(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 663 828**

(51) Int. Cl.:
A61C 8/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.09.2010** **PCT/US2010/048231**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **17.03.2011** **WO11031830**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2010** **E 10816063 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.01.2018** **EP 2475325**

(54) Título: **Composiciones y métodos de detección y tratamiento de aflojamiento de implante y osteólisis**

(30) Prioridad:

09.09.2009 US 276213 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.04.2018

(73) Titular/es:

BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF NEBRASKA (50.0%)
986099 Nebraska Medica Center
Omaha, NE 68198-6099, US y
HOSPITAL FOR SPECIAL SURGERY (50.0%)

(72) Inventor/es:

WANG, DONG;
GOLDRING, STEVEN R. y
FEHRINGER, EDWARD V.

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 663 828 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 y métodos de detección y tratamiento de aflojamiento de implante y osteólisis

Campo de la invención

La presente invención se refiere a los campos de la osteólisis y el aflojamiento de implante. Más específicamente, la invención proporciona composiciones y métodos de detección y tratamiento del aflojamiento de implante y osteólisis.

Antecedentes de la invención

Se citan varias publicaciones y documentos de patente en toda la memoria descriptiva con el fin de describir el estado de la técnica al que se refiere la presente invención. Cada una de estas citas se incorpora en el presente documento por referencia como si se hubiera expuesto por completo.

Se estima que anualmente se realizan en el mundo 1,5 millones de procedimientos de artroplastia total para tratar una enfermedad articular terminal (Drees et al. (2007) Nat. Clin. Pract. Rheumatol., 3:165-71). La tasa de éxitos a los 10 años global para sustitución articular total es del 90 %, con cerca del 10 % de pacientes que requieren cirugía de revisión, que está asociado a un desenlace peor y a duración más corta de la supervivencia del implante (Santerre et al. (2000) Can. J. Surg., 43:173-9). Se considera que la inflamación producida por las partículas de desgaste generadas a partir de las superficies de articulación de los componentes protésicos representa una causa importante de aflojamiento de implante aséptico y fallo clínico después de la sustitución articular total (Holt et al. (2007) Clin. Orthop. Relat. Res., 460:240-52). Se ha mostrado que las partículas de desgaste activan macrófagos e inducen una reacción inflamatoria granulomatosa que produce osteólisis peri-implante mediada por osteoclastos en la interfase hueso-implante, que conduce a la pérdida de la fijación.

Las modalidades de obtención de imágenes no invasivas tales como rayos X y CT sucesivos se han usado en el diagnóstico clínico de la osteólisis y el aflojamiento de implante (Leopold et al. (1999) Clin. Orthopaed. Rel. Res., 179-86). Estos métodos son eficaces en detectar la osteólisis y pérdida asociada de fijación del implante. En fases precoces de la osteólisis, sin embargo, los cambios esqueléticos son difíciles de detectar y los procedimientos de obtención de imágenes son caros y van acompañados de exposición a alta radiación, y existe una necesidad de técnicas más sensibles para detectar la inflamación temprana inducida por partículas antes del desarrollo de una extensa osteólisis.

Sumario de la invención

Un primer aspecto de la invención proporciona una composición para su uso en un método de diagnóstico *in vivo* de aflojamiento de implante en un sujeto, comprendiendo dicha composición al menos un polímero soluble en agua y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que dicho polímero soluble en agua está operativamente unido a al menos un agente de obtención de imágenes, en el que dicho polímero soluble en agua es un copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA), y en el que la presencia de dicho polímero soluble en agua en el sitio del implante en dicho sujeto es indicativa de aflojamiento de implante.

Un segundo aspecto de la invención proporciona una composición para su uso en inhibir el aflojamiento de un implante, comprendiendo dicha composición al menos un polímero soluble en agua y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que dicho polímero soluble en agua está operativamente unido a al menos un agente terapéutico, en el que dicho polímero soluble en agua es un copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA). En una realización particular, el agente terapéutico es un agente terapéutico antiinflamatorio tal como dexametasona. El polímero soluble en agua puede estar operativamente unido al agente terapéutico antiinflamatorio mediante un conector degradable/escindible tal como un conector sensible al pH. Adicionalmente, los métodos en los que la composición es para uso pueden comprender además administrar al menos un agente terapéutico antiinflamatorio adicional.

Un tercer aspecto de la invención proporciona una composición para su uso en un método de diagnóstico *in vivo* de un riesgo elevado de osteólisis en un sujeto, comprendiendo dicha composición al menos un polímero soluble en agua y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que dicho polímero soluble en agua está operativamente unido a al menos un agente de obtención de imágenes, en el que dicho polímero soluble en agua es un copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA), y en el que la localización de dicho polímero soluble en agua en un sitio en el sujeto es indicativa de un riesgo elevado de osteólisis. En una realización particular, el sujeto tiene un implante ortopédico (por ejemplo, sustitución articular) y/o dental.

Un cuarto aspecto de la invención proporciona una composición para su uso en inhibir osteólisis, comprendiendo dicha composición al menos un polímero soluble en agua y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que dicho polímero soluble en agua está operativamente unido a al menos un agente terapéutico, en el que dicho polímero soluble en agua es un copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA). En una realización particular, el agente terapéutico es un agente terapéutico antiinflamatorio tal como dexametasona. El polímero

soluble en agua puede estar operativamente unido al agente terapéutico antiinflamatorio mediante un conector degradable/escindible tal como un conector sensible al pH. Adicionalmente, los métodos en los que la composición es para uso pueden comprender además administrar al menos un agente terapéutico antiinflamatorio adicional. La osteólisis puede ser en el sitio de un implante ortopédico o dental.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un esquema de la síntesis de P-IRDye y P-Alexa.
La Figura 2 proporciona la estructura química de P-Dex.
La Figura 3 proporciona imágenes representativas de tomografía microcomputerizada (micro-CT) de la bóveda craneal de ratón 7 días después de implantaciones con PBS (Fig. 3A y 3A-1) o partícula de PMMA (Fig. 3B y 3B-1). Las Figuras 3A-1 y 3B-1 son ampliaciones de las regiones seleccionadas en las Figuras 3A y 3B, respectivamente. Los animales implantados con partículas de PMMA mostraron una fuerte evidencia de resorción ósea en comparación con los animales tratados con PBS. Además, hubo diferencias significativas entre los dos grupos en términos de superficie ósea con respecto a volumen óseo (BS/BV) y espesor óseo ($p < 0,05$).
La Figura 4 proporciona imágenes representativas de bóveda craneal no descalcificada después de la tinción con fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP) (Fig. 4A y 4B) y secciones de tejido de bóveda craneal descalcificada teñida con hematoxilina y eosina (H&E) (Fig. 4C y 4D). La tinción con TRAP del tejido de bóveda craneal no descalcificada muestra la presencia de abundante tejido positivo para TRAP (Fig. 4B) demostrado por la flecha (los aumentos son 40x). Después de la descalcificación, se tiñeron las secciones de bóveda craneal con H&E (Fig. 4C y 4D). La flecha doble en la Figura 4D indica la región de resorción ósea focal (400x).
La Figura 5 proporciona obtención de imágenes ópticas vivas después de la implantación de solución salina tamponada con fosfato (PBS) o poli(metacrilato de metilo) (PMMA). Se administró P-IRDye mediante inyección en la vena de la cola al día siguiente después de la implantación de PBS o PMMA. Se obtuvieron imágenes de los ratones antes y cada día después de la administración del agente de obtención de imágenes ópticas durante los 6 días siguientes. En la Figura 5A, el panel superior muestra las imágenes del grupo tratado con PBS. El panel inferior muestra las imágenes del grupo implantado con PMMA. En comparación con el grupo de PBS, los animales implantados con partículas de PMMA demostraron señales de NIR más intensas y de duración más larga en la región de la bóveda craneal donde se implantaron las partículas de PMMA. La Figura 5B muestra la intensidad de señal de NIR medida a partir de una región de interés coherente (círculo) en el sitio de la bóveda craneal para todos los ratones. Las diferencias de intensidad de señal en los dos grupos fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$).
La Figura 6 proporciona imágenes confocales representativas de secciones congeladas teñidas de anticuerpos anti-Ly-6G (Gr-1, Gr1), anti-F4/80, anti-CD11c y anti-P4HB de bóveda craneal y tejido blando adyacente de ratones implantados con partículas de PMMA (tratados con P-Alexa). Cada panel estuvo compuesto de cuatro sub-imágenes: tinción roja con anticuerpo, fluorescencia verde de P-Alexa, imagen de DIC y la co-localización de los tres. La co-localización del color rojo y verde en ambos paneles da un color amarillo, que confirma la internalización del copolímero de HPMA conjugado con células positivas para Ly-6G (Gr-1, Gr1), F4/80 o CD11c en los sitios de inflamación. Los aumentos son a 400x.
La Figura 7 proporciona datos representativos de análisis de barrido de células activado por fluorescencia (FACS) de células aisladas de sitios de inflamación inducida por partículas de PMMA 24 horas después de la administración sistémica de P-Alexa. Las representaciones de histograma muestran la intensidad de tinción con los anticuerpos específicos diseñados en el eje x (relleno) con anticuerpos de control de isotipo (líneas) en las mismas representaciones. Los porcentajes representan el porcentaje de células positivas para anticuerpo entre células positivas para P-Alexa. Figura 7A: 25,12 % de células positivas para P-Alexa fueron positivas ara F4/80; Figura 7B: 35,15 % de células positivas para P-Alexa fueron positivas para Ly-6G; Figura 7C: 9,73 % de células positivas para P-Alexa fueron positivas para CD11c; Figura 7D: < 1 % de células positivas para P-Alexa fueron positivas para P4HB.
La Figura 8 demuestra los efectos de P-Dex sobre la supresión de ARNm de IL-1α e IL-1β inducido por partículas de PMMA en monocitos humanos cultivados. Los niveles de expresión de ARNm se expresan con respecto al gen de mantenimiento GAPDH, y se normalizan a células de control no tratadas. $n = 3$. El nivel de ARNm de IL-1α del grupo de PMMA es significativamente superior a los grupos de Dex libre y de P-Dex ($p < 0,05$). No se detectó diferencia significativa entre los grupos de Dex libre y de P-Dex. El nivel de ARNm de IL-1β del grupo de PMMA también es más alto (pero no significativamente) que el de los grupos de Dex libre y de P-Dex.

Descripción detallada de la invención

En el presente documento se demuestra que el copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA) se localiza en sitios de inflamación granulomatosa, tales como aquellos inducidos por las partículas de desgaste. Datos recientes han demostrado que el copolímero de HPMA (Duncan, R. (2003) Nature Rev., 2:347-60) se acumula selectivamente en sitios inflamatorios en un modelo de rata de artritis inducida por adyuvante (AA) y cuando se conjuga con un agente de contraste el copolímero puede eficazmente obtener imágenes de sitios de inflamación articular (Wang et al. (2007) Arthritis Res. Ther., 9:R2; Liu et al. (2008) Pharm. Res., 25:2910-9). Cuando se carga con dexametasona (Dex, un potente glucocorticoide antiinflamatorio), el conjugado de copolímero de HPMA (P-Dex)

proporciona mejora superior y sostenida de la inflamación cuando se compara con una dosis equivalente de Dex libre. De hecho, se usó el sistema de copolímero de HPMA en un modelo de ratón de osteólisis inducida por partículas y se muestra que el sistema de copolímero de HPMA puede usarse eficazmente para la detección de inflamación local inducida por partículas y para dirigir un agente terapéutico antiinflamatorio al sitio de inflamación para prevenir la osteólisis. Pueden usarse copolímeros de HPMA marcados con sondas de obtención de imágenes para la detección temprana de osteólisis periprotésica. El sistema puede adaptarse para usar emisores gamma o de positrones como mecanismo de supervisión en sujetos mamíferos (por ejemplo, humanos) para detectar la formación temprana de granuloma peri-implante inducido por partículas de desgaste y signos de osteólisis tempranos. Para las etapas posteriores de la osteólisis que pueden no asociarse a inflamación severa, pueden usarse vehículos poliméricos con restos que se dirigen al hueso para elegir como diana el sitio de lesión ósea temprana.

Como se estableció anteriormente en este documento, se considera que la inflamación inducida por partículas de desgaste es una causa importante de aflojamiento de implante aséptico y fallo clínico después de la sustitución articular total. Debido a la frecuente ausencia de síntomas, la detección precoz e intervención antes del fallo del implante presenta un reto significativo. Para tratar este problema, se desarrolló un agente de contraste de obtención de imágenes ópticas basado en copolímero de HPMA (por ejemplo, P-IRDye) y se usó para la detección de inflamación inducida por partículas de desgaste. Polímeros solubles en agua biocompatibles, tales como copolímero de HPMA, pueden localizarse específicamente en sitios de inflamación articular, usando un modelo de rata de artritis inducida por adyuvante (AA) (Wang et al. (2004) Pharm. Res., 21:1741-9). Se estudió la inflamación inducida por partículas de desgaste empleando un modelo de osteólisis murina en el que partículas de poli(metacrilato de metilo) (PMMA) se implantaban en la bóveda craneal de ratones Swiss Webster. Más específicamente, se modificó un modelo de osteólisis estándar de la bóveda craneal de ratón, que se ha usado ampliamente para el estudio de aflojamiento de implante aséptico (Kaar et al. (2001) J. Orthop. Res., 19:171-8; von Knoch et al. (2005) Biomaterials 26:5783-9). En este modelo, se hace una incisión sagital en la línea media para permitir la exposición de la bóveda craneal, seguido de eliminación del periostio, deposición de partículas y cierre de la incisión. Dos factores contribuyen a la inflamación en el sitio de implantación, la reparación natural del traumatismo quirúrgico y la reacción celular y de tejido a las partículas implantadas. Para minimizar los efectos del traumatismo quirúrgico, se modificó este procedimiento y se usó un método mínimamente invasivo para introducir las partículas de PMMA en la bóveda craneal de ratón. Este procedimiento modificado incluye dos etapas: eliminación de periostio por la punta de aguja insertada y la instilación de las partículas de PMMA mediante la aguja. La osteólisis inducida por partículas se confirmó por tomografía microcomputerizada (μ-CT), tinción con hematoxilina y eosina (H&E) y con fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP) de la bóveda craneal aislada en la autopsia. Después de la implantación de partículas de PMMA, se administró P-IRDye a los ratones mediante inyección en la vena de la cola. La obtención de imágenes vivas de los animales después de la implantación reveló la distribución preferencial y retención sostenida del agente de contraste macromolecular en el sitio de implantación de partículas. Los análisis de tinción inmunohistoquímica y FACS del tejido blando asociado a la bóveda craneal revelaron una amplia captación del copolímero de HPMA por células positivas para F4/80, Ly-6G (Gr1) y CD11c, que explica la retención sostenida de las sondas macromoleculares en los sitios inflamatorios. Para probar el potencial del sistema para intervención terapéutica, se preparó un conjugado lábil en ácido de copolímero de HPMA-dexametasona (P-Dex) y se mostró que previno la inflamación inducida por PMMA y la osteólisis en el modelo de implante de bóveda craneal. Se usó un modelo de cultivo celular *in vitro* para demostrar que el pretratamiento de P-Dex suprimió la expresión de IL-1α e IL-1β en monocitos expuestos a PMMA, que proporciona una posible explicación para la eficacia *in vivo* de P-Dex en inhibir la osteólisis inducida por PMMA.

Los estudios de obtención de imágenes ópticas *in vivo* con el modelo de osteólisis de bóveda craneal de ratón modificado revelaron que P-IRDye se localizó principalmente en los sitios de implantación de partículas de PMMA 7 días después de la implantación de las partículas. Para entonces, el tejido blando estaba inflamado con evidencia claramente visual de hinchazón y rojez. Las secciones de tejido teñidas con H&E de los sitios de implantación de partículas revelaron infiltración de abundantes células inflamatorias asociadas a la inflamación de tejido local. La obtención de imágenes diaria de los animales reveló que la señal de P-IRDye en el sitio de implantación de partículas estuvo sostenida durante la evolución completa del estudio, con una disminución gradual al 60 % de la intensidad de señal original en el día 6 después de la administración de P-IRDye. El nivel de señal de contraste sostenido indica la utilidad clínica de este sistema de obtención de imágenes, ya que proporciona un periodo de tiempo prolongado para la detección. Aunque este enfoque de obtención de imágenes basado en polímero puede usarse para el diagnóstico precoz de inflamación asociada al implante, la selección de la sonda de obtención de imágenes de infrarrojo cercano se adapta preferentemente para agentes de obtención de imágenes alternos para aplicación clínica en sujetos humanos, ya que la obtención de imágenes de infrarrojos cercano tiene capacidad de penetración de tejidos más baja, especialmente a través de tejidos mineralizados, que otros agentes de obtención de imágenes (Kolari et al. (1993) Acupunct. Electrother. Res., 18:17-21; Mancini et al. (1994) J. Appl. Physiol., 77:2740-7). Como alternativa, pueden utilizarse emisores gamma o de positrones (por ejemplo ^{123}I, ^{111}In, ^{99m}Tc, ^{18}F, ^{64}Cu, ^{201}Tl, etc.) en aplicaciones clínicas en mamíferos, animales grandes o humanos. Debido a los altos niveles de energía de estos radioisótopos, sus señales pueden ser fácilmente detectadas por modalidades de obtención de imágenes clínicas tales como CT de emisión de fotón único/CT (SPECT/CT) y tomografía de emisión de positrones - tomografía computerizada (PET/CT). También puede usarse imagen por resonancia magnética (IRM) para detectar los polímeros de la presente invención.

Similar al efecto de permeabilidad y retención potenciado (EPR) observado con tumores sólidos (Matsumura et al. (1986) Cancer Res., 46:6387-92), la elevada permeabilidad vascular a las macromoléculas ha sido bien documentada con tejidos inflamatorios (Henson, P.M. (2005) Nat. Immunol., 6:1179-81). Diferente de los tumores sólidos, sin embargo, la eliminación de macromoléculas del espacio intersticial de tejidos inflamatorios avanza rápidamente y estacionariamente mediante el sistema linfático, después de la extravasación de vasos sanguíneos (Maeda, H. (2010) Bioconjugate Chem., 21:797-802). El hallazgo de la señal sostenida de P-IRDye en los sitios inflamatorios en este estudio es de gran significancia, ya que indica la presencia de un mecanismo previamente no reconocido de retención de macromoléculas y otros sistemas coloidales en sitios de inflamación. Para explorar este novedoso mecanismo, se aislaron tejidos de la bóveda craneal de ratón asociados a las partículas de PMMA y se procesaron para análisis histológicos y de FACS. Se usó P-Alexa como sucedáneo para P-IRDye, ya que no pudo detectarse la señal de infrarrojo cercano por un microscopio confocal y citómetro de flujo. Para garantizar propiedades fisicoquímicas similares de los dos conjugados, también se usó el mismo precursor de copolímero de HPMA que contenía amina usado en la síntesis de P-IRDye en la síntesis de P-Alexa. La evaluación inmunohistológica reveló que P-Alexa fue internalizado por células en los sitios inflamatorios. Usando un panel de anticuerpos, las células se identificaron como macrófagos ($F4/80^+$), células dendríticas ($CD11c^+$) o monocitos inflamatorios ($Gr1^+$). Aunque Gr1 también se expresa en neutrófilos, la tinción con H&E (por ejemplo, Figura 4D) confirmó que las células que expresan características fenotípicas de neutrófilos fueron raramente detectadas. Mientras tanto, el análisis de FACS usando marcador de neutrófilos específico (marcador de rata anti-neutrófilos de de ratón 7/4, AbD Serotec, Raleigh, NC) también mostró que menos del 5 % por ciento de las células positivas para P-Alexa eran positivas para 7/4. Por tanto, las células positivas para GR1 y P-Alexa fueron predominantemente monocitos inflamatorios. El análisis de las secciones de tejido de H&E demostraron que hubo células con características fenotípicas de fibroblastos, aunque las células P4HB positivas no se detectaron en los análisis inmunohistológicos y de FACS, que puede atribuirse a la desnaturalización del antígeno durante el procesamiento de tejidos/células. El análisis de FACS de células dispersas de los sitios de la implantación de partículas mostró que la mayoría de las células (más del 80 %) fueron positivas para Ly-6G (Gr-1, Gr1), que está de acuerdo con la respuesta inflamatoria aguda en el periodo inmediato después de la implantación de partículas de PMMA. Estos hallazgos indican que la retención de las sondas de obtención de imágenes poliméricas está relacionada con la captación celular del copolímero por células inflamatorias activadas después de la extravasación en el sitio inflamatorio.

Se realizaron estudios adicionales para determinar si este novedoso mecanismo de retención asociado a la inflamación inducida por partículas podría ser explotado para el desarrollo de una intervención terapéutica para inhibir la inflamación inducida por partículas y la osteólisis asociada. Los resultados de micro-CT demostraron que la administración de una única P-Dex un día después de la implantación de partículas atenuó la osteólisis. Estudios de cultivos celulares *in vitro* mostraron que P-Dex fue internalizado por monocitos humanos tratados con PMMA mediante endocitosis y que se retuvo en un compartimento lisosómico. Este tratamiento estuvo acompañado por la supresión de la expresión inducida por partículas de citocinas inflamatorias tales como IL-1α e IL-1β, que probablemente contribuye a la atenuación de la respuesta inflamatoria local. La supresión de la expresión de IL-1 y citocinas inflamatorias relacionadas con la actividad inductora de osteoclastos por P-Dex proporciona un posible mecanismo por el que el copolímero de P-Dex inhibió la osteólisis inducida por partículas.

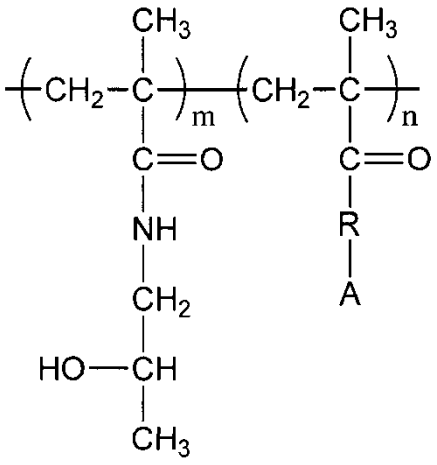
Usando un modelo de osteólisis de la bóveda craneal murina modificado, se ha encontrado en el presente documento que los agentes de obtención de imágenes basados en macromoléculas solubles en agua, tales como copolímeros de HPMA, pueden usarse para identificar sitios de inflamación asociados a la fase precoz de inflamación inducida por partículas y posterior osteólisis. Se identificó un novedoso mecanismo de retención de macromoléculas mediadas por células inflamatorias asociado a este reconocimiento. Se mostró que un profármaco de dexametasona basado en copolímero de HPMA proporcionaba supresión sostenida de la inflamación asociada a las partículas de PMMA implantadas. Análisis de micro-CT revelaron que la administración sistémica de P-Dex al modelo de osteólisis de la bóveda craneal murina fue osteoprotector. La adaptación de este sistema para el uso de radioisótopos de alta energía en lugar de la sonda de obtención de imágenes superior a las herramientas de obtención de imágenes para aplicación humana. Adicionalmente, los presentes estudios demuestran la capacidad de este sistema teranóstico macromolecular para la administración específica de tejido de fármacos biológicamente activos a sitios de inflamación para prevenir la destrucción ósea.

Aunque los copolímeros de HPMA (por ejemplo, copolímeros de HPMA-APMA; véanse también las Figuras 1 y 2) se ejemplifican en toda la presente solicitud, pueden usarse otros esqueletos de polímero solubles en agua o sistemas coloidales (por ejemplo, unidos a los agentes de obtención de imágenes, terapéuticos y/o de direccionamiento descritos en el presente documento). Los polímeros solubles en agua de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, polímeros que comprenden un esqueleto de metilacrilamida, copolímeros de HPMA y derivados, polietilenglicol (incluyendo copolímeros ramificados o de bloque, que pueden ser degradables mediante secuencias de péptidos, enlaces éster o disulfuro, etc.), ácido poliglutámico, ácido poliaspártico, dextrano, quitosano, celulosa y sus derivados, almidón, gelatina, ácido hialurónico y sus derivados, y polímeros o copolímeros de los siguiente monómeros: N-isopropilacrilamida (por ejemplo, PNIPAm), acrilamida, N,N-dimetilacrilamida, N-vinilpirrolidona (por ejemplo, PVP), acetato de vinilo (por ejemplo, polímero resultante hidrolizado en poli(alcohol vinílico) o PVA), hidroxietilmetacrilato (por ejemplo, PHEMA), 2-metacriloxietilglucósido, ácido acrílico, metacrílico, ácido vinilfosfónico, ácido estirenosulfónico, ácido maleico, cloruro de 2-metacrilloxietiltrimetilamonio, cloruro de

metacrilamidopropiltrimetilamonio, metilsulfato de metacriloilcolina, N-metilolacrilamida, cloruro de 2-hidroxi-3-metacriloxipropiltrimetilamonio, bromuro de 2-metacriloxietil-trimetilamonio, bromuro de 2-vinil-1-metilpiridinio, bromuro de 4-vinil-1-metil-piridinio, etilenimina, (N-acetil)etilenimina, (N-hidroxietil)etilenimina y/o alilamina. Preferentemente, el polímero soluble en agua es biológicamente inerte, sin embargo, opcionalmente el polímero puede tener actividad terapéutica (Rapp et al., Synthesis and in vivo biodisposition of [14C]-quatemary ammonium-melphalan conjugate, a potential cartilage-targeted alkylating drug, Bioconjug Chem. (2003) 14(2):500-6). Sistemas coloidales/vehículos incluyen, sin limitación, liposomas, nanopartículas y micelas (opcionalmente reticuladas).

En una realización particular de la presente invención, los polímeros de la presente invención son copolímeros que comprenden un esqueleto de metacrilamida, en el que las unidades de metacrilamida tienen cadenas laterales de alquilo o arilo. En una realización particular, se omite el grupo amida del esqueleto de metacrilamida. Los polímeros pueden comprender al menos un agente terapéutico, al menos un agente de obtención de imágenes, y/o al menos un resto de direccionamiento, todos opcionalmente unidos mediante un espaciador/conector independientemente seleccionado. En una realización de la presente invención, los polímeros de los complejos son copolímeros de bloque. Los copolímeros de bloque se definen de la forma más simple como conjugados de al menos dos segmentos de polímero diferentes (Tirrel, M. en: Interactions of Surfactants with Polymers and Proteins. Goddard E.D. and Ananthapadmanabhan, K.P. (eds.), CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, pp. 59-122, 1992). La arquitectura de los copolímeros de bloque más simple contiene dos segmentos unidos en sus extremos para dar un dibloque de tipo A-B o B-A. La consecuente conjugación de más de dos segmentos por sus extremos da el tribloque de tipo A-B-A, multibloque de tipo A-B-A-B, arquitecturas A-B-C multisegmento, y similares. Arquitecturas más complejas tales como bloques en estrella $(AB)_n$ o A_nB_m que tienen más de dos segmentos de polímero unidos a un único centro también están englobadas por la presente invención.

En otra realización, el polímero de la presente invención comprende la estructura general:



(I)

en la que R es un conector; A es un agente de obtención de imágenes, resto de direccionamiento, o un agente terapéutico; y m y n son independientemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 1000, preferentemente aproximadamente 10 a aproximadamente 500. En una realización particular, R es un alquilo, arilo, o polipéptido. En una realización particular, el grupo R comprende un conector sensible al pH y/o un conector escindible. Un único copolímero de la presente invención puede comprender múltiples bloques de fórmula (I) unidos juntos (por ejemplo, aproximadamente 2 a aproximadamente 1000, aproximadamente 2 a aproximadamente 500, aproximadamente 2 a aproximadamente 10, aproximadamente 2 a aproximadamente 5). Un único copolímero de la presente invención puede comprender al menos un agente de obtención de imágenes, al menos un resto de direccionamiento, y/o al menos un agente terapéutico. Por ejemplo, un único polímero puede comprender un bloque de HPMA, un bloque que comprende un agente de obtención de imágenes, y un bloque que comprende un resto de direccionamiento (por ejemplo, el copolímero tendría dos bloques "n" - un copolímero de bloque A-B-B'). Adicionalmente, aunque la fórmula (I) representa el primer bloque de HPMA (A-B), otros bloques pueden preceder al bloque de HPMA (por ejemplo, B-A, B-A-B, etc.).

Los polímeros de la presente invención pueden incluir, opcionalmente, uno o más restos de direccionamiento, que pueden usarse para dirigir el sistema de administración a un tejido específico, tal como hueso, diente, cartílago, o ciertos tipos de células, etc. Preferentemente, los restos de direccionamiento son aquellos compuestos que se acumulan preferencialmente en/sobre tejido duro (por ejemplo, diente y hueso) y/o implantes médicos (por ejemplo, injerto/implante de hueso, implante metálico recubierto de hidroxiapatita, implantes metálicos tales como acero inoxidable, aleación de titanio, implantes ortopédicos, implantes dentales e injertos de médula ósea) en vez de cualquier otro órgano o tejido *in vivo.* Los restos de direccionamiento de la presente invención incluyen, sin limitación, ácido fólico, manosa, bisfosfonatos (por ejemplo, alendronato), grupos de amonio cuaternario, tetraciclina y sus análogos, ácido siálico, ácido malónico, N,N-dicarboximetilamina, ácido 4-aminosalicíclico, ácido 5-

aminosalicíclico, anticuerpos o fragmentos o derivados de los mismos específicos para tejido duro o material de implante (por ejemplo, Fab, anticuerpos humanizados, y/o fragmento variables monocatenarios (scFv)), y péptidos (por ejemplo, péptidos que comprenden aproximadamente 2 a aproximadamente 100 (particularmente 6) restos de ácido D-glutámico, restos de ácido L-glutámico, restos de ácido D-aspártico, restos de ácido L-aspártico, restos de D- fosfoserina, restos de L-fosfoserina, restos de D-fosfotreonina, restos de L-fosfotreonina, restos de D-fosfotirosina y/o restos de L-fosfotirosina). En una realización particular, el resto de direccionamiento es alendronato. Un resto de direccionamiento puede unirse al esqueleto de polímero mediante enlaces covalentes o físicos (enlaces). Opcionalmente, los espaciadores entre un resto de direccionamiento y el esqueleto de polímero pueden escindirse tras un estímulo que incluye, pero no se limita a, cambios en el pH (por ejemplo, un conector lábil en ácidos), presencia de una actividad enzimática específica (por ejemplo, catepsinas (por ejemplo, catepsina K), MMP, etc.), cambios en los niveles de oxígeno, la presencia de luz de cierta longitud de onda, etc.

Como se estableció anteriormente en este documento, los copolímeros de HPMA de la presente invención pueden usarse para la administración de al menos un agente terapéutico (fármaco) a los sitios de enfermedad para el tratamiento de osteólisis, la inflamación asociada a la misma, y/o el aflojamiento de implante. En otra realización, los copolímeros de HPMA pueden usarse para la administración de al menos un agente de obtención de imágenes a un sitio deseado para la obtención de imágenes no invasiva y la detección precoz o evaluación del riesgo de osteólisis y aflojamiento de implante. Los copolímeros de HPMA de la presente invención pueden cada uno comprender al menos un agente terapéutico y/o agente de obtención de imágenes. En otra realización, se administran múltiples copolímeros de HPMA (simultáneamente o secuencialmente), cada uno de los cuales comprende un único agente terapéutico y/o agente de obtención de imágenes.

En una realización particular, los agentes de detección/agentes de obtención de imágenes (o marcas) pueden unirse al esqueleto de copolímero de HPMA. En una realización particular, el porcentaje en moles promedio por cadena de polímero puede oscilar del 0 % a aproximadamente el 50 %. Los agentes de obtención de imágenes pueden ser compuestos útiles para obtención de imágenes ópticas, imagen por resonancia magnética (IRM), tomografía de emisión de positrones (PET), tomografía computerizada (CT), obtención de imágenes por gamma-escintigrafía, y similares. Tales agentes son muy conocidos para aquellos expertos en la materia. Los agentes de obtención de imágenes incluyen, sin limitación, radioisótopo, isótopos, biotina y derivados de los mismos, oro (por ejemplo, nanopartículas), agentes de obtención de imágenes ópticas (por ejemplo, colorantes de IR cercano (por ejemplo, IRDye 800CW), porfirinas, antraquinonas, antrapirazoles, perilenquinonas, xantenos, cianinas, acridinas, fenoxazinas, fenotiazinas y derivados de los mismos), cromóforo, compuestos fluorescentes (por ejemplo, Alexa Fluor® 488, fluoresceína, rodamina, DiI, DiO, y derivados de los mismos), agentes de potenciamiento de IRM (por ejemplo, DOTA-$Gd3^+$ (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético), DTPA-$Gd3^+$ (complejo de gadolinio con ácido dietilentriaminapentaacético, etc.), iones paramagnéticos o superparamagnéticos (por ejemplo, Gd(III), Eu(III), Dy(III), Pr(III), Pa(IV), Mn(II), Cr(III), Co(III), Fe(III), Cu(II), Ni(II), Ti(III) y V(IV)), compuestos de PET marcados o complejados con ^{11}C, ^{13}N, ^{15}O, ^{18}F, ^{64}Cu, ^{68}Ga o ^{82}Rb (por ejemplo, ^{18}F-FDG (fluorodesoxiglucosa)), CT compuestos (por ejemplo, compuestos que contienen yodo o bario, por ejemplo, ácido 2,3,5-triyodobenzoico), y emisores gamma o de positrones (por ejemplo, ^{99m}Tc, ^{111}In, ^{113}In, ^{153}Sm, ^{123}I, ^{13l}I ^{18}F, ^{64}Cu, ^{201}Tl, etc.).

En una realización particular, el agente terapéutico unido al copolímero de HPMA de la presente invención es un agente terapéutico antiinflamatorio, inmunosupresor, fármaco de tratamiento del dolor, un factor anabólico (por ejemplo, factores de crecimiento que promueven la regeneración y reparación de tejido, tales como proteínas morfogenéticas óseas (BMP), agonistas de la vía de Wnt, factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y agentes que se dirigen a la resorción ósea (por ejemplo, bisfosfonato)), o un agente terapéutico relacionado con el hueso. Como se usa en el presente documento, un "agente terapéutico antiinflamatorio" se refiere a compuestos para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria o los síntomas asociados a la misma. Agentes terapéuticos antiinflamatorios incluyen, sin limitación, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE; por ejemplo, aspirina, ibuprofeno, naproxeno, salicilato de metilo, diflunisal, indometacina, sulindaco, diclofenaco, ketoprofeno, ketorolaco, carprofeno, fenoprofeno, ácido mefenámico, piroxicam, meloxicam, metotrexato, celecoxib, valdecoxib, parecoxib, etoricoxib y nimesulida), corticosteroides (por ejemplo, prednisona, betametasona, budesonida, cortisona, dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, tramcinolona y fluticasona), rapamicina, inhibidores de rho-cinasas, inhibidor de CC-quimiocinas virales (vCCI), glucocorticoides, esteroides, beta-agonistas, agentes anticolinérgicos, metilxantinas, sulfasalazina, dapsona, psoralenos, proteínas, péptidos, FARME, glucocorticoides (por ejemplo, dexametasona), metotrexato, sulfasalazina, cloroquina, oro, sal de oro, cobre, sal de cobre, penicilamina, D-penicilamina, ciclosporina, lipoxinas, resolvinas, inhibidores de cox-2, inhibidores de cinasas MAP, inhibidores de caspasa-1, inhibidores de JNK, inhibidores de ERK, inhibidor de Syk, inhibidores de JAK y protectinas. También se proporcionan agentes terapéuticos antiinflamatorios en The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10ª ed., Gilman et al., eds., McGraw-Hill Press (2001) y Remington's Pharmaceutical Science's, 18ª ed. Easton: Mack Publishing Co. (1990). En una realización particular, el agente terapéutico antiinflamatorio está seleccionado del grupo que consiste en glucocorticoides, resolvinas, inhibidores de cox-2, inhibidores de cinasas MAP, inhibidores de caspasa-1, inhibidores de JNK, inhibidores de ERK, inhibidor de Syk e inhibidores de JAK. En una realización particular, el agente terapéutico antiinflamatorio es dexametasona.

Un "agente terapéutico relacionado con el hueso" se refiere a un agente adecuado para administración a un paciente que induce un efecto biológico o farmacológico deseado, tal como, sin limitación, 1) aumento del crecimiento óseo, 2) prevención de un efecto biológico no deseado tal como una infección, 3) alivio de una afección (por ejemplo, dolor o inflamación) producida por una enfermedad asociada al hueso, y/o 4) alivio, reducción o eliminación de una enfermedad del hueso. En una realización particular, el agente terapéutico relacionado con el hueso posee un efecto anabólico óseo y/o efecto estabilizante óseo. Los agentes terapéuticos relacionados con el hueso incluyen, sin limitación, inhibidor de catepsina K, inhibidor de metaloproteinasa, agonista de receptores de prostaglandina E, prostaglandina E1 o E2 y análogos de las mismas, hormona paratiroidea y fragmentos de la misma, resolvinas y análogos de las mismas, antimicrobianos, glucocorticoides (por ejemplo, dexametasona) y derivados de los mismos, y estatinas (por ejemplo, simvastatina).

Como será reconocido por un experto habitual en la materia, fármacos antiinflamatorios y agentes de obtención de imágenes, como se usa en el presente documento, incluyen sales aceptables, ésteres, o sales de tales ésteres. Por ejemplo, los glucocorticoides incluyen sales farmacéuticamente aceptables y ésteres de los mismos, por tanto, cuando un fármaco se describe, por ejemplo, dexametasona, las sales farmacéuticamente aceptables del mismo también se describen, tal como el palmitato de dexametasona.

El (Los) agente(s) terapéutico(s), agente(s) de obtención de imágenes y/o resto de direccionamiento pueden unirse al esqueleto de copolímero de HPMA mediante un espaciador. Los espaciadores (conectores) son conocidos en la técnica y el experto habitual en la materia puede seleccionar un espaciador basado en longitud, reactividad, flexibilidad y similares. Por ejemplo, un espaciador puede ser un alquilo o alquino que tiene de uno a 50, preferentemente uno a 15 carbonos. Un espaciador de la invención también puede ser una secuencia de péptidos (por ejemplo, seleccionada de todos los aminoácidos naturales) que tiene de uno a 20, preferentemente uno a 10 restos. Los enlaces (dominios de conector) de los presentes polímeros pueden ser no degradables o degradables en condiciones fisiológicas. En una realización, un espaciador puede contener un enlace que es escindible a pH ácido (por ejemplo, pH <6, particularmente <5,5). Ejemplos de conectores sensibles al pH comprenden, sin limitación, un enlace hidrazona, enlace acetal, espaciador de cis-aconitilo, enlace fosfamida, enlace de silil éter, etc. Los espaciadores también pueden escindirse tras un estímulo que incluye, pero no se limita a, cambios en el pH, presencia de una actividad de enzima específica (proteasa) (por ejemplo, catepsinas (por ejemplo, catepsina K), MMP, etc.), cambios en los niveles de oxígeno, etc. En una realización particular, el conector/espaciador es biodegradable y escindible en condiciones fisiológicas. En otra realización, cuando un agente de obtención de imágenes está unido al esqueleto de copolímero de HPMA, el conector/espaciador no es degradable o escindible en condiciones fisiológicas.

Como se estableció anteriormente en este documento, los copolímeros de HPMA de la presente invención pueden comprender al menos un agente terapéutico, al menos un agente de obtención de imágenes y/o al menos un resto de direccionamiento. Por ejemplo, un único polímero puede comprender más de un agente terapéutico. Como otro ejemplo, un único copolímero puede comprender uno o más agentes terapéuticos y uno o más agentes de obtención de imágenes. Alternativamente, más de un copolímero de HPMA puede administrarse al sujeto. Por ejemplo, un copolímero que comprende uno o más agentes terapéuticos puede administrarse con un copolímero que comprende uno o más agentes de obtención de imágenes.

La presente invención también engloba composiciones que comprenden al menos un copolímero de HPMA de la presente invención y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición puede comprender además al menos otro agente terapéutico antiinflamatorio. Tal composición puede administrarse, en una cantidad terapéuticamente eficaz, a un paciente en necesidad del mismo para el tratamiento y/u obtención de imágenes de una enfermedad inflamatoria o trastorno. En una realización particular, al menos otro agente antiinflamatorio se administra por separado de la composición anterior (por ejemplo, secuencialmente o simultáneamente).

Las composiciones de la presente invención pueden administrarse por cualquier vía adecuada, por ejemplo, mediante inyección (por ejemplo, para administración local (directa) o sistémica (intravenosa)), oral, pulmonar, tópica, nasal u otros modos de administración. La composición puede administrarse por cualquier medio adecuado, que incluye administración parenteral, intramuscular, intravenosa, intrarterial, intraperitoneal, subcutánea, tópica, inhalatoria, transdérmica, intraocular, intrapulmonar, intrarrectal e intranasal. En una realización particular, la composición se inyecta directamente al sitio deseado. En general, el vehículo farmacéuticamente aceptable de la composición está seleccionado del grupo de diluyentes, conservantes, solubilizantes, emulsionantes, adyuvantes y/o vehículos. Las composiciones pueden incluir diluyentes de diverso contenido de tampón (por ejemplo, Tris HCl, acetato, fosfato), pH y fuerza iónica; y aditivos tales como detergentes y agentes solubilizantes (por ejemplo, Tween 80, Polisorbato 80), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metabisulfito de sodio), conservantes (por ejemplo, Thimersol, alcohol bencílico) y sustancias de carga (por ejemplo, lactosa, manitol). Las composiciones también pueden incorporarse en preparaciones en partículas de compuestos poliméricos tales como poliésteres, poliaminoácidos, hidrogeles, copolímeros de polilactida/glicolida, copolímeros de etileno-acetato de vinilo, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, etc., o en liposomas. Tales composiciones pueden influir en el estado físico, estabilidad, velocidad de liberación *in vivo* y velocidad de eliminación *in vivo* de componentes de una composición farmacéutica de la presente invención. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Ed. (1990, Mack Publishing Co., Easton, PA 18042) páginas 1435 1712. La composición farmacéutica de la presente invención

puede prepararse, por ejemplo, en forma líquida, o puede estar en forma de polvo seco (por ejemplo, liofilizado). La administración *in vivo* puede llevarse a cabo por uso de un jarabe, un elixir, un líquido, un comprimido, una píldora, una cápsula de liberación con el tiempo, un aerosol, un parche transdérmico, una inyección, un goteo, una pomada, etc.

En otra realización más, las composiciones de la presente invención pueden administrarse en un sistema de liberación controlada, tal como usando una infusión intravenosa, una bomba osmótica implantable, un parche transdérmico, liposomas, u otros modos de administración. En una realización particular, puede usarse una bomba (véanse Langer, arriba; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. (1987) 14:201; Buchwald et al., Surgery (1980) 88:507; Saudek et al., N. Engl. J. Med. (1989) 321:574). En otra realización, pueden emplearse materiales poliméricos (véanse Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Press: Boca Raton, Florida (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley: New York (1984); Ranger and Peppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. (1983) 23:61; véase también Levy et al., Science (1985) 228:190; During et al., Ann. Neurol. (1989) 25:351; Howard et al., J. Neurosurg. (1989) 71:105). En otra realización más, un sistema de liberación controlada puede ponerse en proximidad de los tejidos diana del animal, requiriendo así solo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Medical Applications of Controlled Release, arriba, (1984) vol. 2, pp. 115 138). En particular, puede introducirse un dispositivo de liberación controlada en un animal en proximidad al sitio de inflamación inapropiada. Otros sistemas de liberación controlada se tratan en la revisión por Langer (Science (1990) 249:1527 1533).

La composición de la presente invención puede administrarse para el tratamiento de osteólisis, la inflamación asociada a la misma, y/o aflojamiento de implante. Los intervalos de dosificación para la administración de la composición de la invención son aquellos lo suficientemente grades como para producir el efecto deseado (por ejemplo, cura, alivio y/o prevención del trastorno inflamatorio, el síntoma de él, o la predisposición hacia él). La dosificación no debe ser tan grande que produzca efectos secundarios adversos, tales como reacciones cruzadas no deseadas, reacciones anafilácticas, y similares. Generalmente, la dosificación variará con la edad, afección, sexo y grado de la enfermedad en el paciente y puede ser determinada por un experto en la materia. La dosificación puede ser ajustada por el médico individual en el caso de cualquier contraindicación. Una cantidad eficaz de un fármaco es muy conocida en la técnica y cambia debido a la edad, peso, gravedad de la afección de un sujeto, el compuesto particular en uso, la concentración de la preparación y el modo de administración. La determinación de una cantidad eficaz se deja preferentemente a la cautela de un médico práctico, pero puede determinarse usando métodos muy conocidos en la técnica (The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed., Gilman et al. eds., McGraw-Hill Press (2001); Remington's Pharmaceutical Science's, 18ª ed. Easton: Mack Publishing Co. (1990)). Las composiciones de la invención pueden prepararse usando métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, se conoce en la técnica la preparación de una composición farmacéutica (The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed., Gilman et al. eds., McGraw-Hill Press (2001); Remington's Pharmaceutical Science's, 18th ed. Easton: Mack Publishing Co. (1990)).

Como se estableció anteriormente en este documento, la invención proporciona un sistema de administración polimérica soluble en agua para la administración de agentes de obtención de imágenes, que son útiles para la obtención de imágenes no invasivas, diagnóstico, pronóstico y evaluación de implantes ortopédicos y/o dentales. La presente invención engloba métodos de detección de un riesgo elevado de aflojamiento del implante (por ejemplo, implantes ortopédicos y/o dentales) y/u osteólisis. Los implantes ortopédicos incluyen estructuras que se implantan en un cuerpo vivo con el fin de aumentar o sustituir la estructura ósea del paciente en el que se implanta. Ejemplos de implantes ortopédicos incluyen, sin limitación, injertos, placas, mallas, dispositivos de sustitución (por ejemplo, articulación, rodilla, cadera, codo, muñeca, etc.), dispositivos femorales superiores, implantes de cirugía plástica, dispositivos humerales superiores, dispositivos de hombro, dispositivos de tendón pasivos, dispositivos espinales, dispositivos de dedos de mano/dedos de pie, dispositivos de diáfisis, implante metálico recubierto de hidroxiapatita e implantes metálicos (por ejemplo, acero inoxidable, titanio y aleación de titanio). El polímero que contiene el agente de obtención de imágenes también puede usarse para monitorizar el progreso de un tratamiento. En otra realización a modo de ejemplo, la invención proporciona un método de cribado de agentes terapéuticos antiinflamatorios u otros compuestos para el tratamiento de osteólisis y/o aflojamiento de implante. En una realización, el agente antiinflamatorio está unido a un sistema de administración polimérica soluble en agua de la invención y se administra a un sujeto, y el efecto del agente terapéutico se monitoriza, por ejemplo, usando un agente de obtención de imágenes, identificando así agentes terapéuticos eficaces. En otra realización, el agente antiinflamatorio se administra a un paciente y un agente de obtención de imágenes unido a un sistema de administración polimérica soluble en agua de la invención se administra de manera que se monitoriza el efecto del agente terapéutico. Opcionalmente, puede co-administrarse un agente de obtención de imágenes con el fin de monitorizar y/o cribar la actividad del agente antiinflamatorio. Opcionalmente, pueden usarse un resto o restos de direccionamiento en el método de cribado.

Como se estableció anteriormente en este documento, los polímeros de la presente invención se usan para tratar osteólisis, la inflamación asociada a la misma y/o aflojamiento de implante. Los métodos comprenden la administración de un copolímero de HPMA de la presente invención que comprende al menos un agente terapéutico a un sujeto (por ejemplo, humano). Los presentes métodos pueden usarse para prevenir y/o inhibir el aflojamiento/fallo de implante.

Definiciones

Como se usa en el presente documento, "diagnosticar" se refiere a detectar e identificar una enfermedad o trastorno en un sujeto. El término también puede englobar valorar o evaluar el estado de enfermedad (progresión, regresión, estabilización, respuesta a tratamiento, etc.) en un paciente que se sabe que tiene la enfermedad o trastorno.

Como se usa en el presente documento, el término "pronóstico" se refiere a proporcionar información referente al impacto de la presencia de una enfermedad o trastorno sobre la futura muerte de un sujeto (por ejemplo, morbilidad o mortalidad esperadas, la probabilidad/riesgo de osteólisis, la probabilidad/riesgo de aflojamiento de implante, etc.). En otras palabras, el término "pronóstico" se refiere a proporcionar una predicción de la probable evolución y desenlace de una enfermedad o trastorno o la probabilidad de recuperación de la enfermedad o trastorno.

El término "tratar", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier tipo de tratamiento que confiere un beneficio a un paciente aquejado de una enfermedad o trastorno, que incluye mejora en la afección del paciente (por ejemplo, en uno o más síntomas), retraso en la progresión de la afección, etc.

La expresión "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de agente terapéutico que produce una mejora en la afección del paciente.

"Farmacéuticamente aceptable" indica autorización por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o enumerado en la Farmacopea de EE.UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos.

Un "vehículo" se refiere a, por ejemplo, un diluyente, adyuvante, conservante (por ejemplo, Thimersol, alcohol bencílico), antioxidante (por ejemplo, ácido ascórbico, metabisulfito de sodio), solubilizante (por ejemplo, Tween 80, Polisorbato 80), emulsionante, tampón (por ejemplo, Tris HCl, acetato, fosfato), sustancia de carga (por ejemplo, lactosa, manitol), excipiente, agente auxiliar o vehículo con el que un agente activo de la presente invención se administra. Vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, que incluyen aquellos de petróleo, origen animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Se emplean preferentemente agua o soluciones salinas acuosas y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol como vehículos, particularmente para soluciones inyectables. Las composiciones pueden incorporarse en preparaciones en partículas de compuestos poliméricos tales como ácido poliláctico, ácido poliglicólico, etc., o en liposomas o micelas. Tales composiciones pueden influir en el estado físico, estabilidad, velocidad de liberación *in vivo* y velocidad de eliminación *in vivo* de componentes de una composición farmacéutica de la presente invención. La composición farmacéutica de la presente invención puede prepararse, por ejemplo, en forma líquida, o puede estar en forma de polvo seco (por ejemplo, liofilizado). Vehículos farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E.W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, PA); Gennaro, A. R., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20ª edición, (Lippincott, Williams and Wilkins), 2000; Liberman, et al., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; y Kibbe, et al., Eds., Handbook of Pharmaceutical Excipients (3ª Ed.), American Pharmaceutical Association, Washington, 1999.

El término "aislado" se refiere a la separación de un compuesto de otros componentes presentes durante su producción. "Aislado" no pretende excluir mezclas artificiales o sintéticas con otros compuestos o materiales, o la presencia de impurezas que no interfieren sustancialmente con la actividad fundamental, y que pueden estar presentes, por ejemplo, debido a purificación incompleta, o la adición de estabilizadores.

"Conector", "dominio de conector" y "enlace" se refieren a un resto químico que comprende un enlace covalente o una cadena de átomos que une covalentemente al menos dos compuestos, por ejemplo, un resto de direccionamiento a un agente terapéutico. El conector puede unirse a cualquier posición sintéticamente factible de los compuestos, pero preferentemente de tal manera que se evite el bloqueo de la actividad deseada de los compuestos. Los conectores son generalmente conocidos en la técnica. Conectores a modo de ejemplo pueden comprender al menos un grupo alquilo opcionalmente sustituido; saturado o insaturado; lineal, ramificado o cíclico o un grupo arilo opcionalmente sustituido. En una realización particular, el conector puede contener de 0 (es decir, un enlace) a aproximadamente 500 átomos, aproximadamente 1 a aproximadamente 100 átomos, o aproximadamente 1 a aproximadamente 50 átomos. El conector también puede ser un polipéptido (por ejemplo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 aminoácidos). El conector puede ser biodegradable en entornos o condiciones fisiológicos. El conector también puede ser no degradable y puede ser un enlace covalente o cualquier otra estructura química que no pueda ser escindida en entornos o condiciones fisiológicos.

Como se usa en el presente documento, el término "biodegradable" o "biodegradación" se define como la conversión de materiales en productos intermedios menos complejos o productos terminales por hidrólisis por solubilización en condiciones fisiológicas, o por la acción de entidades biológicamente formadas que pueden ser enzimas u otros productos del organismo. El término "no degradable" se refiere a una estructura química que no puede escindirse en condición fisiológica, incluso con ninguna intervención externa. El término "degradable" se refiere a la capacidad de una estructura química para ser escindida mediante medios físicos (tales como ultrasonidos), químicos (tal como pH

inferior a 6 o superior a 8) o biológicos (enzimáticos).

Como se usa en el presente documento, el término "direccionamiento óseo" se refiere a la capacidad de acumularse preferencialmente en tejido duro en vez de cualquier otro órgano o tejido, después de la administración *in vivo*.

Se proporciona el siguiente ejemplo para ilustrar ciertas realizaciones de la invención. No pretende limitar la invención de ningún modo.

Ejemplo

Materiales y métodos

Síntesis de poli(HPMA-co-APMA)

Se disolvieron N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA; 1 g, 6,98 mmoles; Kopeček et al. (1973) Eur. Polymer J., 9:7-14), clorhidrato de N-(3-aminopropil)metacrilamida (APMA, 12,5 mg, 0,07 mmoles, Polysciences, Inc., Warrington, PA), azobisisobutironitrilo (AIBN, 6,74 mg, 41 µmoles, Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI), tritiocarbonato de ácido S,S'-bis(α,α'-dimetil-α''-acético) (CTA, 6,26 mg, 23,6 µmoles, pureza > 97 %) (Lai et al. (2002) Macromolecules 35:6754-6) y N-metacriloilaminopropilfluoresceína-tiourea (MA-FITC, 4 mg) (Omelyanenko et al. (1998) J. Control Release 53:25-37) en 8 ml de metanol, se dispusieron en una ampolla y se purgó con N_2 durante 5 minutos. La ampolla se selló a la llama y se mantuvo a 40 ºC durante 48 horas evitando la luz. El producto se purificó por columna LH-20 (GE HealthCare, Piscataway, NJ) para eliminar los compuestos de bajo peso molecular sin reaccionar y luego se liofilizó. El rendimiento final fue 0,42 g. El contenido de amina del copolímero se determinó como $2,7 \times 10^{-5}$ mol/g usando el ensayo de ninhidrina (Moore et al. (1954) J. Biol. Chem., 211:907-13). Se determinaron el peso molecular promedio en peso ($M_w = 3,71 \times 10^4$) y el peso molecular promedio en número ($M_n = 2,65 \times 10^4$) de los copolímeros basándose en la calibración de homopolímeros de HPMA usando un sistema AKTA FPLC (GE HealthCare, Piscataway, NJ) equipado con detectores de UV y RI. Véase también Liu et al. (Pharm. Res. (2008) 25:2910-2919).

Síntesis de copolímero de HPMA marcado con IRDye 800CW (Figura 1)

Se disolvieron poli(HPMA-co-APMA) (16,5 mg, que contenía 0,00044 mmoles de amina), éster de NHS IRDye 800CW (LI-COR® Biosciences, Lincoln, NE) (0,5 mg, 0,00043 mmoles) en 300 µl de DMF con 5 µl de N,N-diisopropiletilamina añadida. La solución se agitó durante la noche en la oscuridad a temperatura ambiente. El producto se purificó entonces en una columna LH-20 y se liofilizó. El rendimiento de producto final fue 15,02 mg. Se determinó el contenido de IRDye 800CW como $1,1 \times 10^{-5}$ mol/g usando el espectrómetro Lambda 10 UV/Vis (PerkinElmer, Shelton, CT).

Síntesis de copolímero de HPMA marcado con Alexa Fluor® 488 (Figura 1)

Se disolvió poli(HPMA-co-APMA) (30,0 mg, 0,0008 mmoles), éster de NHS Alexa Fluor® 488 (0,517 mg, 0,0008 mmoles, Invitrogen, Camarillo, CA) en 0,5 ml de DMF con 5 µl de N,N-diisopropiletilamina añadida. La mezcla se agitó durante la noche en la oscuridad a temperatura ambiente. El producto se purificó en columna LH-20 y se liofilizó. El rendimiento de producto final fue 28,62 mg. Se determinó el contenido de Alexa Fluor® 488 como $1,9 \times 10^{-5}$ mol/g usando el espectrómetro Lambda 10 UV/Vis.

Modelo de osteólisis de bóveda craneal de ratón

Se impregnaron partículas de poli(metacrilato de metilo) (PMMA) (1-10 µm, Bangs Laboratories, Fishers, IN) en 70 % de etanol durante la noche, luego se lavaron y se suspendieron en solución salina tamponada con fosfato (PBS) estéril antes de la implantación. Se realizó un ensayo de Limulus usando el kit Pyrosate® (Associates of Cape Cod, Inc., East Falmouth, MA) para confirmar que las partículas tratadas estaban libres de endotoxinas. Se anestesiaron ratones Swiss Webster macho (6 semanas, Charles River Laboratories Inc., Wilmington, MA) con 70-80 mg/kg de ketamina y 5-7 mg/kg de xilazina mediante inyección intraperitoneal. Se insertó una aguja de 25 G por vía subcutánea para eliminar el periostio de la superficie de la bóveda craneal raspando con la punta de la aguja 30 veces. Entonces se depositó PBS (100 µl) o PMMA (30 mg suspensos en 100 µl de PBS) sobre la superficie de la bóveda craneal a través de la aguja insertada. Todos los experimentos con animales se realizaron según el protocolo autorizado por el Comité Institucional para Cuidado y Uso de Animales del Centro Médico de la Universidad de Nebraska.

Obtención de imágenes ópticas de infrarrojo cercano de ratones implantados con las partículas de PMMA

Un día después de la implantación de partículas de PMMA, los ratones se administraron con P-IRDye (0,5 mg/ratón) mediante inyección en la vena de la cola. El grupo inyectado con PBS se usó como control negativo y se administró con la misma dosis de P-IRDye. Se obtuvieron imágenes de los ratones antes y diariamente después de la inyección del agente de contraste usando un sistema de obtención de imágenes de la serie 200 XENOGEN IVIS® (Hopkinton, MA) para evaluar la distribución del conjugado de copolímero de HPMA continuamente durante 6 días.

Análisis de micro-CT de bóvedas craneales de ratón

En la autopsia, se extrajeron las bóvedas craneales direccionando el hueso libre del tejido cerebral subyacente y eliminando una placa elíptica de hueso unida por el agujero magno, canales auditivos y órbitas. Se almacenaron en 70 % de etanol y luego se barrieron usando un sistema Scanco µCT35 (Scanco Medical, Brüttisellen, Suiza) con una resolución de 15 µm en condiciones de contraste regulares (55 KVp, 145 µA, 0,36 grados de etapa de rotación angular). Entonces se realizaron reconstrucciones tridimensionales de los volúmenes barridos por el software de reconstrucción de sistemas y la segmentación de fondo de hueso.

Evaluación histológica

Para la identificación de osteoclastos, se fijaron bóvedas craneales completas en solución al 70 % de etanol y luego se tiñeron con TRAP usando un kit de tinción comercial (387A, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Se reconocen células teñidas de púrpura como osteoclastos positivos para TRAP. Para la evaluación de la resorción ósea, las bóvedas craneales se fijaron en 4 % de paraformaldehído neutralizado durante 24 horas y luego se descalcificaron en 10 % de EDTA (con 0,5 % de paraformaldehído en PBS) a 4 ºC durante 2 semanas. La solución de descalcificación se cambió cada 2 días. Los especímenes se incorporaron entonces en parafina, se seccionaron (5 µm de espesor) y se tiñeron con H&E. Se examinaron tanto las bóvedas craneales teñidas con TRAP como las secciones de H&E con un microscopio Olympus BX51 (Olympus, Japón).

Análisis inmunohistoquímico

Seis días después de la implantación de las partículas, se administró P-Alexa (4,0 mg/ratón) a ratones mediante inyección en la vena de la cola. En la autopsia (24 horas después de la inyección), se aisló el cráneo superior (incluyendo la piel, tejido blando subyacente y bóveda craneal) como se ha descrito anteriormente. El tejido se cortó en dos mitades en el plano coronal centrado sobre el área de deposición de partículas, se incorporó inmediatamente en compuesto O.C.T. y se congeló con nieve carbónica para el seccionamiento (7 µm de espesor). Los portaobjetos obtenidos se incubaron primero con 10 % de suero de cabra, conejo o burro (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después de la adición de los anticuerpos primarios {conejo anti-prolil-4-hidroxilasa de ratón (P4HB, Abcam, Cambridge, MA), rata anti-F4/80 de ratón (Invitrogen, Camarillo, CA), rata anti-Ly-6G de ratón (Gr-1, Gr1) (Ebioscience, San Diego, CA) y hámster armenio anti-CD11c de ratón (BD Pharmingen, San Jose, CA), diluidos en 10 % de suero de bloqueo correspondiente}, las secciones se incubaron a temperatura ambiente durante 1 h en una cámara humidificada. Después de lavar con PBS, se añadió el anticuerpo secundario diluido {burro anti-IgG de conejo marcado con ficoeritrina (PE) (Ebioscience, San Diego, CA), cabra anti-IgG de rata marcado con PE (Invitrogen, Camarillo, CA) o conejo anti-IgG de hámster armenio marcado con PE (Ebioscience, San Diego, CA)} y se incubó durante otros 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. En experimentos de control, los anticuerpos primarios se sustituyeron por controles de isotipo correspondientes {IgG de conejo purificada (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), IgG de rata purificada (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) e IgG de hámster purificada (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA)} y las muestras se procesaron similarmente como se ha descrito anteriormente. Entonces se evaluaron las secciones de tejido procesadas con un microscopio confocal Nikon Swept Field. Se tomaron fotos a un aumento de 400×.

Análisis de barrido de células activado por fluorescencia (FACS)

Similar al estudio de inmunohistoquímica, se administró P-Alexa (2,0 mg/ratón) a ratones mediante inyección en la vena de la cola seis días después de la implantación de partículas. En la autopsia (24 horas después de la inyección), se aislaron tejidos blandos entre la piel y la bóveda craneal y se trituraron asépticamente. Los tejidos se digirieron adicionalmente con colagenasa tipo I (1 mg/ml, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) a 37 ºC durante 2 horas. Después de pasar a través de un filtro de células de 70 µm, se obtuvo una suspensión de células individuales (1×10^6 células/ml). Entonces se usó tampón de lisis ACK (Quality Biological, Gaithersburg, MD) para eliminar los glóbulos rojos. Para la evaluación de FACS de células positivas para CD11c, F4/80 y Ly-6G (Gr-1, Gr1), las muestras se incubaron con anticuerpos {hámster anti-CD11c de ratón marcado con aloficocianina (APC) (BD Pharmingen, San Jose, CA), rata anti-F4/80 de ratón marcado con PE (AbD Serotec, Raleigh, NC), rata anti-Ly-6G de ratón marcado con PE (Gr-1, Gr1) (Ebioscience, San Diego, CA)} durante 30 minutos sobre hielo. Para la evaluación de FACS de células positivas para P4HB, las muestras se incubaron primero con conejo anti-P4HB de ratón durante 30 minutos sobre hielo y luego se incubaron con burro anti-IgG de conejo marcado con PE durante otros 30 minutos sobre hielo. Se usaron IgG1 de hámster marcada con APC del mismo isotipo (BD Pharmingen, San Jose, CA), IgG2b de rata marcada con PE (BD Pharmingen, San Jose, CA) e IgG de conejo purificada como controles negativos. Después del lavado final, las células se analizaron con el citómetro de flujo Becton Dickinson FACSCalibur™.

Estudio de tratamiento in vivo preliminar

Un día después de la implantación de partículas de PMMA, los ratones se asignaron aleatoriamente a dos grupos y se trataron con P-Dex (Figura 2, dosis de Dex equivalente = 20 mg/kg) y solución salina mediante inyección en la

vena de la cola. 6 días después del tratamiento, los ratones se sacrificaron y se aislaron los cráneos superiores de los animales con la piel, tejidos blandos subyacentes y se quitó el tejido cerebral. Entonces se fijaron los tejidos con 70 % de etanol y se sometieron a análisis de micro-CT como se ha descrito previamente.

Cultivos de macrófagos

Se prepararon monocitos CD14-positivos a partir de CMSP derivadas de donantes humanos normales no identificados como se ha descrito previamente (Rakshit et al. (2006) J. Bone Joint Surgery 88:788-99). Las células se cultivaron durante 24 horas a una densidad celular de 10^6 células/ml en medio α-MEM (Invitrogen, Carlsbad, CA) complementado con 10 % de suero bovino fetal (VWR, West Chester, PA) y 1 % de antibiótico/antimicótico (Invitrogen, Carlsbad, CA) en presencia de 10 ng/ml de M-CSF humano (Peprotech, Rocky Hill, NJ) en placas de cultivo de tejido de 24 pocillos (1 ml/pocillo). Las células se pulsaron entonces durante 4 horas con P-Dex (5 µM) o Dex libre (fosfato sódico de dexametasona, 0,6 µM), se lavaron y se rellenaron con medio fresco. Los dos tratamientos tuvieron dosis equivalentes de Dex. Después de 24 horas, las células se trataron +/- partículas de PMMA (30 partículas/célula) durante 3 horas. Se preparó ARN celular total (RNeasy, Qiagen) y se analizó por RT-PCR en tiempo real como se ha descrito previamente para citocinas inflamatorias (IL1-α, IL-1β). También se analizó medio acondicionado para citocinas inflamatorias (TNF, IL1, IL6) por ELISA.

Métodos estadísticos

Se evaluaron comparaciones entre dos grupos con prueba de la t de Student: dos colas de dos muestras suponiendo varianzas iguales. Un valor de p inferior a 0,05 se considera estadísticamente significativo.

Resultados

Evaluación de resorción ósea en el modelo de osteólisis de bóveda craneal de ratón

Análisis de micro-CT de especímenes de hueso de la bóveda craneal revelaron amplias regiones focales de pérdida de hueso asociada a sitios de implantación de partículas de PMMA en comparación con animales tratados con PBS (Figura 3-B1). Cuantitativamente, el grupo de control de PBS tuvo superficie ósea promedio más pequeña con respecto a los valores de volumen óseo (BS/BV) de 16,64 ± 0,36 mm^{-1} en comparación con el grupo de PMMA (19,49 ± 1,60 mm^{-1}) ($p < 0,05$). El espesor óseo en el grupo de PMMA fue 0,1027 ± 0,0084 cm, que es significativamente más pequeño que el del grupo de PBS de 0,1200 ± 0,0028 cm ($p < 0,05$). Como se muestra en la Figura 4B, estuvieron presentes múltiples células TRAP-positivas sobre las superficies óseas en los sitios de implantación de partículas de PMMA, de acuerdo con la resorción ósea osteoclástica activa. La tinción con H&E de la bóveda craneal descalcificada en los sitios de deposición de PMMA reveló la presencia de un infiltrado inflamatorio de células intenso (Figura 4D).

Estudio de obtención de imágenes ópticas de infrarrojo cercano

Se asoció una fuerte señal de infrarrojo cercano (NIR) de P-IRDye al sitio de deposición de partículas de PMMA 2 días después de la implantación de las partículas (Figura 5). La obtención de imágenes diaria demostró la persistencia de la señal de P-IRDye durante más de 7 días. El análisis cuantitativo de la intensidad de señal de NIR confirmó que 7 días después de la administración de P-IRDye, siguió ~ 60 % de la señal, de acuerdo con la retención de P-IRDye en el sitio de implantación de partículas de PMMA. La distribución y retención de P-IRDye fue significativamente más baja en el grupo de control de PBS en comparación con el grupo tratado con PMMA ($p < 0,05$).

Análisis inmunohistoquímico de secciones congeladas de bóveda craneal de ratón

Como se muestra en la Figura 6, la tinción inmunohistoquímica con anticuerpos anti-F4/80, anti-CD11c, anti-Ly-6G (Gr-1, Gr1) y anti-P4HB de las secciones congeladas del tejido de bóveda craneal de ratón de animales implantados con PMMA reveló que muchas células positivas para P-Alexa se tiñeron positivamente para Ly-6G (Gr-1, Gr1) o F4/80. Las células positivas para CD11c fueron o bien débilmente positivas o negativas para tinción con Alexa, mientras que no se detectaron células positivas para P4HB.

Análisis de FACS de células aisladas de sitios de implantación de PMMA

Los análisis de FACS que más del 80 % de las células aisladas de los sitios inflamatorios fueron positivas para Ly-6G (Gr-1, Gr1) y de estas células, ~18 % fueron células positivas para P-Alexa. Como se muestra en la Figura 7, el 25,1 % de las células positivas para P-Alexa fueron positivas para F4/80; el 35,15 % de las células positivas para P-Alexa fueron positivas para Ly-6G (Gr-1, Gr1) y el 9,73 % de las células positivas para P-Alexa fueron positivas para CD11c. Todos los datos presentados fueron corregidos para control de isotipo. El estudio se repitió con administración de P-Alexa en el día 1 después de la implantación de partículas de PMMA y el aislamiento y procesamiento de tejido en el día 7 después de la implantación de las partículas. Aunque se redujeron los números globales de células positivas para P-Alexa, todavía se identificaron como positivos para F4/80, Ly-6G o CD11c.

Efectos del tratamiento con P-Dex

Se evaluó el efecto terapéutico de P-Dex sobre la osteólisis por micro-CT. El grupo de control de solución salina tuvo valores de volumen óseo/volumen de tejido (BV/TV) significativamente más pequeños ($p < 0,05$) de 0,8387 ± 0,0202 en comparación con el grupo de P-Dex (0,8618 ± 0,0056). El valor de densidad mineral ósea (BMD) en el grupo de control fue 836,4 ± 9,1 mg/cm^3, que es significativamente más bajo ($p < 0,05$) que el grupo de P-Dex (858,4 ± 8,7 mg/cm^3).

El efecto de P-Dex sobre la expresión de citocinas inflamatorias por monocitos humanos tratados con partículas de PMMA

Como se muestra en la Figura 8, la exposición a partículas de PMMA conduce a un marcado aumento en la expresión de ARNm de IL-1α e IL-1β en monocitos humanos cultivados. El pretratamiento de las células con P-Dex o Dex produjo una represión significativa de la respuesta de citocinas proinflamatorias inducida por partículas (por ejemplo, TNF e IL-1).

REIVINDICACIONES

1. Una composición para su uso en un método de diagnóstico *in vivo* de aflojamiento de implante en un sujeto, comprendiendo dicha composición al menos un polímero soluble en agua y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde dicho polímero soluble en agua está operativamente unido a al menos un agente de obtención de imágenes, en donde dicho polímero soluble en agua es un copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA) y en donde la presencia de dicho polímero soluble en agua en el sitio del implante en dicho sujeto es indicativa de aflojamiento de implante.

2. Una composición para su uso para inhibir el aflojamiento de un implante, comprendiendo dicha composición al menos un polímero soluble en agua y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde dicho polímero soluble en agua está operativamente unido a al menos un agente terapéutico, en donde dicho polímero soluble en agua es un copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA).

3. La composición de la reivindicación 1, en la que dicho agente de obtención de imágenes es un radioisótopo.

4. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que dicho implante es un implante ortopédico o dental.

5. Una composición para su uso en un método de diagnóstico *in vivo* de un riesgo elevado de osteólisis en un sujeto, comprendiendo dicha composición al menos un polímero soluble en agua y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde dicho polímero soluble en agua está operativamente unido a al menos un agente de obtención de imágenes, en donde dicho polímero soluble en agua es un copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA), y en donde la localización de dicho polímero soluble en agua en un sitio en el sujeto es indicativa de un riesgo elevado de osteólisis.

6. Una composición para su uso para inhibir osteólisis, comprendiendo dicha composición al menos un polímero soluble en agua y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde dicho polímero soluble en agua está operativamente unido a al menos un agente terapéutico, en donde dicho polímero soluble en agua es un copolímero de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA).

7. La composición para su uso según la reivindicación 2 o la reivindicación 6, en la que dicho agente terapéutico es un agente terapéutico antiinflamatorio.

8. La composición para su uso según la reivindicación 7, en la que dicho agente terapéutico antiinflamatorio es dexametasona.

9. La composición para su uso según la reivindicación 5, en la que dicho agente de obtención de imágenes es un radioisótopo.

10. La composición para su uso según la reivindicación 2 o la reivindicación 6, en la que dicho polímero soluble en agua está operativamente unido a dicho agente terapéutico mediante un conector sensible al pH.

11. La composición para su uso según la reivindicación 10, en la que dicho conector sensible al pH comprende una hidrazona.

12. La composición para su uso según la reivindicación 2 o la reivindicación 6, en donde dicha composición comprende además al menos un agente terapéutico antiinflamatorio adicional.

13. La composición para su uso según la reivindicación 5 o la reivindicación 6, en donde dicha osteólisis es en el sitio de un implante ortopédico o dental.

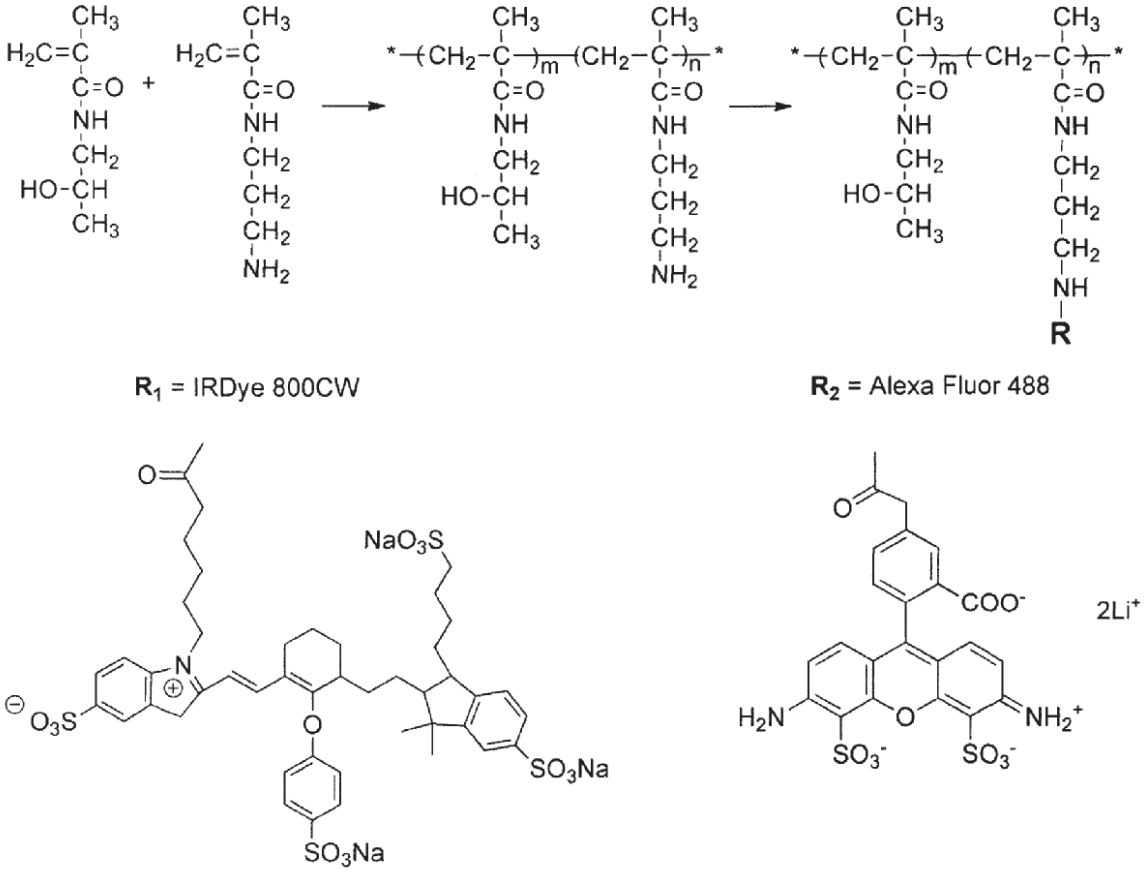


Figura 1

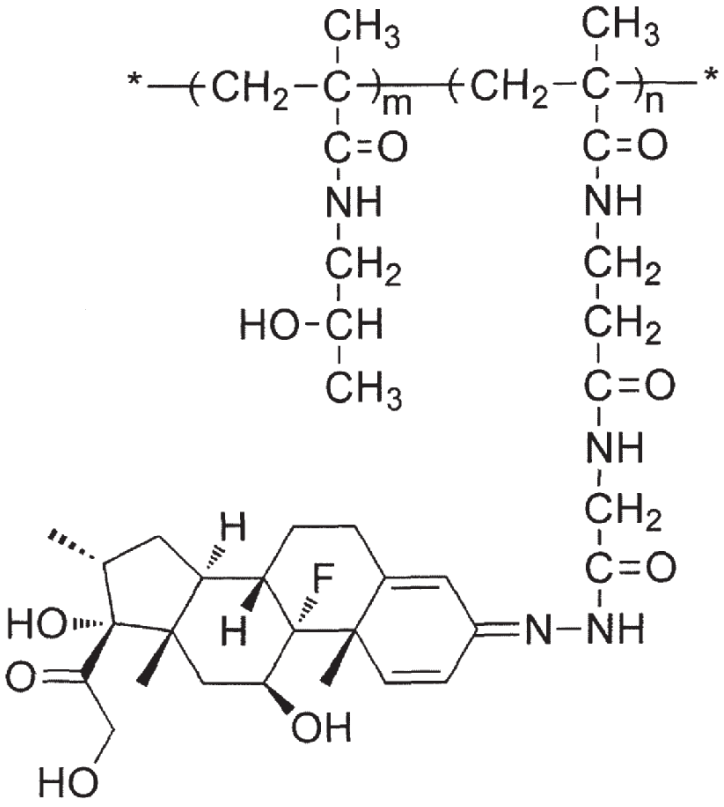

CH3
CH3
CH2
C
m
CH2
C
n
C=O
C=O
NH
NH
CH2
CH2
HO-CH
CH2
CH3
C=O
NH
CH2
C=O
H
F
HO
H
N
NH
O
OH
HO

Figura 2

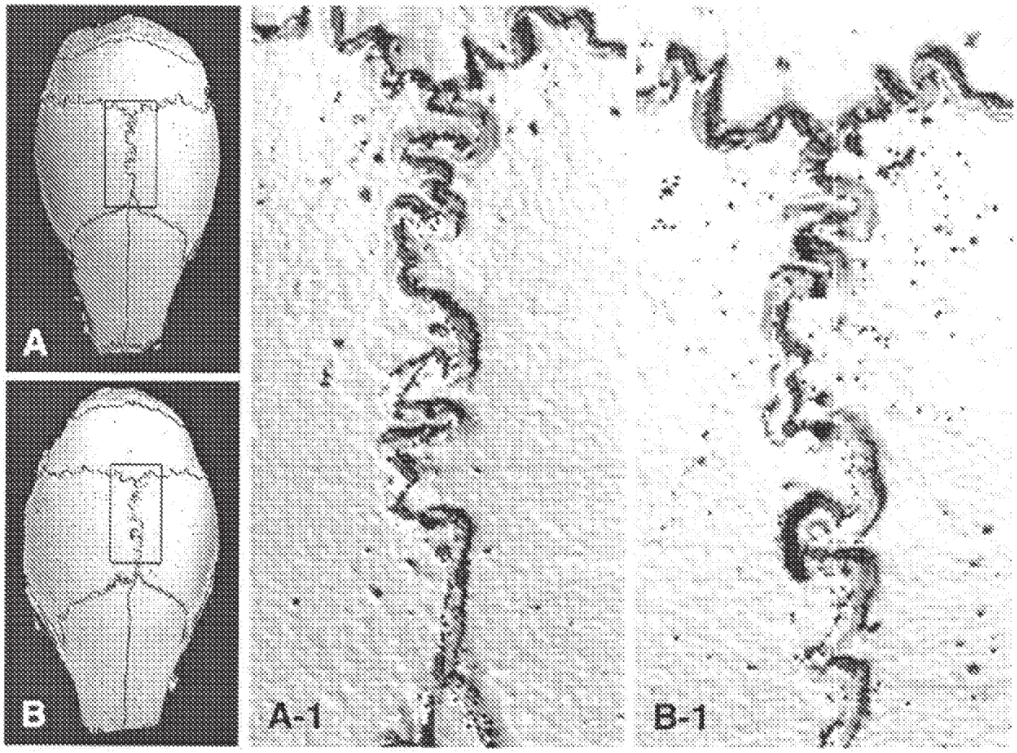


Figura 3

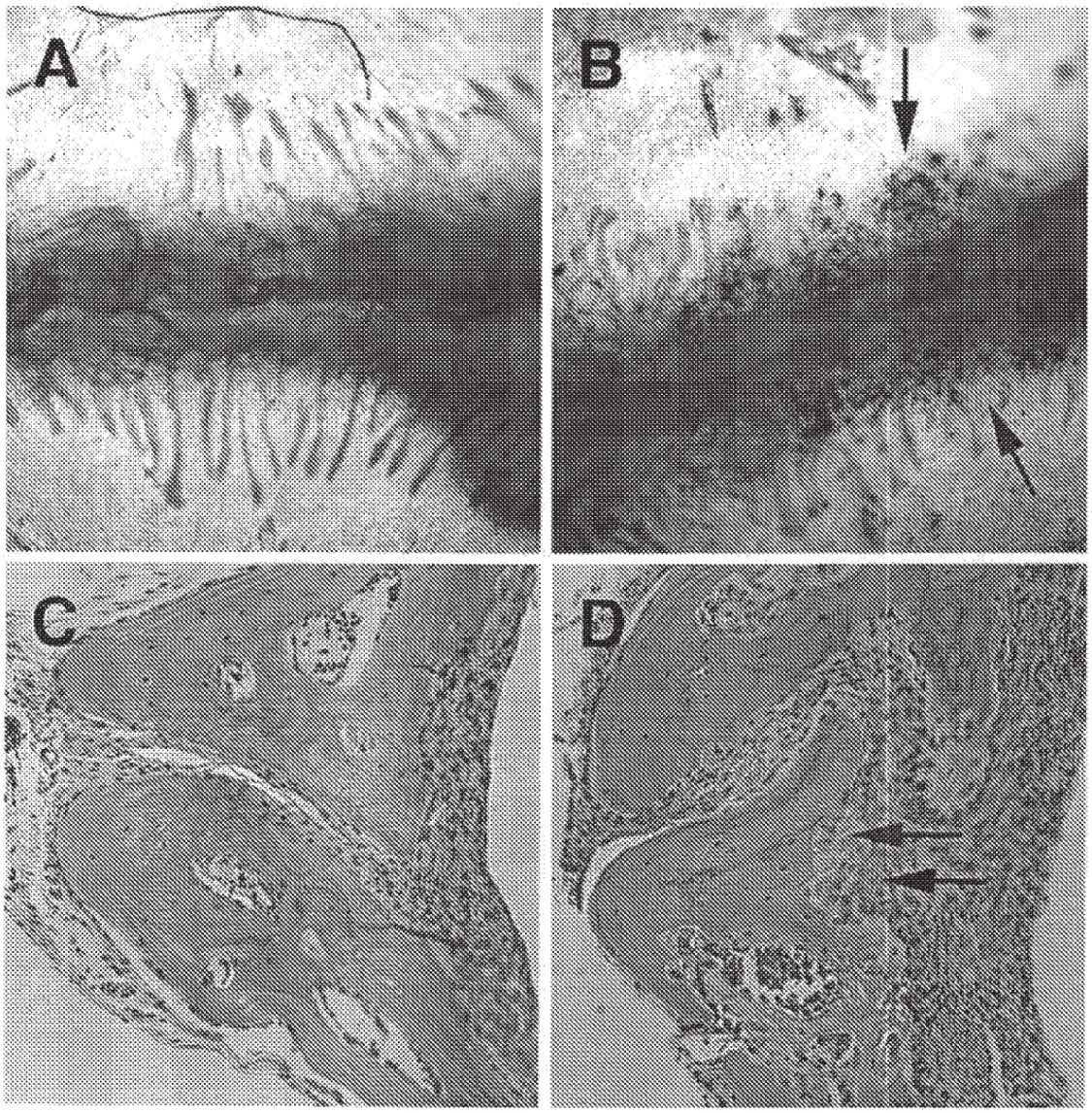


Figura 4

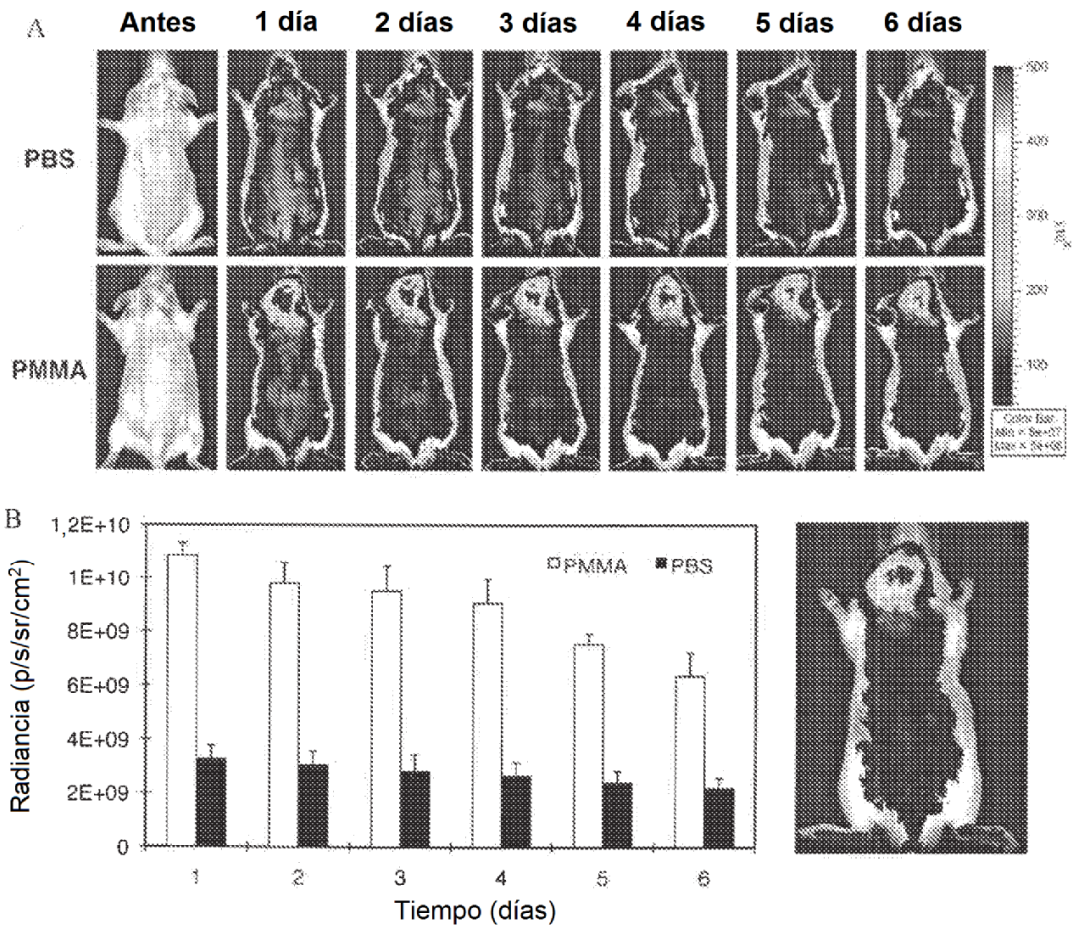

A
Antes
1 día
2 días
3 días
4 días
5 días
6 días
PBS
PMMA
B
1,2E+10
1E+10
8E+09
6E+09
4E+09
2E+09
0
Radiancia (p/s/sr/cm²)
PMMA
PBS
1
2
3
4
5
6
Tiempo (días)

Figura 5

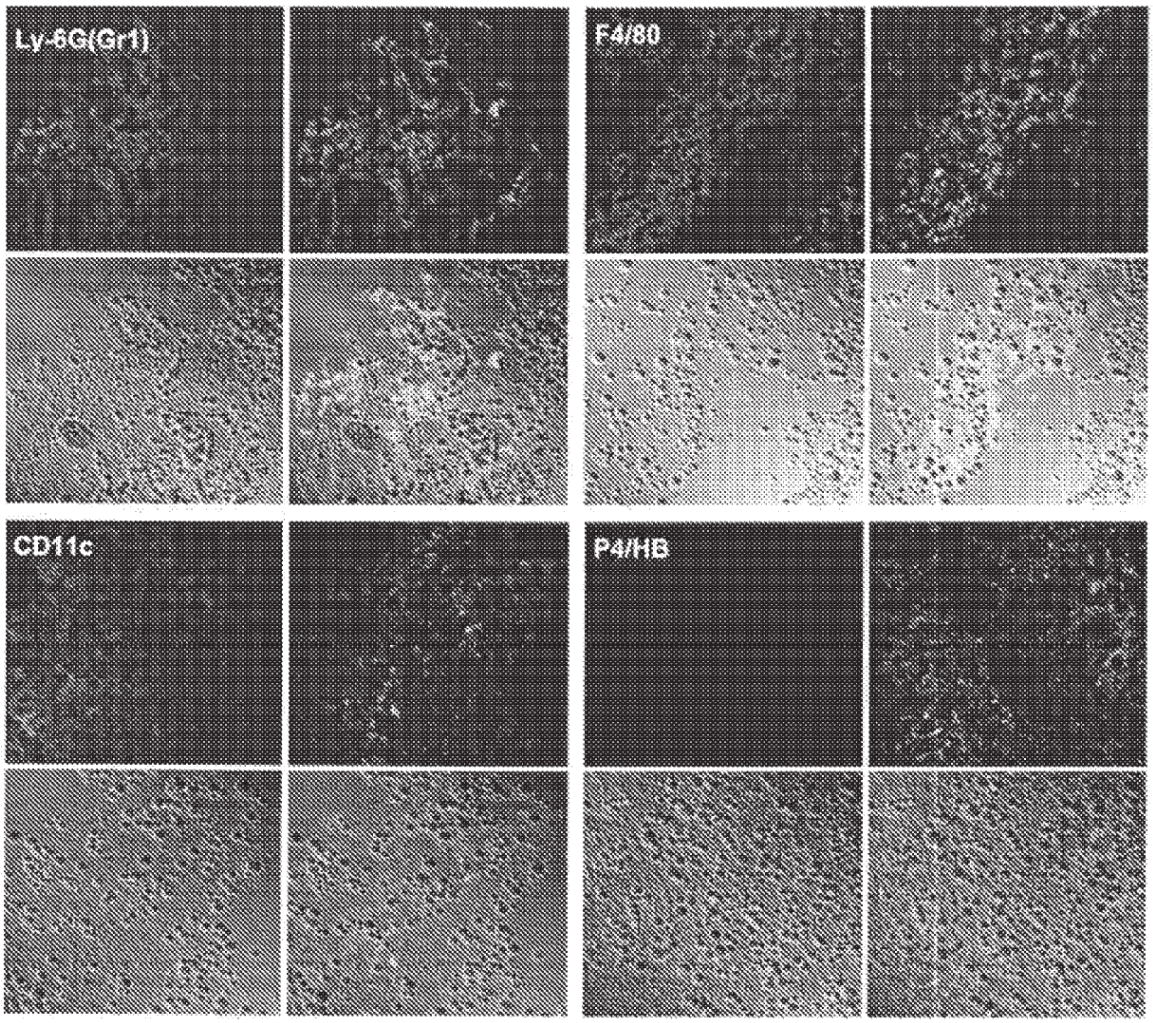


Figura 6

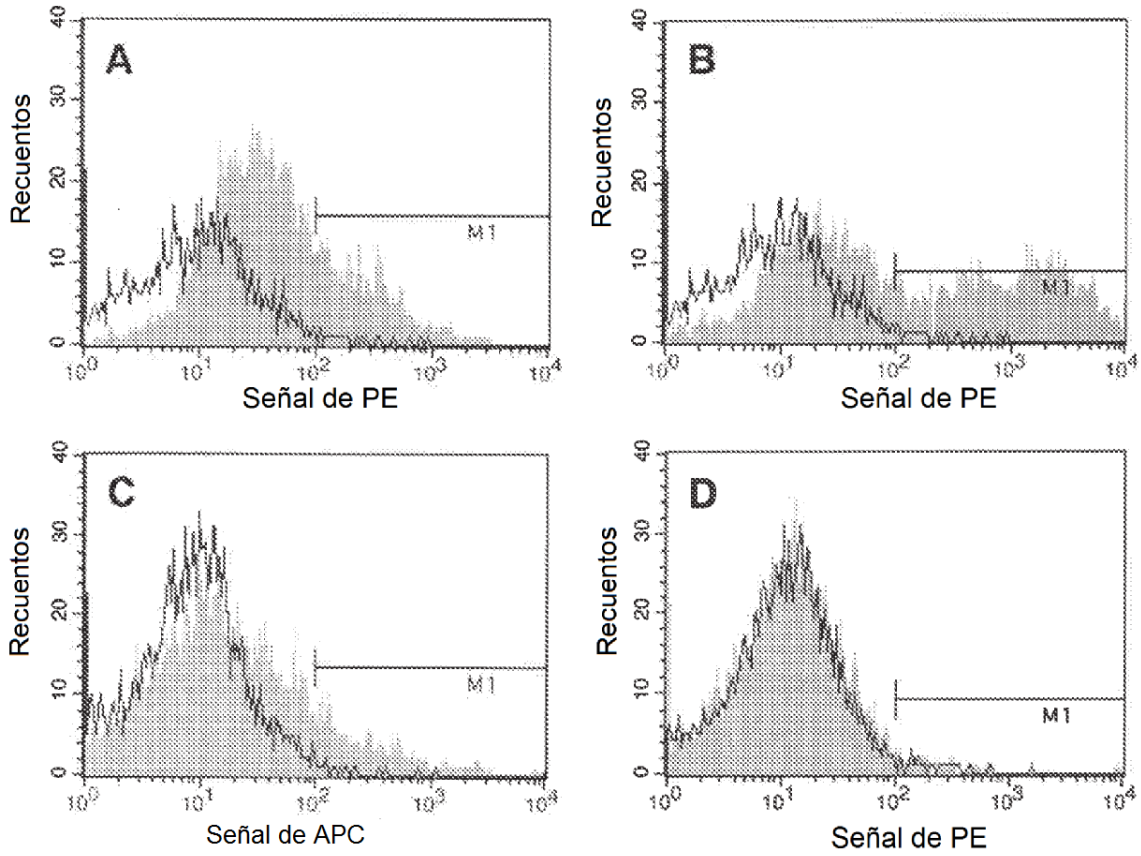

A
B
C
D
Recuentos
Señal de PE
Señal de APC
M1
0
10
20
30
40
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4

Figura 7

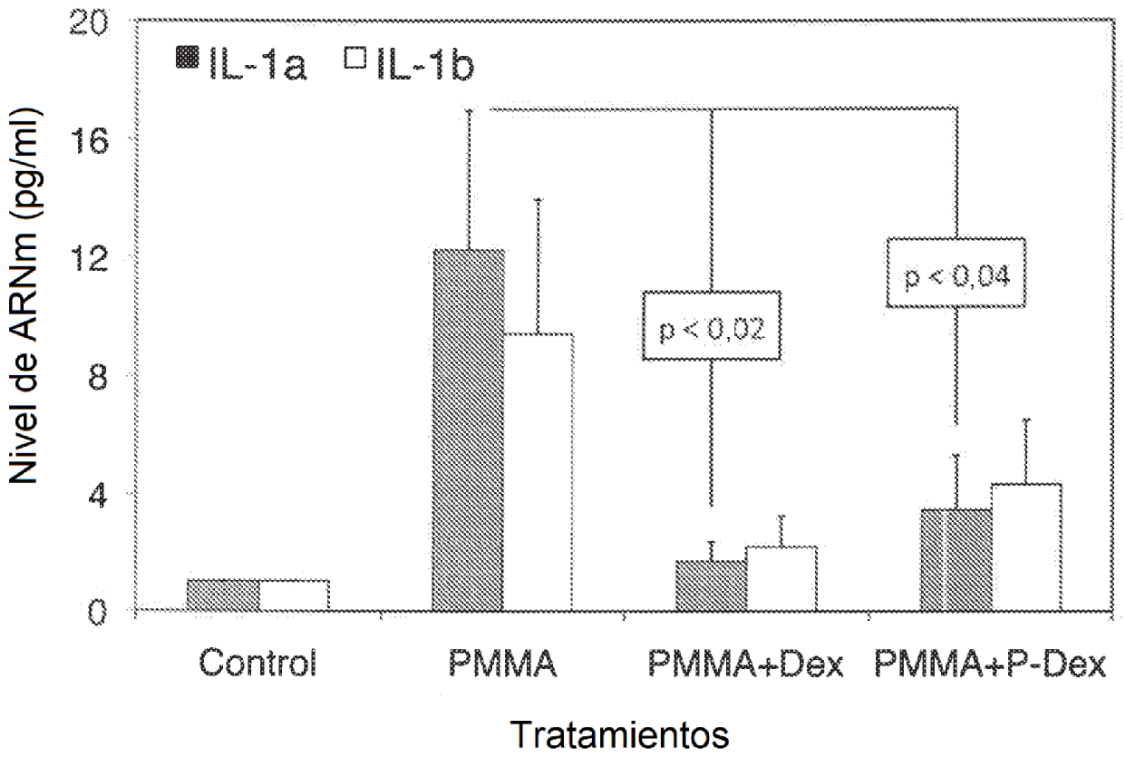

20
16
12
8
4
0
Nivel de ARNm (pg/ml)
IL-1a
IL-1b
p < 0,02
p < 0,04
Control
PMMA
PMMA+Dex
PMMA+P-Dex
Tratamientos

Figura 8