

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) PI0618794-3 A2



(22) Data de Depósito: 17/11/2006
(43) Data da Publicação: 13/09/2011
(RPI 2123)

(51) Int.CI.:
A61L 27/12

(54) Título: USO DE UMA MATRIZ BIOCOMPATÍVEL, KIT E COMPOSIÇÃO PARA AUMENTO ÓSSEO, ESPECIALMENTE PARA AUMENTO DO OSSO MAXILOFACIAL

(30) Prioridade Unionista: 17/11/2005 US 60/738,076

(73) Titular(es): Biomimetic Therapeutics, Inc.

(72) Inventor(es): Massimo Simion, Myron Nevins, Samuel E. Lynch

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

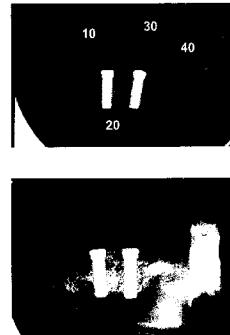
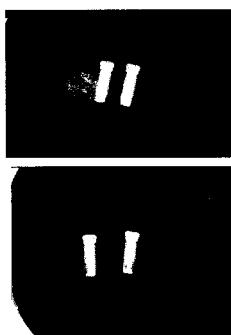
(86) Pedido Internacional: PCT US2006044766 de 17/11/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/061889de 31/05/2007

(57) Resumo: USO DE UMA MATRIZ BIOCOMPATÍVEL, KIT E COMPOSIÇÃO PARA AUMENTO ÓSSEO, ESPECIALMENTE PARA AUMENTO DO OSSO MAXILOFACIAL. A presente invenção refere-se a novos métodos e usos eficazes para composições para aumento ósseo maxilofacial, particularmente aumento do rebordo alveolar, que são livres de problemas associados com os métodos da técnica anterior. Em uma modalidade, estes materiais incluem fator de crescimento derivado de plaquetas recombinante humano (rhPDGF-BB) e uma matriz biocompatível. Em outra modalidade, estes materiais incluem rhPDGF-BB, um bloco ósseo desproteinizado ou fosfato de cálcio, e uma membrana biorreabsorvível. O uso destes materiais no presente método é eficaz na regeneração de ossos maxilofaciais e para facilitar a realização de implantes osseointegrados estáveis. A mandíbula e o maxilar superior são ossos preferenciais para aumento, e o aumento do rebordo alveolar é uma modalidade preferencial da presente invenção.

Resultados Radiográficos

Bloco e PDGF



020080099190108
PFO618794-3

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "AUMENTO
ÓSSEO MAXILOFACIAL USANDO rhPDGF-BB E UMA MATRIZ BIO-
COMPATÍVEL".

Campo da Invenção

5 A presente invenção refere-se a composições e métodos para aumento ósseo maxilofacial usando composições compreendendo uma solução de PDGF e uma matriz biocompatível, incluindo opcionalmente um aglutinante biocompatível.

Antecedentes da Invenção

10 O aumento ósseo maxilofacial é necessário em muitas situações incluindo o aumento do rebordo alveolar (inclusive aumento do rebordo horizontal e vertical, em cavidades de extração, no reparo de cavidades ósseas e deficiências na parede óssea do seio maxilar.

15 A regeneração óssea orientada (GBR) é um procedimento regenerativo derivado da regeneração tecidual orientada (GTR) em torno de dentes naturais e usada para aumento do rebordo antes de ou em combinação com colocação de implante osseointegrado. Originalmente, o princípio biológico da regeneração tecidual orientada foi descoberto por Nyman e Karring no início dos anos oitenta. A técnica cirúrgica envolve a colocação de uma
20 membrana de barreira oclusiva celular para proteger o coágulo sanguíneo e criar um espaço isolado em torno do defeito ósseo para permitir regeneração óssea sem competição de outros tecidos.

Schenk et al. (*Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 1994;9(1):13-29) demonstraram como o osso recém-regenerado progride em uma seqüência 25 programada através de uma série de etapas biológicas que são intimamente paralelas ao padrão de crescimento e desenvolvimento ósseo normal. Estes achados foram confirmados por Simion et al. (*Clin. Oral Implants Res.* 1999;10(2):73-84) com o mesmo modelo canino usando membranas reforçadas do politetrafluoroetileno (ePTFE) titânio. Evidência inesperada de estudos clínicos também sugere que o osso regenerada tem a capacidade de suportar a carga oclusal exercida por forças funcionais, e portanto é estável 30 com o tempo. (Mayfield et al. (*Clin. Oral Implants Res.* 1998;9(5):297-302)).

A regeneração óssea orientada está bem-documentada e estudos demonstram sua elevada eficácia e previsibilidade em procedimentos de aumento do rebordo horizontal e vertical. Este último procedimento, o qual se acredita que seja o mais tecnicamente exigente de todas as técnicas de regeneração óssea orientada, foi primeiro proposto por Simion et al. (*Int. J. Periodontic Restorative Dent.* 1994;14(6):496:511) em 1994. É indicado quando a altura do osso é insuficiente para colocação de implante, estabilidade de longo termo, ou quando a reabilitação prostética resultará em coras excessivamente longas e uma proporção desfavorável implante / coroa.

Estão disponíveis uma variedade de materiais para substitutos ósseos e membranas ao aplicar os princípios da regeneração óssea orientada. Estudos clínicos humanos mostraram a possibilidade de aumento ósseo vertical com sucesso usando membranas de e-PTFE em combinação com materiais de enchimento (ossos autógenos (Tinti, et al., *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 1996;16(3):220-9, Tinti, et al., *Int. J Periodontics Restorative Dent.* 1998;18(5):434-43)) e aloenxerto de osso secado por congelamento desmineralizado (DFDBA), (Simion, et al., *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 1998;18(1):8-23)).

Um dos principais problemas referentes a procedimentos de aumento do rebordo alveolar é a exposição prematura da membrana devido a deiscência de tecidos moles resultando em infecção local e regeneração óssea incompleta, comprometendo os resultados finais. De modo a superar estes problemas, os materiais usados e as técnicas cirúrgicas aplicadas na regeneração óssea orientada têm sido freqüentemente modificadas e adaptadas (Simion et al., *Int. J Periodontics Restorative Dent.* 1994;14(2):166-80, Simion et al, *J Clin. Periodontol.* 1995;22(4);321-31).

A aumento do rebordo vertical é necessária tanto para a mandíbula quanto para o maxilar superior. Por conseguinte, são necessários novos métodos e materiais que sejam livres de problemas associados com os métodos da técnica anterior, e que sejam eficazes no aumento ósseo, particularmente a aumento de ossos maxilofaciais, e particularmente o rebordo alveolar de modo que possam ser obtidos implantes osseointegrados estáveis.

Sumário da Invenção

A presente invenção proporciona usos para composições para aumentar osso em sítios maxilofaciais desejados. A presente invenção proporciona novos métodos e composições eficazes para aumento ósseo, especialmente aumento de ossos maxilofaciais, que sejam livres de problemas associados com os métodos da técnica anterior. Os métodos referidos incluem, mas não estão limitados o aumento ósseo no maxilar superior ou na mandíbula. Os sítios de ampliação óssea referidos podem incluir mas não estão limitados a aumento do rebordo alveolar, reparo de cavidades de extração, elevação sinusal, e deficiências no maxilar superior adjacentes ao seio maxilar. O aumento do rebordo alveolar é uma modalidade da presente invenção e inclui aumento do rebordo horizontal (lateral) e vertical.

As composições usadas nestes métodos incluem fator de crescimento derivado de plaquetas fator de crescimento plaquetário (PDGF), tal como fator de crescimento derivado de plaquetas recombinante humano (rhPDGF), uma matriz biocompatível e, opcionalmente, uma membrana reabsorvível. O uso destas composições no presente método é eficaz na regeneração óssea e para facilitar a realização de implantes osseointegrados estáveis. Apesar de qualquer osso poder ser aumentado com a presente invenção, a mandíbula e o maxilar superior são ossos preferenciais para aumento. A ampliação dos rebordos alveolares na mandíbula e/ou no maxilar superior é uma modalidade preferencial da presente invenção.

Em um aspecto, uma composição proporcionada pela presente invenção para promover aumento ósseo compreende uma solução comprendendo PDGF e uma matriz biocompatível, em que a solução é disposta na matriz biocompatível. Em algumas modalidades, PDGF está presente na solução em uma concentração variando a partir de cerca de 0,01 mg/ml a cerca de 10 mg/ml, a partir de cerca de 0,05 mg/ml a cerca de 5 mg/ml, ou a partir de cerca de 0,1 mg/ml a cerca de 1,0 mg/ml. A concentração de PDGF dentro da solução pode estar dentro de quaisquer das faixas de concentração determinadas acima.

Em modalidades da presente invenção, PDGF compreende ho-

modímeros e heterodímeros de PDGF, incluindo PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC, PDGF-DD, e misturas e derivados dos mesmos. Em uma modalidade, PDGF comprehende PDGF-BB. Em outra modalidade PDGF comprehende um PDGF humano recombinante (rh) tal como rhPDGF-BB.

5

Em algumas modalidades da presente invenção, PDGF comprehende fragmentos de PDGF. Em uma modalidade rhPDGF-B comprehende os seguintes fragmentos: seqüências de aminoácidos 1-31, 132, 33-108, 33-109, e/ou 1-108 da cadeia B inteira. A seqüência de aminoácidos completa 10 (1-109) da cadeia B de PDGF é proporcionada na Figura 15 da Patente dos Estados Unidos Nº 5.516.896. Deve ser entendido que as composições de rhPDGF da presente invenção podem compreender uma combinação de rhPDGF-B intacto (1-109) e fragmentos do mesmo. Outros fragmentos de PDGF podem ser empregados tais como os descritos na Patente dos Estados Unidos Nº 5.516.896. De acordo com uma modalidade preferencial, o 15 rhPDGF-BB comprehende no mínimo 65% da seqüência de aminoácidos inteira de rhPDGF-B (1-109).

Uma matriz biocompatível, de acordo com algumas modalidades da presente invenção, comprehende um material de construção de estrutura óssea, tal como um bloco ósseo. Em algumas modalidades, o bloco ósseo pode ser desmineralizado. Em algumas modalidades, um material de construção de estrutura óssea comprehende fosfato de cálcio. Fosfato de cálcio, em uma modalidade, comprehende fosfato β-tricálcico.

Em outro aspecto, a presente invenção proporciona uma posição para promover procedimento de aumento ósseo comprendendo uma solução de PDGF disposta em uma matriz biocompatível, em que a matriz biocompatível comprehende um bloco ósseo e um aglutinante biocompatível. A solução de PDGF pode ter uma concentração de PDGF conforme descrito acima. Um material de construção de estrutura óssea, em algumas 20 modalidades, comprehende fosfato de cálcio. Em uma modalidade, fosfato de cálcio comprehende fosfato β-tricálcico.

Além disso, um aglutinante biocompatível, de acordo com algu-

mas modalidades da presente invenção, compreende proteínas, polissacáridos, ácidos nucléicos, carboidratos, polímeros sintéticos, ou misturas dos mesmos. Em uma modalidade, um aglutinante biocompatível compreende colágeno. Em outra modalidade, um aglutinante biocompatível compreende 5 ácido hialurônico.

Em outro aspecto, a presente invenção proporciona um kit compreendendo uma matriz biocompatível em um primeiro pacote e uma solução compreendendo PDGF em um segundo pacote. Em algumas modalidades, a solução compreende uma concentração predeterminada de PDGF. A 10 concentração do PDGF pode ser predeterminada de acordo com o procedimento cirúrgico sendo realizado. Além disso, em algumas modalidades, a matriz biocompatível pode estar presente no kit em uma quantidade predeterminada. A quantidade de matriz biocompatível proporcionada por um kit pode ser dependente do procedimento cirúrgico sendo realizado. Em algumas 15 modalidades, o segundo pacote contendo a solução de PDGF compreende uma seringa. Uma seringa pode facilitar a disposição da solução de PDGF na matriz biocompatível para aplicação em um sítio cirúrgico, tal como um sítio de fusão óssea em um procedimento de aumento ósseo. Em algumas modalidades, o kit contém uma membrana reabsorvível a qual pode ser 20 usada nos métodos da presente invenção.

A presente invenção adicionalmente proporciona métodos para produzir composições para uso em procedimentos de aumento ósseo bem como métodos para realizar procedimentos de aumento ósseo. Em uma modalidade, um método para produzir uma composição compreende proporcionar uma solução compreendendo PDGF, proporcionar uma matriz biocompatível, e dispor a solução na matriz biocompatível. 25

Em outra modalidade, um método para realizar um procedimento de aumento ósseo compreende proporcionar uma composição compreendendo uma solução de PDGF disposta em uma matriz biocompatível e aplicar a composição a no mínimo um sítio de aumento ósseo desejado. Em algumas modalidades, o método compreende aumento do rebordo alveolar 30 da mandíbula ou do maxilar superior. O rebordo alveolar aumentado pode

ser preparado subsequentemente para receber um implante osseointegrado.

Por conseguinte, é um objetivo da presente invenção proporcionar usos para composições compreendendo PDGF em uma matriz biocompatível útil para facilitar o aumento ósseo, particularmente o aumento ósseo maxilofacial.

É um objetivo da presente invenção proporcionar usos para composições compreendendo PDGF em uma matriz biocompatível na preparação de um medicamento útil para facilitar o aumento ósseo, particularmente o aumento ósseo maxilofacial.

10 É um objetivo da presente invenção proporcionar composições compreendendo PDGF em uma matriz biocompatível útil para facilitar o aumento ósseo.

15 É um objetivo da presente invenção proporcionar composições compreendendo PDGF em uma matriz biocompatível útil para facilitar o aumento ósseo maxilofacial.

É outro objetivo da presente invenção proporcionar composições compreendendo PDGF em uma matriz biocompatível útil para facilitar o aumento ósseo no maxilar superior ou na mandíbula.

Ainda outro objetivo da presente invenção é proporcionar composições compreendendo PDGF em uma matriz biocompatível útil para facilitar o aumento ósseo no maxilar superior ou na mandíbula de modo que um implante pode ser inserido no maxilar superior ou na mandíbula.

25 Outro objetivo da presente invenção é proporcionar composições compreendendo PDGF em uma matriz biocompatível útil para facilitar o aumento do rebordo alveolar no maxilar superior ou na mandíbula de modo que um implante pode ser inserido de modo estável no maxilar superior ou na mandíbula.

30 É outro objetivo da presente invenção proporcionar um método para aumento ósseo vertical ou horizontal, particularmente no maxilar superior e/ou na mandíbula.

Ainda outro objetivo da presente invenção é proporcionar um método para aumentar o rebordo alveolar no maxilar superior ou na mandí-

bula.

Outro objetivo da presente invenção é proporcionar kits contendo PDGF e uma matriz biocompatível, incluindo opcionalmente uma membrana reabsorvível.

5 Estas e outras modalidades da presente invenção são descritas em maiores detalhes na descrição detalhada que se segue. Estes e outros objetivos, características, e vantagens da presente invenção se tornarão evidentes depois de revisão da seguinte descrição detalhada das modalidades e reivindicações descritas.

10 Breve Descrição das Figuras

A figura 1 apresenta resultados radiográficos em 3 animais de controle recebendo o bloco bovino desproteinizado sem PDGF, em que o bloco foi coberto com a membrana de colágeno reabsorvível. Os implantes de titânio radiodensos brancos (10) são colocados na mandíbula (20). A área 15 (30) entre os implantes de titânio é radiolucente e apresenta pouco ou nenhum crescimento ósseo. É mostrado um dente vizinho (40).

A figura 2 apresenta resultados radiográficos em 4 animais experimentais recebendo o bloco bovino desproteinizado com PDGF. Os implantes de titânio radiodensos brancos (10) são colocados na mandíbula (20). A área 20 (30) entre os implantes de titânio é relativamente radiodensa e apresenta crescimento ósseo. É mostrado um dente vizinho (40).

A figura 3 apresenta resultados radiográficos em 4 animais experimentais recebendo o bloco bovino desproteinizado com PDGF, em que o bloco foi coberto com a membrana de colágeno reabsorvível. Os implantes 25 de titânio radiodensos brancos (10) são colocados na mandíbula (20). A área (30) entre os implantes de titânio é relativamente radiodensa e apresenta crescimento ósseo. É mostrado um dente vizinho (40).

Descrição Detalhada

A presente invenção refere-se a novos usos para composições 30 compreendendo uma solução de PDGF disposta em uma matriz biocompatível para aumento ósseo em sítios maxilofaciais desejados. Uma membrana biorreabsorvível é opcionalmente empregada em combinação com os usos

da presente invenção. Estes usos da presente invenção incluem adicionalmente composições compreendendo um aglutinante biocompatível, tal como colágeno. Estes usos da presente invenção incluem as composições compreendendo uma solução de PDGF disposta em uma matriz biocompatível,

5 compreendendo adicionalmente um agente biologicamente ativo. Estes usos da presente invenção incluem, mas não estão limitados a, aumento maxilofacial em sítios desejados tais como um rebordo alveolar, um defeito ósseo, uma parede do seio maxilar, ou uma cavidade de extração. As composições da presente invenção podem ser usadas na preparação de um medicamento

10 para aumento ósseo maxilofacial em sítios desejados.

A presente invenção proporciona novos métodos e composições eficazes para aumento ósseo, especialmente aumento ósseo maxilofacial, que são livres de problemas associados com os métodos da técnica anterior. Os métodos referidos incluem, mas não estão limitados a aumento ósseo no

15 maxilar superior ou na mandíbula. Os sítios de aumento ósseo referidos podem incluir mas não estão limitados a aumento do rebordo alveolar, reparo de cavidades de extração, elevação sinusal, e deficiências no maxilar superior adjacente ao seio maxilar. O aumento do rebordo alveolar é uma modalidade preferencial da presente invenção e inclui aumento do rebordo horizontal (lateral) e vertical. O termo rebordo horizontal é equivalente a rebordo lateral e inclui rebordos bucal, lingual e palatal. O termo rebordo vertical inclui os rebordos alveolares verticais mandibular e do maxilar superior.

Em uma modalidade, uma composição para aumento ósseo compreende uma solução compreendendo PDGF e uma matriz biocompatível, em que a solução é disposta na matriz biocompatível. Em outra modalidade, uma composição compreende uma solução de PDGF disposta em uma matriz biocompatível, em que a matriz biocompatível compreende um material de construção de estrutura óssea e um aglutinante biocompatível. Em uma modalidade PDGF é rhPDGF-BB em uma solução de acetato.

30 A presente invenção também proporciona um kit compreendendo uma matriz biocompatível em um primeiro pacote e uma solução compreendendo PDGF em um segundo pacote a qual pode agir como um meio de

dispensação. Em algumas modalidades, a solução compreende uma concentração predeterminada de PDGF. Em algumas modalidades, a concentração de PDGF é consistente com os valores proporcionados aqui, neste requerimento de patente. A concentração do PDGF pode ser predeterminada de acordo com o procedimento cirúrgico sendo realizado. Além disso, em algumas modalidades, a matriz biocompatível pode estar presente no kit em uma quantidade predeterminada. A quantidade de matriz biocompatível proporcionada por um kit pode ser dependente do procedimento cirúrgico sendo realizado. Em modalidades específicas a matriz biocompatível é um bloco ósseo ou fosfato β-tricálcico. Em algumas modalidades, o segundo pacote contendo a solução de PDGF compreende um meio de dispensação, tal como uma seringa. Uma seringa pode facilitar a disposição da solução de PDGF na matriz biocompatível para aplicação em um sítio cirúrgico, tal como um sítio de aumento ósseo desejado. Em outra modalidade, o kit também contém uma membrana reabsorvível em outro recipiente.

Voltando-se agora para componentes que podem ser incluídos em várias modalidades da presente invenção, as composições da presente invenção compreendem uma solução compreendendo PDGF.

PDGF

PDGF desempenha um papel importante na regulação do crescimento e divisão de células. PDGF, como com outros fatores de crescimento, é operável para ligar com os domínios extracelulares de tirosina quinases receptores. A ligação de PDGF a estas proteínas transmembrana dispara a atividade da quinase de seus domínios catalíticos localizados sobre o lado citosólico da membrana. Fosforilando resíduos tirosina de proteínas alvo, as quinases induzem uma variedade de processos celulares que incluem crescimento celular e produção de matriz extracelular.

Em um aspecto, uma composição proporcionada pela presente invenção compreende uma solução compreendendo PDGF e uma matriz biocompatível, em que a solução é disposta na matriz biocompatível. Em algumas modalidades, PDGF está presente na solução em uma concentração variando a partir de cerca de 0,01 mg/ml a cerca de 10 mg/ml, a partir de

cerca de 0,05 mg/ml a cerca de 5 mg/ml, ou a partir de cerca de 0,1 mg/ml a cerca de 1,0 mg/ml. PDGF pode estar presente na solução em qualquer concentração dentro destas faixas determinadas. Em outras modalidades, PDGF está presente na solução em qualquer uma das seguintes concentrações: cerca de 0,05 mg/ml; cerca de 0,1 mg/ml; cerca de 0,15 mg/ml; cerca de 0,2 mg/ml; cerca de 0,25 mg/ml; cerca de 0,3 mg/ml; cerca de 0,35 mg/ml.; cerca de 0,4 mg/ml; cerca de 0,45 mg/ml.; cerca de 0,5 mg/ml, cerca de 0,55 mg/ml, cerca de 0,6 mg/ml, cerca de 0,65 mg/ml, cerca de 0,7 mg/ml; cerca de 0,75 mg/ml; cerca de 0,8 mg/ml; cerca de 0,85 mg/ml; cerca de 0,9 mg/ml; cerca de 0,95 mg/ml; ou cerca de 1,0 mg/ml. Deve ser entendido que estas concentrações são simplesmente exemplos de modalidades particulares, e que a concentração de PDGF pode estar dentro de quaisquer das faixas de concentrações determinadas acima.

Várias quantidades de PDGF podem ser usadas nas composições da presente invenção. Quantidades de PDGF que podem ser usadas incluem quantidades nas seguintes faixas: cerca de 1 ug a cerca de 50 mg, cerca de 10 ug a cerca de 25 mg, cerca de 100 ug a cerca de 10 mg, e cerca de 250 ug a cerca de 5 mg. Deve ser entendido que o PDGF pode ser empregado em combinação com fatores e/ou fármacos de estimulação óssea adicionais, por exemplo, bisfosfonatos para inibição da atividade de osteoclasto.

A concentração de PDGF ou outros fatores de crescimento em modalidades da presente invenção pode ser determinada usando métodos conhecidos por uma pessoa com conhecimento regular da técnica, por exemplo, usando um imunoensaio ligado a enzima conforme descrito nas Patentes dos Estados Unidos Nºs 6.221.625, 5.747.273, e 5.290.708. Outros testes conhecidos na técnica podem ser usados para determinar a concentração de PDGF. Quando proporcionada aqui a concentração molar de PDGF é determinada com base no peso molecular (MW) de diéter PDGF (por exemplo, PDGF-BB; peso molecular de cerca de 25 kDa).

Em modalidades da presente invenção, PDGF compreende PDGF homodímeros e heterodímeros, incluindo PDGF-AA, PDGF-BB,

PDGF-AB, PDGF-CC, PDGF-DD, e misturas e derivados dos mesmos. Em uma modalidade, PDGF compreende PDGF-BB. Em outra modalidade PDGF compreende um PDGF humano recombinante (rh), tal como rhPDGF-BB.

5 PDGF, em algumas modalidades, pode ser obtido a partir de fontes naturais. Em outras modalidades, PDGF pode ser produzido por técnicas de DNA recombinante. Em outras modalidades, PDGF ou fragmentos dos mesmos podem ser produzidos usando técnicas de síntese de peptídeo conhecidas por uma pessoa versada na técnica, tal como síntese de peptídeo de fase sólida. Quando obtido de fontes naturais, PDGF pode ser derivado de fluidos biológicos. Fluidos biológicos, de acordo com algumas modalidades, podem compreender qualquer fluido tratado ou não tratado associado com organismos vivos incluindo sangue.

10

Fluidos biológicos, em outra modalidade, também pode compreender 15 componentes do sangue incluindo concentrado de plaquetas (PC), plaquetas aferesadas, plasma rico em plaquetas (PRP), plasma, soro, plasma congelado fresco (FFP), e camada amarelada do sangue coagulado (BC). Fluidos biológicos, em uma modalidade adicional, pode compreender plaquetas separadas do plasma e ressuspensas em um fluido fisiológico.

20 Quando produzida por técnicas de DNA recombinante, uma sequência de DNA codificando um único monômero (por exemplo, PDGF cadeia B ou cadeia A), em algumas modalidades, pode ser inserida em células procarióticas ou eucarióticas cultivadas para expressão para produzir subsequentemente o homodímero (por exemplo, PDGF-BB ou PDGF-AA). Em outras 25 modalidades, um PDGF heterodímero pode ser gerado inserindo sequências de DNA codificando tanto para unidades monoméricas do heterodímero em células procarióticas ou eucarióticas cultivadas e possibilitando que as unidades monoméricas traduzidas sejam processadas pelas células para produzir o heterodímero (por exemplo, PDGF-AB). PDGF-BB recombinante de GMP disponível comercialmente pode ser obtido comercialmente 30 na Chiron Corporation (Emeryville, CA). rhPDGF-BB grau de pesquisa pode ser obtida de múltiplas fontes incluindo R&D Systems, Inc. (Minneapolis,

MN), BD Biosciences (San Jose, CA), e Chemicon, International (Temecula, CA).

Em algumas modalidades da presente invenção, PDGF compreende fragmentos de PDGF. Em uma modalidade rhPDGF-B compreende os 5 seguintes fragmentos: seqüências de aminoácidos 1-31, 132, 33-108, 33-109, e/ou 1-108 da cadeia B inteira. A seqüência de aminoácidos completa (1109) da cadeia B de PDGF é proporcionada na Figura 15 da Patente dos Estados Unidos Nº 5.516.896. Deve ser entendido que as composições de rhPDGF da presente invenção podem compreender uma combinação de 10 rhPDGF-B intacto (1-109) e fragmentos do mesmo. Outros fragmentos de PDGF podem ser empregados tais como os descritos na Patente dos Estados Unidos Nº 5.516.896. De acordo com uma modalidade preferencial, o rhPDGF-BB compreende no mínimo 65% de rhPDGF-B intacto (1-109).

Em algumas modalidades da presente invenção, PDGF pode ser 15 purificado. PDGF purificado, conforme usado aqui, neste requerimento de patente, compreende composições tendo mais de cerca de 95% em peso de PDGF antes de incorporação em soluções da presente invenção. A solução pode ser qualquer solução farmaceuticamente aceitável. Em outras modalidades, o PDGF pode ser substancialmente purificado. PDGF substancialmente purificado, conforme usado aqui, compreende composições tendo cerca de 5% a cerca de 95% em peso de PDGF antes de incorporação em soluções da presente invenção. Em uma modalidade, PDGF substancialmente purificado compreende composições tendo cerca de 65% a cerca de 95% em peso de PDGF antes de incorporação em soluções da presente invenção. Em outras modalidades, PDGF substancialmente purificado compreende composições tendo cerca de 70% a cerca de 95%, cerca de 75% a cerca de 95%, cerca de 80% a cerca de 95%, cerca de 85% a cerca de 95%, ou cerca de 90% a cerca de 95%, e, em peso de PDGF, antes de incorporação em soluções da presente invenção. PDGF purificado e PDGF substancialmente purificado podem ser incorporados em estruturas e aglutinantes.

Em uma modalidade adicional, PDGF pode ser parcialmente purificado. PDGF parcialmente purificado, conforme usado aqui, compreende

composições tendo PDGF no contexto de plasma rico em plaquetas (PRP), plasma congelado fresco (FFP), ou qualquer outro produto sanguíneo que requer coleta e separação para produzir PDGF. Modalidades da presente invenção contemplam que quaisquer das isoformas de PDGF proporcionadas aqui, incluindo homodímeros e heterodímeros, podem ser purificadas ou parcialmente purificadas. Composições da presente invenção contendo misturas de PDGF podem conter isoformas de PDGF ou fragmentos de PDGF em proporções parcialmente purificadas. PDGF purificado e parcialmente purificado, em algumas modalidades, pode ser preparado conforme descrito no Pedido de Patente dos Estados Unidos Nºs de Série 10/965.319 e 11/159.533 (Publicação No: 20060084602).

Em algumas modalidades, soluções compreendendo PDGF são formadas solubilizando PDGF em um ou mais tampões. Tampões adequados para uso em soluções de PDGF da presente invenção podem compreender, mas não estão limitados a, carbonatos, fosfatos (por exemplo, solução salina tamponada com fosfato), histidina, acetatos (por exemplo, acetato de sódio), tampões acidíferos tais como ácido acético e HCl, e tampões orgânicos tais como lisina, tampões Tris (por exemplo, tris(hidroximetilaminometano), ácido N-2-hidroxietilpirazina-N'-2-etanossulfônico (HEPES), e ácido 3-(N-morfolino) propanossulfônico (MOPS). Tampões também podem ser selecionados com base em biocompatibilidade com PDGF e a capacidade do tampão para impedir modificação protéica indesejável. Tampões podem ser selecionados adicionalmente com base na compatibilidade com tecidos do hospedeiro. Em uma modalidade preferencial, é usado tam-pão de acetato de sódio. Os tampões podem ser empregados em diferentes molaridades, por exemplo cerca de 0,1 mM a cerca de 100 mM, cerca de 1 mM a cerca de 50 mM, cerca de 5 mM a cerca de 40 mM, cerca de 10 mM a cerca de 30 mM, ou cerca de 15 mM a cerca de 25 mM, ou qualquer molaridade dentro destas faixas. Em uma modalidade, um tampão de acetato é empregado em uma molaridade de cerca de 20 mM.

Em outra modalidade, soluções compreendendo PDGF são formadas solubilizando PDGF liofilizado em água, em que antes da solubiliza-

ção o PDGF é liofilizado a partir de um tampão apropriado.

Soluções compreendendo PDGF, de acordo com modalidades da presente invenção, podem ter um pH variando a partir de cerca de 3.0 a cerca de 8.0. Em uma modalidade, uma solução compreendendo PDGF tem 5 um pH variando a partir de cerca de 5.0 a cerca de 8.0, mais preferencialmente cerca de 5.5 a cerca de 7.0, o mais preferencialmente cerca de 5.5 a cerca de 6.5, ou qualquer valor dentro destas faixas. O pH das soluções compreendendo PDGF, em algumas modalidades, pode ser compatível com a prolongada estabilidade e eficácia de PDGF ou qualquer outro agente biológico ativo desejado. PDGF é geralmente mais estável em um ambiente acidífero. Portanto, de acordo com uma modalidade a presente invenção compreende uma formulação de armazenamento acidífero de uma solução de PDGF. De acordo com esta modalidade, a solução de PDGF preferencialmente tem um pH a partir de cerca de 3.0 a cerca de 7.0, e mais preferencialmente a partir de cerca de 4.0 a cerca de 6.5. No entanto, a atividade biológica de PDGF pode ser otimizada em uma solução tendo uma faixa de pH neutro. Portanto, em uma modalidade adicional, a presente invenção compreende uma formulação de pH neutro de uma solução de PDGF. De acordo com esta modalidade, a solução de PDGF preferencialmente tem um 10 pH a partir de cerca de 5.0 a cerca de 8.0, mais preferencialmente cerca de 5.5 a cerca de 7.0, o mais preferencialmente cerca de 5.5 a cerca de 6.5. De acordo com um método da presente invenção, uma solução de PDGF acidífero é reformulada para uma composição de pH neutro, em que a composição referida é em seguida usada para tratar osso de modo a promover crescimento. De acordo com uma modalidade preferencia da presente invenção, 15 o PDGF utilizado nas soluções é rhPDGF-BB.

O pH de soluções compreendendo PDGF, em algumas modalidades, pode ser controlado pelos tampões mencionados aqui. Várias proteínas demonstram diferentes faixas de pH nas quais são estáveis. As estabilidades protéicas são essencialmente refletidas por pontos isoelétricos e cargas sobre as proteínas. A faixa de pH pode afetar a estrutura conformacional de uma proteína e a suscetibilidade de uma proteína a degradação proteolí-

tica, hidrólise, oxidação, e outros processos que podem resultar em modificação da estrutura e/ou atividade biológica da proteína.

Em algumas modalidades, soluções compreendendo PDGF podem compreender adicionalmente componentes adicionais. Em outras modalidades, soluções compreendendo PDGF podem compreender adicionalmente meio de cultura celular, outras proteínas estabilizantes tais como albumina, agentes antibacterianos, inibidores da protease (por exemplo, EDTA, EGTA, aprotinina, EACA, etc.) e/ou outros fatores de crescimento tais como FGFs, EGF, TGFs, KGFs, IGFs BMPs, ou outros PDGFs incluindo 10 PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC e/ou PDGF-DD.

Além de soluções compreendendo PDGF, as composições da presente invenção também compreendem uma matriz biocompatível na qual dispor as soluções de PDGF e também podem compreender um aglutinante biocompatível quer com ou sem adição de uma matriz biocompatível.

15 Matriz Biocompatível

Material de Construção de Estrutura Óssea

Uma matriz biocompatível, de acordo com modalidades da presente invenção, compreende um material de construção de estrutura óssea. O material de construção de estrutura óssea proporciona a estrutura ou estrutura para ocorrer novo osso e crescimento de tecido.

Um material de construção de estrutura óssea, em algumas modalidades, compreende um bloco ósseo. Blocos ósseos podem ser obtidos de diferentes fontes. Em uma modalidade, é usado um bloco ósseo bovino desproteinizado (Bio-Oss Block, biomateriais Geistlich). Osso bovino desproteinizado é um material xenogênico processado para remover o componente orgânico. Sua eficácia foi bem demonstrada tanto na literatura periodontal quanto de implante em termos de estabilidade de longo termo (Sarton et al., *Clin Oral implants Res.* 2003 Jun;14(3):369-72). Osso desproteinizado pode ser obtido de outras espécies, incluindo mas não limitado a seres humanos, 30 e usados na presente invenção.

Outros materiais de matriz podem ser usados na presente invenção, tais como blocos ósseos autólogos corticais, cancelosos e córtico-

cancelosos e enxerto de particulado tend oum diâmetro médio de 0,1 mm a 100 mm. Além disso, blocos ósseos alogênicos, xenogênicos, corticais, cancelosos e córtico-cancelosos e peças tendo um diâmetro médio de 0,1 mm a 100 mm também podem ser usados na presente invenção.

5 Em algumas modalidades, um material de construção de estrutura óssea compreende estrutura porosa. Materiais de construção de estrutura óssea porosos, de acordo com algumas modalidades, podem compreender poros tendo diâmetros variando de cerca de 1 μm a cerca de 1 mm. Em uma modalidade, um material de construção de estrutura óssea compreende ma-
10 croporos tendo diâmetros variando de cerca de 100 μm a cerca de 1 mm. Em outra modalidade, um material de construção de estrutura óssea com-
preende mesoporos tendo diâmetro variando de cerca de 10 μm a cerca de 100 μm . Em uma modalidade adicional, um material de construção de estru-
tura óssea compreende microporos tendo diâmetros de menos de cerca de
15 10 μm . Modalidades da presente invenção contemplam materiais de cons-
trução de estrutura óssea compreendendo macroporos, mesoporos, e mi-
croporos ou qualquer combinação dos mesmos.

Um material de construção de estrutura óssea poroso, em uma modalidade, tem uma porosidade maior do que cerca de 25%. Em outra mo-
20 dalidade, um material de construção de estrutura óssea poroso tem uma po-
rosidade maior do que cerca de 50%. Em uma modalidade adicional, um material de construção de estrutura óssea poroso tem uma porosidade maior do que cerca de 90%.

Um material de construção de estrutura óssea, em algumas mo-
25 dalidades, compreende no mínimo um fosfato de cálcio. Em, outras modalida-
dades, um material de construção de estrutura óssea pode compreender uma pluralidade de fosfatos de cálcio. Fosfatos de cálcio adequados para uso como um material de construção de estrutura óssea, em modalidades da presente invenção, têm uma proporção atômica de cálcio para fósforo vari-
30 ando de 0,5 a 2,0.

Exemplos não limitantes de fosfatos de cálcio adequados para uso como materiais de construção de estrutura óssea compreendem fosfato

de cálcio amorfo, monoidrato de fosfato monocálcico (MCPM), fosfato monocálcico anídrico (MCPA), diidrato de fosfato dicálcico (DCPD), fosfato dicálcico anídrico (DCPA), fosfato octacálcico(OCP), fosfato α -tricálcico, fosfato β -tricálcico, hidroxiapatita (OHAp), hidroxiapatita fracamente cristalina, fosfato 5 tetracálcico(TTCP), decafosfato heptacálcico, metafosfato de cálcio, diidrato de pirofosfato de cálcio, pirofosfato de cálcio, fosfato de cálcio carbonado, ou misturas dos mesmos.

Em algumas modalidades, um material de construção de estrutura óssea compreende uma pluralidade de partículas. Um material de construção de estrutura óssea, por exemplo, pode compreender uma pluralidade de partículas de fosfato de cálcio. Partículas de construção de estrutura óssea, em uma modalidade, têm um diâmetro médio variando de cerca de 1 μm a cerca de 5 mm. Partículas de construção de estrutura óssea, em uma modalidade, têm um diâmetro médio variando de cerca de 1 μm a cerca de 2 10 mm. Partículas de construção de estrutura óssea, em uma modalidade, têm um diâmetro médio variando de cerca de 1 mm a cerca de 2 mm. Em outras modalidades, partículas tendo um diâmetro médio variando de cerca de 250 μm a cerca de 1000 μm . Em outras modalidades, partículas tendo um diâmetro médio variando de cerca de 250 μm a cerca de 750 μm . Partículas de 15 construção de estrutura óssea, em outra modalidade, têm um diâmetro médio variando de cerca de 100 μm a cerca de 300 μm . Partículas de construção de estrutura óssea, em outra modalidade, têm um diâmetro médio variando de cerca de 100 μm a cerca de 400 μm . Em uma modalidade adicional, as partículas têm um diâmetro médio variando de cerca de 75 μm a cerca de 20 200 μm . Em modalidades adicionais, partículas de construção de estrutura óssea têm um diâmetro médio de menos de cerca de 1 μm e, em alguns casos, menos de cerca de 1 mm.

Materiais de construção de estrutura óssea, de acordo com algumas modalidades, podem ser proporcionados em uma forma adequada 30 para implantação (por exemplo, uma esfera, um cilindro, ou um bloco). Em outras modalidades, materiais de construção de estrutura óssea são moldáveis. Materiais de construção de estrutura óssea moldáveis podem facilitar a

colocação eficiente de composições da presente invenção em e em torno de sítios-alvo no osso. Em algumas modalidades, materiais de construção de estrutura óssea moldáveis podem ser aplicados a sítios de aumento ósseo desejado com uma espátula ou dispositivo equivalente. Em algumas modalidades, materiais de construção de estrutura óssea são escoáveis. Materiais de construção de estrutura óssea escoáveis, em algumas modalidades, podem ser aplicados em sítios de fusão óssea através de uma seringa e agulha ou cânula. Em algumas modalidades, materiais de construção de estrutura óssea endurecem *in vivo*.

- 10 Em algumas modalidades, materiais de construção de estrutura óssea são biorreabsorvíveis. Um material de construção de estrutura óssea, em uma modalidade, pode ser reabsorvido dentro de um ano de implantação *in vivo*. Em outra modalidade, um material de construção de estrutura óssea pode ser reabsorvido dentro de 1, 3, 6, ou 9 meses de implantação *in vivo*. A 15 biorreabsorbibilidade será dependente de: (1) a natureza do material de matriz (isto é, sua composição química, estrutura física e tamanho); (2) a localização dentro do corpo na qual a matriz é colocada; (3) a quantidade de material de matriz que é usado; (4) o estado metabólico do paciente (diabético/não-diabético, osteoporótico, fumante, idade, uso de esteróides, e etc.); 20 (5) a extensão e/ou tipo de lesão tratada; e (6) o uso de outros materiais além da matriz tais como outros fatores ósseos anabólicos, catabólicos e anti-catabólicos.

Construção de Estrutura óssea Compreendendo Fosfato β-Tricálcico

Um material de construção de estrutura óssea para uso como 25 uma matriz biocompatível pode compreender fosfato β-tricálcico (β-TCP). β-TCP, de acordo com algumas modalidades, pode compreender uma estrutura porosa tendo poros multidirecionais e interconectados de diâmetros variáveis. A estrutura porosa do β-TCP, em uma modalidade, compreende macroporos tendo diâmetros variando de cerca de 100 µm a cerca de 1 mm, 30 mesopores tendo diâmetros variando de cerca de 10 µm a cerca de 100 µm, e microporos tendo diâmetros menores de cerca de 10 µm. Macroporos e microporos do β-TCP podem facilitar osteoindução e osteocondução ao pas-

so que macroporos, mesoporos e microporos podem permitir a comunicação de fluidos e o transporte de nutrientes para suportar o recrescimento ósseo por toda a matriz biocompatível de β-TCP.

Ao compreender uma estrutura porosa, β-TCP, em algumas modalidades, pode ter uma porosidade maior do que 25%. Em outras modalidades, β-TCP pode ter uma porosidade maior do que 50%. Em uma modalidade adicional, β-TCP pode ter uma porosidade maior do que 90%.

Em algumas modalidades, um material de construção de estrutura óssea compreende partículas de β-TCP. Partículas de β-TCP, em uma modalidade, têm um diâmetro médio variando de cerca de 1 µm a cerca de 5 mm. Partículas de β-TCP, em uma modalidade, têm um diâmetro médio variando de cerca de 1 µm a cerca de 2 mm. Partículas de β-TCP, em uma modalidade, têm um diâmetro médio variando de cerca de 1 mm a cerca de 2 mm. Em outras modalidades, partículas de β-TCP têm um diâmetro médio variando de cerca de 250 µm a cerca de 1000 µm. Em outras modalidades, partículas de β-TCP têm um diâmetro médio variando de cerca de 250 µm a cerca de 750 µm. Em outra modalidade, partículas de β-TCP têm um diâmetro médio variando de cerca de 100 µm a cerca de 400 µm. Em outra modalidade, partículas de β-TCP têm um diâmetro médio variando de cerca de 100 µm a cerca de 300 µm. Em uma modalidade adicional, partículas de β-TCP têm um diâmetro médio variando de cerca de 75 µm a cerca de 300 µm. Em modalidades adicionais, partículas de β-TCP têm um diâmetro médio de menos de 25 µm e, em alguns casos, um diâmetro médio de menos de 1 mm. Em modalidades adicionais, partículas de β-TCP têm um diâmetro médio de menos de 1 µm e, em alguns casos, um diâmetro médio de menos de 1 mm.

Uma matriz biocompatível compreendendo um material de construção de estrutura óssea de β-TCP, em algumas modalidades, pode ser proporcionada em uma forma adequada para implantação (por exemplo, uma esfera, um cilindro, ou um bloco). Em outras modalidades, um material de construção de estrutura óssea de β-TCP pode ser moldável deste modo facilitando a colocação da matriz em sítios de aumento ósseo desejado tais

como o maxilar superior ou a mandíbula. Matrizes escoáveis podem ser aplicadas através de seringas, tubos, ou espátulas.

Um material de construção de estrutura óssea de β -TCP, de acordo com algumas modalidades, é biorreabsorvível. Em uma modalidade, 5 um material de construção de estrutura óssea de β -TCP pode ser no mínimo 75% reabsorvido um ano depois da implantação *in vivo*. Em outra modalidade, um material de construção de estrutura óssea de β -TCP pode ser mais de 90% reabsorvido um ano depois da implantação *in vivo*.

Material de Construção de Estrutura óssea e Aglutinante Biocompatível

10 Em outra modalidade, uma matriz biocompatível compreende um material de construção de estrutura óssea e um aglutinante biocompatível. Materiais de construção de estrutura óssea em modalidades de uma matriz biocompatível compreendendo adicionalmente um aglutinante biocompatível são consistentes com aqueles proporcionados acima neste relatório.
15

Aglutinantes biocompatíveis, de acordo com algumas modalidades, podem compreender materiais operáveis para promover coesão entre substâncias combinadas. Um aglutinante biocompatível, por exemplo, pode promover adesão entre partículas de um material de construção de estrutura 20 óssea na formação de uma matriz biocompatível. Em algumas modalidades, o mesmo material pode servir tanto como um material de construção de estrutura quanto como um aglutinante se o material referido agir promovendo coesão entre as substâncias combinadas e proporcionar uma estrutura para ocorrer novo crescimento ósseo.

25 Aglutinantes biocompatíveis, em algumas modalidades, podem compreender colágeno, colágeno de vários graus de reticulação, polissacarídeos, ácidos nucléicos, carboidratos, proteínas, polipeptídeos, poli(α -hidróxi ácidos), poli(lactonas), poli(aminoácidos), poli(anidridos), poli(ortoésteres), poli(anidrido-co-imidas), poli(ortocarbonatos), poli(α -hidróxi 30 alcanoatos), poli(dioxanonas), poli(fosfoésteres), ácido poliláctico, poli(L-lactida) (PLLA), poli(D,L-lactide) (PDLLA), poliglicolídeo (PGA), poli(lactida-co-glicolídeo (PLGA), poli(L-lactida-co-D,L-lactida), poli(D,L-lactida-co-

trimetileno carbonato), ácido poliglicólico, poliidróxi-butirato (PHB), poli(ϵ -caprolactona), poli(δ -valerolactona), poli(γ -butirolactona), poli(caprolactona), ácido poliacrílico, ácido policarboxílico, poli(allilamina cloridrato), poli(dialildimetilamônio cloreto), poli(etilenoimina), fumarato de polipropileno, 5 álcool polivinílico, polivinilpirrolidona, polietileno, poliuretanos, polimetilmacrilato, fibras de carbono, poli(etileno glicol), poli(etileno óxido), poli(álcool vinílico), poli(vinil-pirrolidona), poli(etiloxazolina), copolímeros em bloco de poli(etileno óxido)-co-polipropileno óxido), poli(etileno tereftalato)poliamida, e copolímeros e misturas dos mesmos.

10 Aglutinantes biocompatíveis, em outras modalidades, podem compreender ácido algínico, goma arábica, goma guar, goma xantano, gelatina, quitina, quitosana, acetato de quitosana, lactato de quitosana, sulfato de condroitina, lecitina, N,O-carboximetil quitosana, derivados de fosfatidilcolina, um dextrano (por exemplo, α -ciclodextrina, β -ciclodextrina, γ -ciclodextrina, 15 ou sulfato de dextrano de sódio), cola de fibrina, glicerol, ácido hialurônico, hialuronato de sódio, uma celulose (por exemplo, metilcelulose, carboximetilcelulose, hidroxipropil metilcelulose, ou hidroxietil celulose), uma glucosamina, um proteoglicano, um amido (por exemplo, hidroxietil amido ou amido solúvel), ácido láctico, um ácido plurônico, glicerofosfato de sódio, glicogênio, uma queratina, seda, e derivados e misturas dos mesmos, e aglutinantes conhecidos por um versado na técnica para uso em aplicações ortopédicas.

20 Em algumas modalidades, um aglutinante biocompatível é hidrossolúvel. Um aglutinante hidrossolúvel pode dissolver da matriz biocompatível logo depois de sua implantação, deste modo introduzindo macroporosidade na matriz biocompatível. Macroporosidade, conforme discutido aqui, pode aumentar a osteocondutividade do material de implante aumentando o acesso e, consequentemente, a atividade de remodelação dos osteoclastos e osteoblastos no sítio do implante.

30 Em algumas modalidades, um aglutinante biocompatível pode estar presente em uma matriz biocompatível uma quantidade variando de cerca de 5 por cento em peso a cerca de 50 por cento em peso da matriz.

Em outras modalidades, um aglutinante biocompatível pode estar presente em uma quantidade variando de cerca de 10 por cento em peso a cerca de 40 por cento em peso da matriz biocompatível. Em outra modalidade, um aglutinante biocompatível pode estar presente em uma quantidade variando 5 de cerca de 15 por cento em peso a cerca de 35 por cento em peso da matriz biocompatível. Em uma modalidade adicional, um aglutinante biocompatível pode estar presente em uma quantidade de cerca de 20 por cento em peso da matriz biocompatível.

Uma matriz biocompatível compreendendo um material de construção 10 de estrutura óssea e um aglutinante biocompatível, de acordo com algumas modalidades, pode ser escoável, moldável, e/ou extrusável. Em semelhantes modalidades, uma matriz biocompatível pode estar sob a forma de uma pasta ou massa. Uma matriz biocompatível sob a forma de uma pasta ou massa, em uma modalidade, pode compreender partículas de um material 15 de construção de estrutura óssea aderidas umas às outras por um aglutinante biocompatível.

Uma matriz biocompatível em forma pasta ou massa pode ser moldada na forma do implante desejado ou pode ser moldada aos contornos 20 do sítio de implantação. Em uma modalidade, uma matriz biocompatível em forma pasta ou massa pode ser injetada em um sítio de implantação com uma seringa ou cânula.

Em algumas modalidades, uma matriz biocompatível em forma pasta ou massa não endurece e conserva uma forma escoável e moldável subsequente à implantação. Em outras modalidades, uma pasta ou massa 25 pode endurecer subsequente à implantação, deste modo reduzindo a escoabilidade e a moldabilidade da matriz.

Uma matriz biocompatível compreendendo um material de construção 30 de estrutura óssea e um aglutinante biocompatível, em algumas modalidades, também pode ser proporcionada em uma forma predeterminada incluindo um bloco, esfera, ou cilindro ou qualquer forma desejada, por exemplo, uma forma definida por um molde ou um sítio de aplicação.

Uma matriz biocompatível compreendendo um material de cons-

trução de estrutura óssea e um aglutinante biocompatível, em algumas modalidades, é biorreabsorvível. Uma matriz biocompatível, em semelhantes modalidades, pode ser reabsorvida dentro de um ando da implantação *in vivo*. Em outra modalidade, uma matriz biocompatível compreendendo um material de construção de estrutura óssea e um aglutinante biocompatível pode ser reabsorvida dentro de 1, 3, 6, ou 9 meses da implantação *in vivo*. A biorreabsorbabilidade será dependente de: (1) a natureza do material de matriz (isto é, sua composição química, estrutura física e tamanho); (2) a localização dentro do corpo na qual a matriz é colocada; (3) a quantidade de material de matriz que é usado; (4) o estado metabólico do paciente (diabético/não-diabético, osteoporótico, fumante, idade, uso de esteróides, e etc.); (5) a extensão e/ou tipo de lesão tratada; e (6) o uso de outros materiais além da matriz tais como outros fatores ósseos anabólicos, catabólicos e anticatabólicos

15 **Matriz Biocompatível Compreendendo β-TCP e Colágeno**

Em algumas modalidades, uma matriz biocompatível pode compreender um material de construção de estrutura óssea de β-TCP e um aglutinante de colágeno biocompatível. Materiais de construção de estrutura óssea de β-TCP adequados para combinação com um aglutinante de colágeno são consistentes com aqueles proporcionados acima neste relatório.

Um aglutinante de colágeno, em algumas modalidades, pode compreender qualquer tipo de colágeno, incluindo colágenos Tipo I, Tipo II, e Tipo III. O colágeno usado também pode ser reticulado em vários graus. Em uma modalidade, um aglutinante de colágeno compreende uma mistura de colágenos, tal como uma mistura de colágeno Tipo I e Tipo II. Em outras modalidades, um aglutinante de colágeno é solúvel sob condições fisiológicas. Podem ser empregados outros tipos de colágeno presentes em tecidos ósseos ou musculoesqueléticos. Formas de colágeno recombinante, sintético e que ocorre naturalmente podem ser usadas na presente invenção.

30 Uma matriz biocompatível, de acordo com algumas modalidades, pode compreender uma pluralidade de partículas de β-TCP aderidas umas às outras com um aglutinante de colágeno. Em uma modalidade, par-

tículas de β-TCP adequadas para combinação com um aglutinante de colágeno têm um diâmetro médio conforme descrito acima.

Partículas de β-TCP, em algumas modalidades, podem ser aderidas umas às outras pelo aglutinante de colágeno de modo a produzir uma matriz biocompatível tendo uma estrutura porosa. Em algumas modalidades, uma matriz biocompatível compreendendo partículas de β-TCP e um aglutinante de colágeno pode compreender poros tendo diâmetros variando de cerca de 1 µm a cerca de 1 mm. Uma matriz biocompatível compreendendo partículas de β-TCP e um aglutinante de colágeno pode compreender macroporos tendo diâmetros variando de cerca de 100 µm a cerca de 1 mm, mesoporos tendo diâmetros variando de cerca de 10 µm a 100 µm, e microporos tendo diâmetros de menos de cerca de 10 µm.

Uma matriz biocompatível compreendendo partículas de β-TCP e um aglutinante de colágeno pode ter uma porosidade maior do que cerca de 25%. Em outra modalidade, a matriz biocompatível pode ter uma porosidade maior do que cerca de 50%. Em uma modalidade adicional, a matriz biocompatível pode ter uma porosidade maior do que cerca de 90%.

Uma matriz biocompatível compreendendo partículas de β-TCP, em algumas modalidades, pode compreender um aglutinante de colágeno em uma quantidade variando de cerca de 5 por cento em peso a cerca de 50 por cento em peso da matriz. Em outras modalidades, um aglutinante de colágeno pode estar presente em uma quantidade variando de cerca de 10 por cento em peso a cerca de 40 por cento em peso da matriz biocompatível. Em outra modalidade, um aglutinante de colágeno pode estar presente em uma quantidade variando de cerca de 15 por cento em peso a cerca de 35 por cento em peso da matriz biocompatível. Em uma modalidade adicional, um aglutinante de colágeno pode estar presente em uma quantidade de cerca de 20 por cento em peso da matriz biocompatível.

Uma matriz biocompatível compreendendo partículas de β-TCP e um aglutinante de colágeno, de acordo com algumas modalidades, pode ser escoável, moldável, e/ou extrusável. Em modalidades semelhantes, a matriz biocompatível pode estar sob a forma de uma pasta ou massa. Uma

pasta ou massa pode ser moldada na forma do implante desejado ou pode ser moldada aos contornos do sítio de implantação. Em uma modalidade, uma matriz biocompatível em forma de pasta ou massa compreendendo partículas de β-TCP e um aglutinante de colágeno pode ser injetada em um sítio

- 5 de implantação com uma seringa ou cânula.

Em algumas modalidades, uma matriz biocompatível em forma de pasta ou massa compreendendo partículas de β-TCP e um aglutinante de colágeno pode conservar uma forma escoável e moldável quando implantada. Em outras modalidades, a pasta ou massa pode endurecer subsequente 10 à implantação, deste modo reduzido a escoabilidade e a moldabilidade da matriz.

Uma matriz biocompatível compreendendo partículas de β-TCP e um aglutinante de colágeno, em algumas modalidades, pode ser proporcionada em uma forma predeterminada tal como um bloco, esfera, ou cilindro.

Uma matriz biocompatível compreendendo partículas de β-TCP e um aglutinante de colágeno pode ser reabsorvível. Em uma modalidade, uma matriz biocompatível compreendendo partículas de β-TCP e um aglutinante de colágeno pode ser no mínimo 75% reabsorvida um ano subsequente 20 à implantação *in vivo*. Em outra modalidade, uma matriz biocompatível compreendendo partículas de β-TCP e um aglutinante de colágeno pode ser mais de 90% reabsorvida um ano subsequente a implantação *in vivo*.

Uma solução compreendendo PDGF pode ser disposta em uma matriz biocompatível para produzir uma composição para promover aumento 25 ósseo, particularmente do rebordo alveolar vertical de acordo com modalidades da presente invenção.

Membrana Reabsorvível

De modo a melhorar o resultado do tratamento e a previsibilidade de procedimentos de GBR, as complicações encontradas em semelhantes 30 procedimentos devem ser reduzidas ou eliminadas. Um dos resultados negativos observados e mais ameaçadores que podem ocorrer é exposição precoce de membrana com contaminação bacteriana resultando em freqü-

so ou sucesso incompleto do procedimento de GBR (Simion et al., Int. J. Periodontics Restorative Dent. 1994;14(2):166-80, Simion et al., J. Clin Periodontol. 1995;22(4):321-31, Simion et al., Clin. Oral Implants Res. 1997;8(1):23-31). Isto é particularmente evidente ao usar membranas não reabsorvíveis, por exemplo, GORE-TEX®. A principal vantagem em usar estas membranas é a possibilidade de as manter in situ pelo período de tempo necessário para ocorrer o processo de cura. Também podem ser usadas membranas reabsorvíveis feitas, por exemplo, de polímeros naturais ou sintéticos tais como colágeno ou polilactidas e/ou poliglicolídeos. Estas membranas têm a vantagem de serem absorvidas gradualmente com o tempo deste modo eliminando a necessidade de remover cirurgicamente as mesmas. Na presente investigação descrita no Exemplo 1, foram usadas membranas de colágeno. Estas membranas devem ser umedecidas de modo a se adaptar apropriadamente ao sítio cirúrgido. Os resultados no Exemplo 1 não apresentam diferença no aumento ósseo circundando os implantes de titânio entre animais recebendo blocos bovinos com PDGF e animais recebendo blocos bovinos com PDGF e a membrana reabsorvível de colágeno. Por conseguinte, membranas reabsorvíveis podem ser empregadas opcionalmente na prática da presente invenção.

20 **Dispondo Solução de PDGF em uma Matriz Bioconzpatível**

A presente invenção proporciona métodos para produzir composições para uso em procedimentos de aumento ósseo. Em uma modalidade, um método para produzir uma composição para promover a fusão de osso compreende proporcionar uma solução compreendendo PDGF, proporcionar uma matriz biocompatível, e dispor a solução na matriz biocompatível. Soluções de PDGF e matrizes biocompatíveis adequadas para combinação são consistentes com as descritas acima neste relatório.

Em uma modalidade, uma solução de PDGF pode ser disposta em uma matriz biocompatível embebendo a matriz biocompatível na solução de PDGF. Uma solução de PDGF, em outra modalidade, pode ser disposta em uma matriz biocompatível injetando a matriz biocompatível com a solução de PDGF. Em algumas modalidades, injetar uma solução de PDGF po-

de compreender dispor a solução de PDGF em uma seringa e expelir a solução de PDGF na matriz biocompatível para saturar a matriz biocompatível.

A matriz biocompatível, de acordo com algumas modalidades, pode estar em uma forma predeterminada, tal como um tijolo ou cilindro, antes de receber uma solução de PDGF. Subseqüente a receber uma solução de PDGF, a matriz biocompatível pode ter uma forma de pasta ou massa que é escoável, extrusável, e/ou injetável. Em outras modalidades, a matriz biocompatível já pode demonstrar uma forma de pasta ou massa escoável antes de receber uma solução compreendendo PDGF.

10 Composições Compreendendo Adicionalmente Agentes Biologicamente Ativos

Composições para promover e/ou facilitar o aumento ósseo, de acordo com algumas modalidades, podem compreender adicionalmente um ou mais agentes biologicamente ativos além de PDGF. Agentes biologicamente ativos que podem ser incorporados em composições da presente invenção além de PDGF podem compreender moléculas orgânicas, materiais inorgânicos, proteínas, peptídeos, ácidos nucléicos (por exemplo, genes, fragmentos genéticos, seqüências regulatórias genéticas, e moléculas anti-sentido), nucleoproteínas, polissacarídeos (por exemplo, heparina), glicoproteínas, e lipoproteínas. Exemplos não limitantes de compostos biologicamente ativos que podem ser incorporados em composições da presente invenção, incluindo, por exemplo, agentes anticancerígenos, antibióticos, analgésicos, agentes antiinflamatórios, imunossupressores, inibidores enzimáticos, anti-histamínicos, hormônios, relaxantes musculares, prostaglandinas, fatores tróficos, proteínas osteoindutivas, fatores de crescimento, e vacinas, são descritos no Pedido de Patente dos Estados Unidos descrito Nºs de Série 10/965.319 e 11/159.533 (Publicação No: 20060084602). Compostos biologicamente ativos preferenciais que podem ser incorporados em composições da presente invenção incluem fatores osteoindutivos tais como fatores de crescimento semelhantes a insulina, fatores de crescimento de fibroblasto, ou outros PDGFs. De acordo com outras modalidades, compostos biologicamente ativos que podem ser incorporados em composições da presente

invenção preferencialmente incluem fatores osteoindutivos e osteoestimuladores tais como proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs), miméticos de BMP, calcitonina, miméticos de calcitonina, estatinas, derivados de estatinas, ou hormônio paratiroidiano. Fatores preferenciais também incluem inibidores da protease, bem como tratamentos osteoporóticos que reduzem a ressorção óssea incluindo bisfosfonatos, e anticorpos para ativador de receptor de ligante de NF- κ B (RANK) ligante.

Protocolos e regimes de rotina para liberação de agentes biologicamente ativos adicionais são conhecidos na técnica. Agentes biologicamente ativos adicionais podem ser introduzidos em composições da presente invenção em quantidades que permitem a liberação de uma dosagem apropriado do agente para o sítio de implante. Na maioria dos casos, as dosagens são determinadas usando instruções de conhecimento dos profissionais e aplicáveis ao agente em particular em questão. A quantidade de um agente biologicamente ativo adicional a ser incluído em uma composição da presente invenção pode depender de variáveis tais como o tipo e a extensão da condição, do estado de saúde global do paciente em particular, da formulação do agente biologicamente ativo, da cinética de liberação, e a biorreabsorvibilidade da matriz biocompatível. Provas clínicas de rotina podem ser usadas para otimizar a dose e a freqüência de dosagem para qualquer agente biologicamente ativo adicional em particular.

Uma composição para promover aumento ósseo, de acordo com algumas modalidades, pode compreender adicionalmente a adição de outros materiais de enxerto ósseo com PDGF incluindo medula óssea autóloga, extratos plaquetários autólogos, e materiais de matriz óssea sintética.

Métodos para Realizar Procedimentos de Ampliação Óssea

A presente invenção também proporciona métodos para realizar procedimentos de aumento ósseo. Em uma modalidade, um método para realizar um procedimento de aumento ósseo compreende proporcionar uma composição compreendendo uma solução de PDGF disposta em uma matriz biocompatível, e opcionalmente contendo um aglutinante biocompatível, e aplicar a composição a no mínimo um sítio de aumento ósseo desejado. Em

algumas modalidades, um método para realizar um procedimento de aumento ósseo compreende aplicar a composição a no mínimo um sítio de aumento ósseo no maxilar superior ou na mandíbula. Uma composição compreendendo uma solução de PDGF disposta em uma matriz biocompatível, por 5 exemplo, pode ser comprimida um sítio de aumento ósseo desejado no maxilar superior ou na mandíbula. Em outra modalidade, a solução de PDGF é aplicada no sítio de implantação antes, e opcionalmente depois da colocação da composição compreendendo a solução de PDGF disposta na matriz biocompatível dentro do sítio de implantação. Reforçando a deposição de 10 osso no maxilar superior ou na mandíbula, o rebordo alveolar pode ser reforçado de modo a subseqüentemente receber um implante. Os implantes referidos podem ser usados para uma variedade de fins, inclusive como um suporte para um dente ou outro dispositivo dental, ou para várias aplicações orais e maxilofaciais, inclusive cavidades de extração, elevação sinusal, e 15 aumento do rebordo.

Kits

A presente invenção também proporciona um kit compreendendo uma matriz biocompatível em um primeiro recipiente e uma solução compreendendo PDGF em um segundo recipiente o qual pode agir como um 20 meio de dispensação. Em algumas modalidades, a solução compreende uma concentração predeterminada de PDGF. Em algumas modalidades, a concentração de PDGF é consistente com os valores proporcionados aqui, neste requerimento de patente. A concentração do PDGF pode ser predeterminada de acordo com o procedimento cirúrgico sendo realizado. Além disso, em algumas modalidades, a matriz biocompatível pode estar presente no 25 kit em uma quantidade predeterminada. A quantidade de matriz biocompatível proporcionada em um kit pode ser dependente do procedimento cirúrgico sendo realizado. Em algumas modalidades, o segundo pacote contendo a solução de PDGF compreende um meio de dispensação, tal como uma seringa ou um tubo compressível. Uma seringa ou um tubo compressível pode facilitar a disposição da solução de PDGF na matriz biocompatível para aplicação em um sítio cirúrgico, tal como um sítio de aumento ósseo desejado. 30

30

pendendo da aplicação pretendida. A quantidade total de PDGF no segundo recipiente pode ser cerca de 1 ug a cerca de 50 mg, cerca de 10 ug a cerca de 25 mg, cerca de 100 ug a cerca de 10 mg, e cerca de 250 ug a cerca de 5 mg, ou qualquer quantidade específica dentro destas faixas. Em algumas 5 modalidades, PDGF está presente na solução em uma concentração variando de cerca de 0,01 mg/ml a cerca de 10 mg/ml, de cerca de 0,05 mg/ml a cerca de 5 mg/ml, ou de cerca de 0,1 mg/ml a cerca de 1,0 mg/ml ou qualquer concentração específica dentro destas faixas. Em outras modalidades, PDGF está presente na solução em qualquer uma das seguintes concentrações: cerca de 0,05 mg/ml; cerca de 0,1 mg/ml; cerca de 0,15 mg/ml.; cerca 10 de 0,2 mg/ml; cerca de 0,25 mg/ml; cerca de 0,3 mg/ml; cerca de 0,35 mg/ml; cerca de 0,4 mg/ml; cerca de 0,45 mg/ml; cerca de 0,5 mg/ml, cerca de 0,55 mg/ml, cerca de 0,6 mg/ml, cerca de 0,65 mg/ml, cerca de 0,7 mg/ml; cerca de 0,75 mg/ml; cerca de 0,8 mg/ml; cerca de 0,85 mg/ml; cerca 15 de 0,9 mg/ml; cerca de 0,95 mg/ml; ou cerca de 1,0 mg/ml.

Os exemplos seguintes servirão para ilustrar adicionalmente a presente invenção sem, ao mesmo tempo, no entanto, constituir qualquer limitação dos mesmos. Pelo contrário, deve ser claramente entendido que se pode recorrer a várias modalidades, modificações e equivalentes dos mesmos os quais, depois de leitura da descrição aqui, podem ser sugeridos aos versados na técnica sem se afastar do espírito da invenção. O Exemplo 1 descreve um estudo de aumento do rebordo vertical na mandíbula do cão. O Exemplo 2 descreve um estudo de aumento do rebordo vertical no maxilar superior de seres humanos.

25 Exemplo 1

Método de aumento do rebordo vertical em cães usando rhPDGF-BB e um bloco ósseo bovino desproteinizado sozinho ou em combinação com uma membrana reabsorvível

Os principais objetivos deste estudo foram: 1) Avaliar clínica e 30 radiograficamente o potencial de utilizar rhPDGF-BB e um bloco ósseo bovino desproteinizado em combinação com uma membrana reabsorvível em aumento do rebordo vertical; 2) Avaliar clínica e histologicamente o papel de

uma membrana reabsorvível em regeneração óssea mediada por rhPDGF-BB; 3) Avaliar clínica, radiográfica e histologicamente a segurança e a eficácia de usar rhPDGF e um bloco ósseo na ausência de membranas para tratar defeitos ósseos verticais com respeito a biocompatibilidade, osteoconduvidade, osteoindutividade, degradabilidade e substituição; 4) Analisar histologicamente o padrão de cura nos sítios de teste; e, 5) Avaliar o contacto osso para implante (BIC) do osso regenerado sobre duas superfícies de implante diferentes.

Este foi um estudo aberto, prospectivo, controlado usando o método de boca dividida, comparando no mesmo animal, o resultado clínico, radiográfico e histológico em termos de aumento do rebordo vertical em rebordos deficientes alveolares criados artificialmente. Os sítios de teste foram divididos em três grupos distintos, cada um dos quais foi comparado com os outros.

15 Grupo 1: 4 sítios receberam a combinação de um bloco ósseo bovino desproteinizado (Bio-Oss Block, biomateriais Geistlich), rhPDGF-BB (BioMimetic Therapeutics) e uma membrana reabsorvível (Bio-Gide, biomateriais Geistlich) (figura 1).

20 Grupo 2: 4 sítios receberam a combinação de um bloco ósseo bovino desproteinizado e rhPDGF-BB (figura 2).

Grupo 3: 4 sítios receberam a combinação de um bloco ósseo bovino desproteinizado e uma membrana reabsorvível (figura 3).

Além disso, dois implantes de titânio (Nobel Biocare, MKIII, 3,3 X 10 mm) foram inseridos (mesial e distalmente) na linha basal em todos os 25 sítios. Os dois implantes diferiram em características superficiais sendo um Machined e um Ti-Unite. Em 4 meses de pós-operatório, foi extraída uma biópsia dos implantes inseridos com seu tecido vizinho para exame.

Os sítios de teste foram monitorados por meio de avaliação radiográfica no procedimento preliminar, na linha basal, e na cirurgia de recesso.

Randomização animal: De modo a avaliar cada grupo de teste um número igual de vezes com todos os outros grupos, foram aplicadas as

seguintes combinações. Dois cães foram avaliados em cada condição.

Tabela 1

Combinações Testadas nos Animais

CÃO	LADO	
	DIREITO	ESQUERDO
1	T1	T2
2	T1	T2
3	T1	T3
4	T1	T3
5	T2	T3
6	T2	T3

Ti: Bio Block+ PDGF + Bio gide

5 T2: Bio Block + PDGF

T3: Bio Block + Bio gide

Dois cães receberam: T1 vs T2, dois cães receberam: T1 vs T3, e dois cães receberam: T2 vs T3.

10 Critérios de inclusão dos animais: Um total de 6 cães satisfazendo os seguintes critérios de inclusão foram incluídos no estudo: 1) Idade mínima de 8 a 9 meses de modo a ter atingido a maturidade óssea correta; 2) Ausência de dentição primária; e, 3) Peso na linha basal >25 kg.

Procedimentos Experimentais

15 Procedimentos preliminares. Profilaxia oral utilizando instrumentação manual e ultrassônica foi realizada 2 semanas antes da linha basal e 2 semanas antes dos procedimentos experimentais.

As seguintes medições basais foram realizadas depois da anestesia: 1. Fotografias intraorais da área de defeito (opcional); 2. Dimensões mesial-distal, buco-lingual e apico-coronal do defeito ósseo; e, 3. Distância 20 do rebordo do implante à crista óssea quando inserido.

Procedimentos cirúrgicos (B1)

Procedimento Basal; extração de dente e criação do defeito.

Depois de realização de anestesia geral e local, foi realizada

uma avaliação radiográfica. Uma incisão intrasulcular foi traçada na região posterior da mandíbula tanto no lado direito quanto no lado esquerdo depois do primeiro bicúspide até o primeiro molar. Uma incisão de liberação mesial foi traçada mesial ao primeiro bicúspide. Uma incisão de liberação distal foi realizada mesial ao primeiro molar. Uma borda da espessura total foi elevada e os quatro pré-molares foram extraídos. Na mesma área foi criado artificialmente um defeito vertical por meio de brocas de diamante ao longo da região posterior da mandíbula de modo a simular um rebordo alveolar deficiente. O defeito tinha as seguintes dimensões; 30 mm em uma direção distomesial e 7 mm em uma direção ápico-coronal. A altura dependeu da topografia do nervo alveolar inferior. A largura (buco-lingual) foi a largura total da mandíbula e portanto variou um tanto dependendo na largura natural da mandíbula dos animais. As bordas foram suturadas sobre a crista alveolar com suturas de seda 4/0 interrompidas. Aos animais foi administrado controle contra infecção pós-cirúrgica de rotina (Amoxicilina ácido clavulânico 2 gm/diariamente e nimesulida 100 mg a cada 12 horas por três dias). Foi requerido um período de cura de três meses antes da segunda cirurgia.

Segundo Procedimento Cirúrgico / Procedimento de Teste; TI (4 sítios)

Depois de realização de anestesia geral e local, foi realizada uma avaliação radiográfica. Uma incisão crestal foi traçada de mesial para distal, se estendendo distal ao primeiro molar. A borda bucal e lingual/palatal foi elevada espessura total para expor a crista alveolar. Tecido conjuntivo mole excessivo foi descartado. Foram realizadas perfurações corticais com uma broca redonda de diamante de 2 mm de diâmetro para expor os espaços medulares e permitir sangramento. Em seguida foram tomadas medições infra-operativas. rhPDGF-BB (disponível em uma forma líquida) foi adicionado sob succção ao bloco bovino de modo ao bloco se tornar embebido devido a suas características porosas. Isto foi realizado colocando o bloco bovino em uma seringa plástica estéril de 50 ml, contendo o rhPDGF-BB líquido para embeber o bloco permeável sob pressão. O bloco foi deixado na seringa preenchida com rhPDGF por aproximadamente 10 minutos.

Na presente investigação, um bloco ósseo de dimensões 2 cm x 1 cm x 1 cm foi embebido em uma solução de rhPDGF em uma concentração de 0,3 mg/ml sob sucção usando uma seringa de calibre grande. O volume vazio teórico do bloco ósseo foi calculado como 1,56 ml. A saturação real do bloco com uma solução de corante ocorreu a 1,67 ml. Por conseguinte, a quantidade total de rhPDGF no bloco foi cerca de (0,3 mg/ml) (1,67 ml) = 0,501 mg. Durante a cirurgia, estes blocos foram rematados para se ajustar dentro dos defeitos ósseos de modo que o tamanho final pode ter variado por até cerca de 30% quando comparado com o tamanho original.

Na presente investigação, foram usadas membranas de colágeno. Estas membranas devem ser umedecidas de modo a se ajustar adequadamente ao sítio cirúrgico. Neste estudo, as membranas de colágeno foram saturadas com uma solução contendo 0,3 mg/ml de rhPDGF antes da implantação no sítio cirúrgico.

O osso foi então colocado sobre o osso alveolar na área do defeito ósseo residual, e estabilizado por meio de dois implantes de titânio, os quais perfuraram o bloco primeiro e em seguida o osso mandibular cortical. Os dois implantes de titânio (Nobel Biocare, MKIII 3,3 x 10 mm, Machined e Ti Unite) foram inseridos seguindo o protocolo de Branemark de rotina em uma porção distal e mesial permitindo uma distância mínima de 10 mm entre os dois. Em seguida, a membrana reabsorvível (Bio Gide, 30 x 40 mm) embebida na solução de rhPDGF foi adicionada para cobrir os materiais de enchimento e os implantes.

Deve ser entendido que outros meios de fixação podem ser empregados conforme de conhecimento geral de uma pessoa ordinariamente versada na técnica. Em outra modalidade, não são necessários meios de fixação quando o bloco é ajustado por pressão dentro do espaço receptor.

As bordas foram fechadas com suturas de colchão horizontais internas antes das suturas interrompidas para assegurar o fechamento passivo primário do tecido. Se o fechamento não foi realizado sem mobilização adicional da borda bucal, então a borda da espessura plena bucal foi adicionalmente estendida em uma direção apical por uma incisão periosteal. Fo-

ram empregadas suturas 5-0 Gore-Tex. Foram tiradas fotografias bucais e linguais depois do completamento do fechamento da borda além de uma avaliação radiográfica.

Procedimento de Teste; T2 (4 sítios)

5 A técnica cirúrgica empregada foi idêntica à técnica descrita acima (T1) exceto pela omissão da membrana reabsorvível.

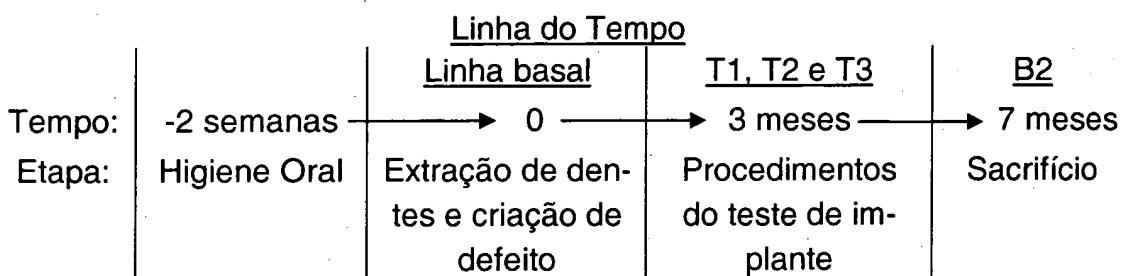
Procedimento de Teste; T3 (4 sítios)

A técnica cirúrgica empregada foi idêntica à técnica descrita acima (T1) exceto pela omissão de rhPDGF-BB.

10 Sacrifício dos animais: (B2)

Os seis animais foram sacrificados 4 meses depois do procedimento cirúrgico de teste (segundo) para permitir que ocorresse o processo de cura. Foram tiradas fotografias bucais e linguais. Procedimento de recesso; biópsia mesio-distais dos sítios de teste e controle; (6 cães). Depois

15 da realização de anestesia geral e local, foi executada uma avaliação radiográfica. Uma seção do bloco preenchido da mandíbula foi tirada, colocada dentro de um recipiente estéril com solução a 10% de formalina e avaliada histologicamente.



20 Resultados

Ambos os grupos recebendo rhPDGF apresentaram melhor cura de tecidos moles e também de tecidos duros comparados com o outro grupo de teste sem rhPDGF. Quantidades clinicamente e radiograficamente significativas de aumento do rebordo vertical foram obtidas em 7 de 8 sítios que
25 receberam PDGF ao passo que somente 1 de 4 sítios teve regeneração óssea significativa na ausência de PDGF. (As Figuras 1 a 3 proporcionam um sumário dos resultados radiográficos obtidos para os três grupos de tratamento.) Os tecidos moles curaram tranquilamente em todos exceto um sítio

que recebeu PDGF. Em contraste, todos exceto um sítio sofreram deiscências de tecidos moles e infecção na ausência de PDGF. A presença da membrana não pareceu melhorar o desfecho. Isto é, PDGF apresentou efeitos benéficos mesmo na ausência de uma membrana. Portanto, o uso de
5 PDGF parece eliminar a necessidade de realizar GBR.

A combinação de rhPDGF e o bloco ósseo desproteinizado e a presença ou ausência de uma membrana reabsorvível é útil para tratar defeitos no osso, particularmente na mandíbula ou no maxilar superior, e proporciona um meio para aumentar o rebordo vertical para inserção de implantes
10 metálicos.

Exemplo 2

Elevação Sinusal para Estimular Formação Óssea em um Defeito Ósseo do Maxilar

O objetivo deste estudo foi avaliar a utilidade clínica de rhPDGF-BB em combinação com β -TCP ou outras matrizes de enchimento de vazio ósseo aprovado, para vazios ou fendas no maxilar superior ou na mandíbula que não são intrínsecos para a estabilidade da estrutura óssea de acordo com a prática clínica de rotina a qual incluiu o uso de materiais de aumento ósseo auxiliares.
15

20 Dosagem e Método de Administração: Todos os kits de tratamento continham 0,25 gm de β -TCP (tamanho de partícula de 250 a 1000 micra) e 0,5 mL de solução de tampão de acetato de sódio contendo ou 0,3 mg/mL de rhPDGF-BB (Grupo I), ou 1,0 mg/mL de rhPDGF-BB (Grupo II). Depois de preparação apropriada do sítio cirúrgico, para receber a matriz
25 reforçada de PDGF, a solução foi misturada com o β -TCP ou outro um ou mais enchimentos de vazio ósseo aprovados em um recipiente estéril, de tal modo que o material de enxerto foi totalmente saturado. O enxerto hidratado foi cuidadosamente comprimido dentro do defeito ósseo. Em alguns casos o defeito preenchido foi coberto com uma membrana de barreira de colágeno
30 reabsorvível conforme realizado comumente com cirurgias periodontais. As bordas de tecido foram em seguida repostas e fixadas com suturas interdentais para realizar completa cobertura do cirúrgico sítio.

Sumário de Resultados da Segurança: Não houve eventos adversos relacionados com o dispositivo ou eventos adversos graves experimentados durante o estudo. Um indivíduo foi descontinuado do estudo devido a não obediência. Nenhum indivíduo descontinuou a participação no estudo devido a um evento adverso. A análise da segurança não identificou qualquer risco de segurança aumentada para qualquer concentração de rhPDGF-BB com quaisquer das matrizes aprovadas.

Sumário de Resultados de Desempenho: Os desfechos de eficácia e segurança da terapia *GEM 21S* foram confirmados pelas avaliações da utilidade clínica pelos pesquisadores. Foi vista melhora no nível de fixação clínica, na profundidade da sondagem periodontal (PD) e no preenchimento ósseo (> 3 mm) em ambos os grupos de tratamento em 6 meses depois da cirurgia periodontal. Os resultados do estudo mostraram que 100% dos pacientes em ambos os grupos de tratamento rhPDGF-BB apresentaram um desfecho "excelente". Em resumo, foi demonstrado que rhPDGF-BB em combinação com matrizes de preenchimento de vazios ósseos aprovadas atinge eficácia clínica e radiográfica em pacientes seis meses depois da cirurgia para o tratamento de todos os tipos de defeitos, inclusive: defeitos ósseos periodontais, altura deficiente do rebordo alveolar do maxilar superior, defeitos ósseos associados com implantes e cavidades de extração. O uso de materiais de enxertiação óssea auxiliares não alterou os benefícios do dispositivo de rhPDGF + β-TCP (também denominado *GEM 21S* (Biomimetic Therapeutics, Inc., Franklin, TN).

Conclusões: Conclui-se a partir deste estudo que rhPDGF-BB em combinação com β-TCP ou outras matrizes de enchimento de vazio ósseo aprovadas, para vazios ou fendas no maxilar superior ou mandíbula que não são intrínseca à estabilidade da estrutura óssea é uma modalidade de tratamento segura e clinicamente benéfica para várias aplicações orais e maxilofaciais, incluindo cavidades de extração, elevação sinusal, e aumento do rebordo.

Discussão e Conclusões Globais: foi demonstrado que rhPDGF-BB (0,3 ou 1,0 mg/ml) em combinação com β-TCP é seguro e clinicamente

útil nesta estudo clínico cego de formação em ponte (séries de casos) em indivíduos com defeitos ósseos gerais. O benefício clínico das modalidades de tratamento foi observado em todos os tipos de defeitos, incluindo um, dois e três defeitos de parede, bem como defeitos circunferenciais. Além 5 disso, foi demonstrado que os materiais usados no estudo são clinicamente úteis em cavidades de extração, elevações sinusais, aumento dos rebordos, e defeitos peri-implante. Os resultados do estudo demonstraram que rhPDGF-BB (0,3 ou 1,0 mg/ml) em combinação com β -TCP regenerou osso 10 e tecido mole no tratamento de defeitos ósseos periodontais, elevação sinusal, implante e cavidade de extração. Não houve eventos adversos atribuíveis ao dispositivo do estudo e o dispositivo foi considerado seguro.

Concluiu-se a partir deste estudo que rhPDGF-BB (0,3 ou 1,0 mg/ml) em combinação com β -TCP é uma modalidade de tratamento segura 15 e clinicamente benéfica para uma ampla gama de aplicações orais e maxilofaciais, incluindo cavidades de extração, elevação sinusal, e aumento do rebordo. Além disso foi demonstrado que rhPDGF-BB (0,3 ou 1,0 mg/ml) é compatível com materiais de enxertia tais como xenoenxertos, aloenxertos, e/ou membranas de regeneração tecidual orientada (GTR) biorreabsorvíveis.

20 Estudos de Elevação Sinusal

O indivíduo 10-06 foi tratado para altura insuficiente do rebordo alveolar com um procedimento de aumento sinusal no maxilar superior posterior esquerdo. Foi utilizada uma abordagem de janela lateral para colocar o enxerto de 0,3 mg/ml de rhPDGF-BB em aloenxerto (FDBA) e xenoenxerto 25 (material particulado BioOss) de osso secado por congelamento. Depois da colocação do enxerto, uma membrana de barreira de colágeno foi colocada sobre a janela de acesso lateral. A borda de tecidos moles foi fechada primariamente com suturas e a contenção da medicação do estudo dentro do sítio de tratamento, e o fechamento dos tecidos moles, foram classificados como 30 excelentes pelo pesquisador. A cura dos tecidos moles foi classificada como excelente em todas as visitas de seguimento. As suturas foram removidas uma semana depois da cirurgia. Radiografias obtidas em 2 e 6 meses depois

da cirurgia demonstraram cura normal sem sinal de patologia. Adicionalmente, a avaliação histológica de uma amostra de núcleo ósseo obtida 6 meses depois da cirurgia, por ocasião da cirurgia de implante demonstrou partículas de enxerto em osso novo com osteóide extensivo e osso novo ligando em ponte as partículas de enxerto. Aos 6 meses depois da cirurgia, a avaliação da utilidade clínica do desfecho do tratamento foi classificada pelo pesquisador como excelente para eficácia, segurança e avaliação global; a aceitação do paciente e a obediência do paciente foram classificadas como boas.

O indivíduo 10-09 foi tratado para altura insuficiente do rebordo alveolar (bilateral) no maxilar superior posterior. O tratamento consistiu de um aumento do piso sinusal com 0,3 mg/ml de rhPDGF-BB em FDBA e xenoenxerto. Antes do fechamento da borda uma membrana de barreira de colágeno foi colocada sobre a "janela" sinusal. A contenção da medicação do estudo dentro da lesão e o fechamento dos tecidos moles foram classificadas como excelentes pelo pesquisador. A cura dos tecidos moles foi classificada inicialmente como boa e em seguida excelente a partir de um mês depois da cirurgia durante todo o período de observação de seis meses. As suturas foram removidas em 2 semanas depois da cirurgia. Foi obtida uma radiografia imediatamente depois da cirurgia e 3 meses depois da cirurgia para o lado esquerdo e demonstrou aumento da altura óssea vertical do piso sinusal. Este indivíduo deixou de comparecer às Visitas de seguimento 6 e 7 (18 e 24 semanas depois da cirurgia) e não completou o estudo; portanto a avaliação da utilidade clínica do desfecho do tratamento não foi classificada.

O indivíduo 10-05 se apresentou para tratamento de insuficiente altura óssea vertical (quase pneumatização do seio) no maxilar superior posterior. O tratamento consistiu de um procedimento de aumento sinusal utilizando uma abordagem sinusal lateral. O rebordo deficiente foi aumentado com 1,0 mg/ml de rhPDGF-BB em FDBA e xenoenxerto. A janela lateral foi coberta, antes do fechamento da borda, com uma membrana de barreira de colágeno. A contenção da medicação do estudo dentro da lesão foi classificada como excelente e o fechamento dos tecidos moles foi classificado como bom pelo pesquisador. A cura dos tecidos moles foi classificada como

excelente nas visitas de seguimento exceto na visita 3 a qual foi classificada como boa. As suturas foram removidas em 1 e 3 semanas depois da cirurgia. Radiografias obtidas em 3, 4, e 6 meses depois da cirurgia demonstraram aumento da altura vertical do piso sinusal sem sinal de patologia. Adicionalmente, foi observado aumento da trabeculação óssea dentro do sítio enxertado e pode ser indicativo de maturação óssea dentro da região enxertada. Núcleos ósseos obtidos a partir do sítio enxertado por ocasião da cirurgia de implante revelam extensiva formação de osso novo por todo o sítio com partículas de enxerto circundadas por osso novo e osteóide. A ligação em ponte das partículas por osso e/ou osteóide também foi observada por todo o sítio aumentado. Seis meses depois da cirurgia, a avaliação da utilidade clínica do desfecho do tratamento foi classificada como excelente para eficácia, segurança, aceitação do paciente e avaliação global; a obediência do paciente foi classificada como boa.

Todas as patentes, publicações e resumos citados acima são incorporados aqui, por meio de referência em sua totalidade. Deve ser entendido que o precedente se refere somente a modalidades preferenciais da presente invenção e que numerosas modificações ou alterações podem ser feitas na mesma sem se afastar do espírito e do âmbito da presente invenção conforme definido nas seguintes reivindicações.

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de uma matriz biocompatível, caracterizado pelo fato de ser para produção de uma composição para aumento ósseo em um sítio desejado em um indivíduo; em que a matriz biocompatível (i) consiste em um fosfato de cálcio poroso tendo incorporado no mesmo uma solução consistindo em fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) em um tampão, (ii) consiste em colágeno e em um fosfato de cálcio poroso tendo incorporado no mesmo uma solução consistindo em PDGF em um tampão, (iii) consiste em um aloenxerto tendo incorporado no mesmo uma solução consistindo em PDGF em um tampão, ou (iv) consiste em colágeno e em um aloenxerto tendo incorporado no mesmo uma solução consistindo em PDGF em um tampão; e em que o fosfato de cálcio ou aloenxerto compreende poros interconectados.

2. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o sítio é um sítio maxilofacial e um osso maxilofacial é aumentado.

3. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 e 2, caracterizado pelo fato de que o sítio maxilofacial é uma crista alveolar, um defeito ósseo, uma parede do seio maxilar, uma cavidade de extração, um sítio localizado em uma maxila, ou um sítio localizado em uma mandíbula.

4. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que solução consiste em PDGF à uma concentração selecionada de um grupo que consiste em: cerca de 0,01 mg/ml a cerca de 10 mg/ml, cerca de 0,05 mg/ml a cerca de 5 mg/ml, cerca de 0,1 mg/ml a cerca de 1 mg/ml e cerca de 0,3 mg/ml.

5. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que o fosfato de cálcio ou aloenxerto consiste em partículas em uma variação de tamanho selecionada do grupo que consiste em: cerca de 1 micron a cerca de 5000 microns, cerca de 100 microns a cerca de 300 microns, cerca de 250 microns a cerca de 1000 microns e cerca de 1000 microns a cerca de 2000 microns.

6. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que o fosfato de cálcio ou aloenxerto é reabsorvi-

vel tal que pelo menos 75% do fosfato de cálcio ou aloenxerto é reabsorvido um ano após ser implantado.

7. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que o fosfato de cálcio ou aloenxerto tem uma 5 porosidade maior do que 25% ou maior do que 50%.

8. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que o fosfato de cálcio ou aloenxerto tem macro-porosidade.

9. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, 10 caracterizado pelo fato de que o fosfato de cálcio é β -tricálcio fosfato .

10. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de que o PDGF recombinante é PDGF-BB humano recombinante.

11. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, 15 caracterizado pelo fato de que o PDGF é um homodímero de PDGF, um heterodímero de PDGF, PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC, PDGF-DD, ou misturas ou derivados dos mesmos.

12. Kit para uso no uso como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que compreende um primeiro 20 recipiente compreendendo uma matriz biocompatível, um segundo recipiente compreendendo um fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), e instruções para usar o kit para aumento ósseo em um indivíduo; em que a matriz biocompatível (i) consiste em um fosfato de cálcio poroso tendo incorporado no mesmo uma solução consistindo em PDGF em um tampão, (ii) 25 consiste em colágeno e em um fosfato de cálcio poroso tendo incorporado no mesmo uma solução consistindo em PDGF em um tampão, (iii) consiste em um aloenxerto tendo incorporado no mesmo uma solução consistindo em PDGF em um tampão, ou (iv) consiste em colágeno e em um aloenxerto tendo incorporado no mesmo uma solução consistindo em PDGF em um 30 tampão; e em que o fosfato de cálcio ou aloenxerto compreende poros interconectados.

13. Kit de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato

de que compreende adicionalmente um terceiro recipiente compreendendo uma membrana biorreabsorvível.

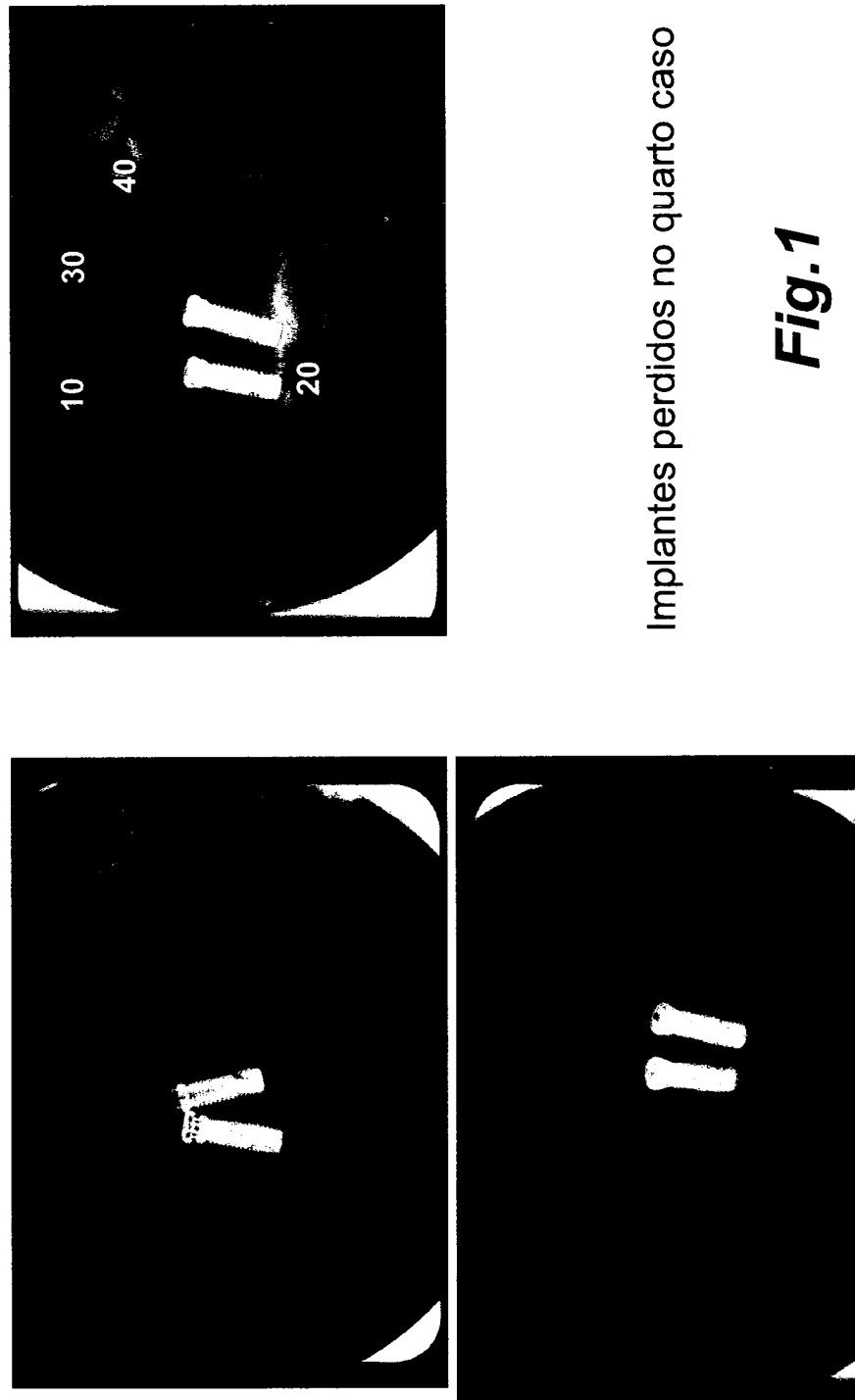
14. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 12 e 13, caracterizado pelo fato de que compreende adicionalmente um bifosfonato.

5 15. Uso, caracterizado pelo fato de que compreende uma solução de PDGF e uma matriz biocompatível para aumento do osso maxilofacial em um sítio desejado.

16. Composição para aumento ósseo, especialmente para aumento do osso maxilofacial, caracterizada pelo fato de que compreende fator 10 de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) tal como fator de crescimento derivado de plaquetas humanas recombinante(rhPDGF), uma matriz biocompatível e, opcionalmente, uma membrana reabsorvível.

Resultados Radiográficos

Bloco e Membrana



1/3

Implantes perdidos no quarto caso

Fig. 1

Resultados Radiográficos

Bloco e PDGF

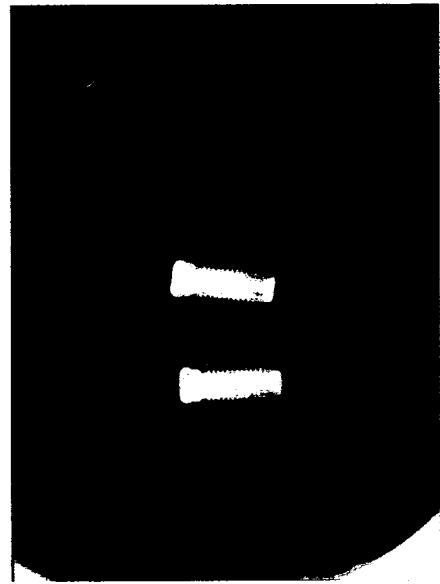
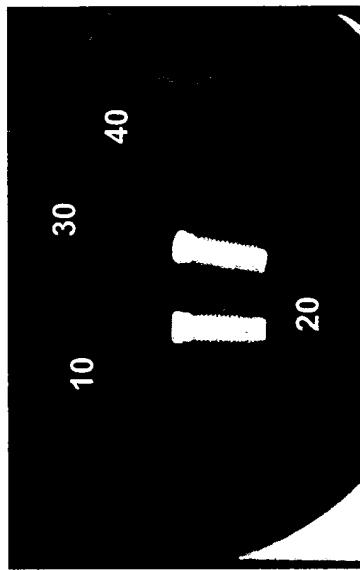


Fig.2

Resultados Radiográficos

Bloco, PDGF e Membrana

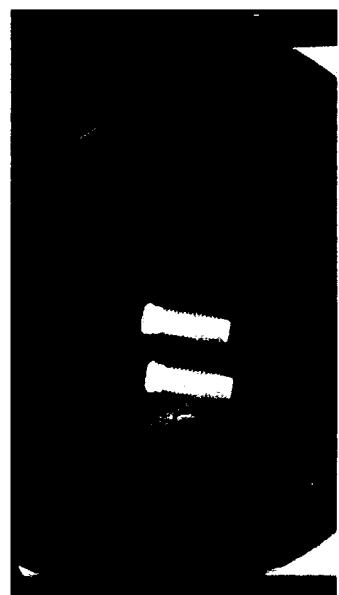
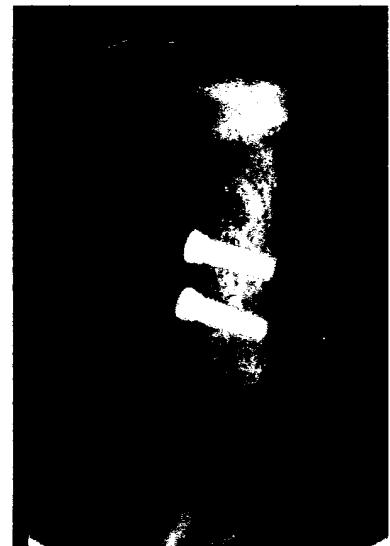
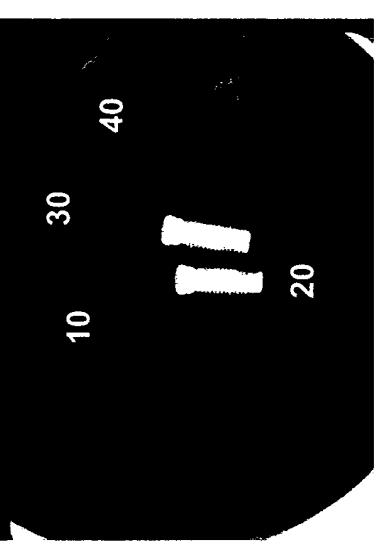


Fig. 3

RESUMO

Patente de Invenção: "**USO DE UMA MATRIZ BIOCOMPATÍVEL, KIT E COMPOSIÇÃO PARA AUMENTO ÓSSEO, ESPECIALMENTE PARA AUMENTO DO OSSO MAXILOFACIAL**".

5 A presente invenção refere-se a novos métodos e usos eficazes para composições para aumento ósseo maxilofacial, particularmente aumento do rebordo alveolar, que são livres de problemas associados com os métodos da técnica anterior. Em uma modalidade, estes materiais incluem fator de crescimento derivado de plaquetas recombinante humano (rhPDGF-BB) e
10 uma matriz biocompatível. Em outra modalidade, estes materiais incluem rhPDGF-BB, um bloco ósseo desproteinizado ou fosfato de cálcio, e uma membrana biorreabsorvível. O uso destes materiais no presente método é eficaz na regeneração de ossos maxilofaciais e para facilitar a realização de implantes osseointegrados estáveis. A mandíbula e o maxilar superior são
15 ossos preferenciais para aumento, e o aumento do rebordo alveolar é uma modalidade preferencial da presente invenção.