupo 4 (0,3 mg/ml de rhPDGF-BB) se clasificó significativamente más alto en la formación de hueso nuevo que los Grupos de control 1 y 2 ( $p<0,05$ ).

30 El análisis linear mixto de los datos de BV y BV/TV reveló diferencias estadísticamente significativas entre los Grupos de control 1 y 2 y los Grupos 3-5 ( $p<0,0001$  para tanto BV como BV/TV) en varios puntos temporales de sacrificio. Las Figuras 1 y 2 ilustran los valores de BV y BV/TV para los grupos 1-5 en cada punto temporal de sacrificio. La formación de hueso nuevo fue más baja en los Grupos de control 1 y 2, que no eran significativamente diferentes entre sí en cualquier punto temporal. El BV en el Grupo 3 (0,1 mg/ml de rhPDGF-BB) fue mayor que en los Grupos de control 1 y 2 en el día 56 ( $p<0,05$ ), y el BV en el Grupo 5 (1,0 mg/ml de rhPDGF-BB) fue mayor que en los Grupos de control 1 y 2 en los días 42 y 49 ( $p<0,05$  para ambos). El BV en el Grupo 4 (0,3 mg/ml de rhPDGF-BB) fue mayor que en los Grupos de control 1 y 2 en los días 42, 49 y 56 ( $p=0,0002$  y  $p<0,0001$ , respectivamente).

35 Además, el BV/TV en el Grupo 3 (0,1 mg/ml de rhPDGF-BB) fue mayor que en los Grupos de control 1 y 2 en el día 49 ( $p=0,0009$ ). El BV/TV en el Grupo 5 (1,0 mg/ml de rhPDGF-BB) fue mayor que en los Grupos de control 1 y 2 en los días 42 y 49 ( $p=0,0019$  y  $p<0,0001$ , respectivamente), y el BV/TV en el Grupo 4 (0,3 mg/ml de rhPDGF-BB) fue mayor que en los Grupos de control 1 y 2 en los días 42, 49 y 56 ( $p=0,0007$ ,  $p<0,0001$  y  $p<0,0001$ , respectivamente).

40 La inspección de las imágenes de μCT sugirieron que había un aumento general en la tasa de puenteo óseo en los Grupos 3-5 que recibían la composición de rhPDGF-BB. Como se dispone en la Tabla 3, la tasa de unión de los animales en los Grupos 3-5 en el momento del sacrificio fue significativamente mayor que la de los controles combinados (40,3% frente a 4,55%, respectivamente,  $p=0,0127$ )

55

Tabla 3 - Unión Ósea Evaluada por  $\mu$ CT

5	Punto temporal de sacrificio (día)	Grupo de Tratamiento				
		Regulador de Acetato	Acetato+ Colágeno	Acetato+ Colágeno + 0.1 mg/mL de rhPDGF-BB	Acetato+ Colágeno + 0.3 mg/mL	Acetato+ Colágeno + 1.0 mg/mL
10	35	0 / 3	0 / 1	0 / 3	0 / 3	0 / 3
	42	0 / 3	0 / 3	1 / 3	2 / 3	1 / 3
	49	0 / 3	0 / 2	1 / 3	1 / 3	1 / 3
15	56	0 / 2	0 / 1	2 / 3	2 / 3	0 / 3
	63	0 / 3	1 / 1	2 / 3	4 / 4	2 / 4
	Total	1 / 22 (4.55%)		19 / 47 (40.43%)		

20 De los resultados del presente estudio, la administración de composiciones que comprenden rhPDGF-BB a los sitios de distracción aumenta significativamente la formación de hueso nuevo durante el procedimiento de distracción y acelera la unión ósea.

25

**REIVINDICACIONES**

- 5 **1.** Una composición que consiste de una solución de factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) dispuesta en una matriz biocompatible, para el uso en un método de estimular la osteogénesis en un procedimiento de osteodistracción, en donde estimular la osteogénesis consiste de: aplicar una cantidad efectiva de dicha composición a al menos un sitio de distracción ósea, en donde la solución de PDGF consiste de PDGF en un regulador, en donde el PDGF está presente en la solución en una concentración que varía de 0,01 mg/ml a 10 mg/ml, en donde la matriz biocompatible consiste de un material de armazón óseo y opcionalmente de un aglutinante biocompatible, en donde el material de armazón óseo consiste de un fosfato cálcico poroso o un aloinjerto, en donde el material de armazón óseo comprende poros interconectados, en donde el material de armazón óseo consiste de partículas en un intervalo de 100 a 5000 micrómetros (micras) de tamaño, y en donde el aglutinante biocompatible consiste de colágeno.
- 10
- 15 **2.** Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde en el mencionado método la composición se va a aplicar durante:
- 20       a) la fase de distracción del procedimiento de osteodistracción, o  
       b) la fase de consolidación del procedimiento de osteodistracción, o  
       c) las fases de distracción y consolidación del procedimiento de osteodistracción.
- 25 **3.** Una composición de acuerdo con la reivindicación 1, para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el método comprende acelerar la consolidación ósea después de la distracción ósea.
- 30 **4.** Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde en el mencionado método la composición se va a aplicar al sitio al menos dos veces.
- 35 **5.** Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la matriz biocompatible consiste de un material de armazón óseo, en donde el material de armazón óseo consiste de un fosfato cálcico poroso.
- 40 **6.** Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la matriz biocompatible consiste de un material de armazón óseo y un aglutinante biocompatible, y en donde el material de armazón óseo consiste de un fosfato cálcico poroso.
- 45 **7.** Una composición de acuerdo con la reivindicación 5 o la reivindicación 6, para el uso de acuerdo con la reivindicación 5 o la reivindicación 6, en donde el fosfato cálcico comprende  $\beta$ -TCP, opcionalmente en donde el fosfato cálcico consiste de  $\beta$ -TCP.
- 50 **8.** Una composición de acuerdo con la reivindicación 7, para el uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el colágeno y el  $\beta$ -TCP están presentes en la matriz biocompatible en una proporción de 20:80.
- 55 **9.** Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la matriz biocompatible consiste de un material de armazón óseo, en donde el material de armazón óseo consiste de un aloinjerto.
- 60 **10.** Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la matriz biocompatible consiste de un material de armazón óseo y un aglutinante biocompatible, y en donde el material de armazón óseo consiste de un aloinjerto.
- 65 **11.** Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-10, para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-10, en donde el material de armazón óseo consiste de partículas en un intervalo de 1000 micrómetros (micras) a 3000 micrómetros (micras) de tamaño.
- 12.** Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-10, para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-10, en donde el material de armazón óseo consiste de partículas en un intervalo de 100 micrómetros (micras) a 300 micrómetros (micras) de tamaño.
- 13.** Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-10, para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-8, en donde el material de armazón óseo consiste de partículas en un intervalo de 250 micrómetros (micras) a 1000 micrómetros (micras) de tamaño.
- 14.** Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-13, para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-13, en donde
- a) el material de armazón óseo es reabsorbible de tal forma que al menos el 80% del material de armazón

- óseo es reabsorbido dentro de un año de ser implantado, y/o  
b) la matriz biocompatible es capaz de absorber una cantidad de solución de PDGF que es igual a al menos el 25% del peso de la matriz biocompatible, y/o  
c) el material de armazón ósea tiene una porosidad mayor del 40%, y/o  
d) el material de armazón tiene una porosidad que facilita la migración celular en la composición.
- 5
15. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-14, para el uso de acuerdo con cualquiera las reivindicaciones 1-14, en donde el PDGF está presente en la solución a una concentración de 0,1 mg/ml a 1,0 mg/ml.
- 10
16. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-14, para el uso de acuerdo con cualquiera las reivindicaciones 1-14, en donde el PDGF está presente en la solución a una concentración de 0,3 mg/ml.
- 15
17. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-16, para el uso de acuerdo con cualquiera las reivindicaciones 1-16, en donde
- a) el regulador es acetato sódico; y/o  
b) el PDGF es PDGF-BB, opcionalmente en donde el PDGF es PDGF-BB recombinante humano (rh-PDGF-BB).
- 20
18. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17, para el uso de acuerdo con cualquiera las reivindicaciones 1-17, en donde la composición es inyectable.
- 25
19. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el mencionado método comprende realizar un procedimiento de osteodistracción que comprende:
- a) dividir un hueso en un primer segmento óseo y un segundo segmento óseo;  
b) mover al menos uno del primer y el segundo segmentos óseos para formar un espacio entre el primer y el segundo segmentos óseos; y  
c) estimular la osteogénesis en el espacio.
- 30
- en donde estimular la osteogénesis consiste aplicar una cantidad efectiva de la mencionada composición al espacio.
- 35
20. Una composición de acuerdo con la reivindicación 19, para el uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde el mencionado método comprende además repetir los pasos (b) y (c) un número de veces necesario para alargar el hueso una cantidad deseada.
- 40
21. El uso de una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-20 en la preparación de un medicamento útil para estimular la osteogénesis en un procedimiento de osteodistracción.

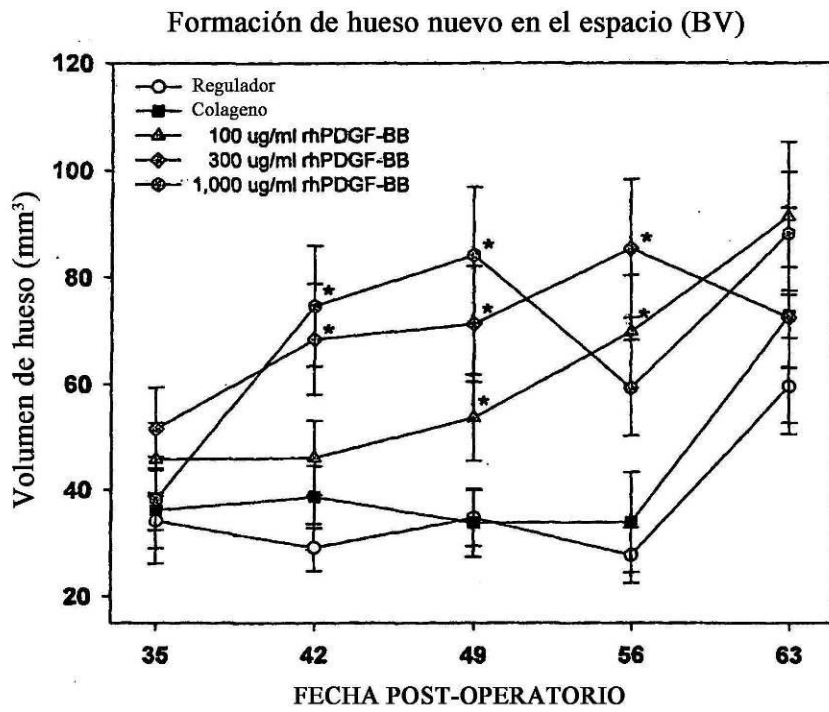


FIGURA 1

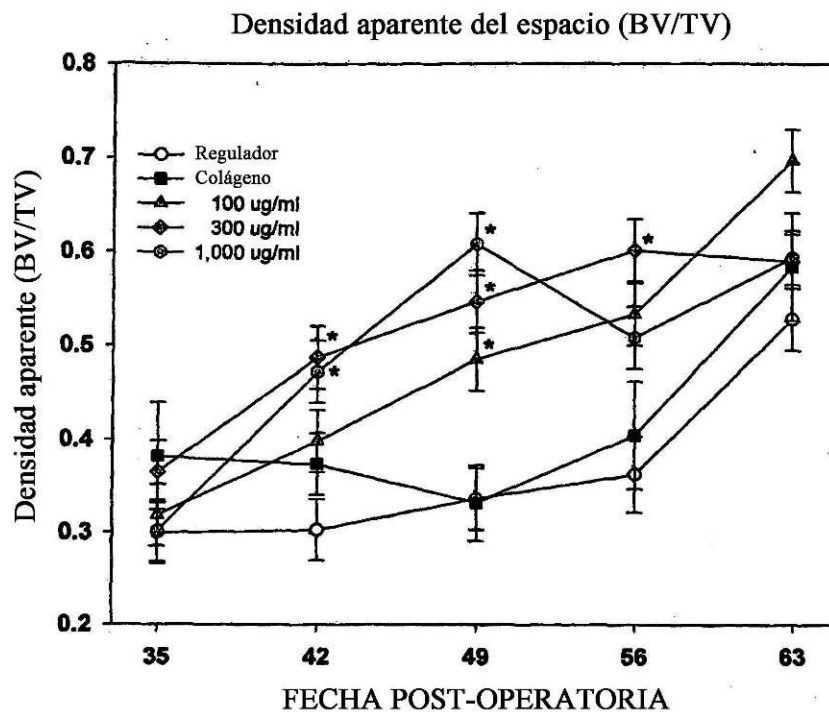


FIGURA 2