

Clarke, Modet & Cº

COLOMBIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-037516- -00010-0000

Fecha: 2013-10-21 14:26:15 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO
Act. 523 RESPUESTA Folios: 41

P-2583

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
E. S. D.

Re: Expediente No. **11.037.516**

Solicitud de patente a nombre de **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE**

Yo, SILVANA MARIA LOPEZ DIAZ, identificada como aparece al pie de mi firma, obrando como apoderada sustituta de acuerdo con la sustitución presentada el 3 de septiembre de 2013 y domiciliada en la carrera 11 A No. 86-53, piso 6, obrando como apoderada de la **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE** domiciliada en Cali, Colombia, solicitante de la patente de la referencia, en respuesta al oficio No. **10258** notificado por fijación en lista el 18 de junio de 2013, me permito manifestar:

Con fundamento en la facultad que confiere el artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, presento junto con este memorial de nuevo el capítulo reivindicatorio donde se realizó la siguiente modificación:

Se eliminó la expresión de la reivindicación 1 relacionada con el tiempo de endurecimiento del material.

En este sentido, atentamente manifestamos que la modificación realizada no implica de ninguna manera ampliación del alcance originalmente presentado en la solicitud en estudio.

No se presenta tasa por reivindicaciones adicionales toda vez que el nuevo pliego reivindicatorio corresponde al mismo inicialmente presentado y tiene menos de 10 cláusulas.

2. Claridad

El señor examinador indica que la reivindicación 1 no es clara dado que la expresión “con un endurecimiento de 7 a 15 minutos que estimulan la formación y el aumento de volumen óseo” se considera como un resultado a alcanzar.

Sobre este particular es importante señalar que el solicitante no se encuentra de acuerdo con esta opinión dado que el tiempo de fraguado del Biocompuesto cerámica de la invención es una característica del comportamiento del material

1/41

reclamado en la presente invención. De hecho, la expresión objetada se encuentra en el preámbulo de la reivindicación. No obstante lo anterior y en aras de agilizar el proceso de patentamiento, el solicitante acepta eliminar dicha expresión de la reivindicación 1.

Nos permitimos decir que con el nuevo capítulo reivindicatorio se supera la única objeción de claridad indicada por el señor examinador.

3. Nivel Inventivo

El señor examinador indica que la presente invención carecería de altura inventiva en vista de los documentos D1 (EP0329098) y D2 (US 2011/00004219).

Sobre este particular, en el concepto técnico se indica que estas dos anterioridades son el estado del arte más próximo a la presente invención y que existen diferencias entre la materia objeto y los dos documentos pero que no se evidencia un efecto técnico en la presente solicitud dado que la solución propuesta por la invención en estudio, de acuerdo con la opinión del señor examinador, posee las mismas características de endurecimiento reportadas en D1.

En este sentido, es importante señalar que D1, como bien lo indica el señor examinador no indica ni sugiere la presencia de beta-fosfato tricálcico dentro de la composición ni mucho menos el rango de porcentajes tan específico del 92% al 96% en relación con el peso de la fase sólida total como sí se indica en la presente invención.

De hecho, el documento D1 enseña que la composición susceptible de endurecimiento resulta de la combinación de solución acuosa acidulada de quitosano junto con hidroxipatita, óxido de zinc y opcionalmente en presencia de óxido de magnesio (por favor véase líneas 24 y 25 de la página 2 de D1). No obstante, D1 falla en enseñar o sugerir la presencia de beta-fosfato tricálcico como elemento fundamental de una mezcla de tres componentes como la enseñada en la presente invención que se mezcla luego con gel de quitosano.

Aunado a lo anterior, también es necesario señalar que D1 no enseña ni reporta cuál sería la procedencia de la Hidroxipatita. De hecho, esta anterioridad tan solo indica que la Hidroxipatita puede ser conseguida comercialmente; lo cual da dos posibilidades, o su origen es sintético lo que la hace no reabsorbible, o animal lo que lleva a que no pueda ser comparable con el biocompuesto cerámico que es totalmente sintético. De hecho, los desarrollos del producto reportado en D1, *Hardenable composition*, llevaron a que el inventor y el solicitante de dicha patente



incorporaran como origen de la Hidroxiapatita el hueso de ternera, como es claro en los documento (EP 0329098 B1) registrado en Japón, y los documentos DE68915020D1, DE68915020T2, EP0329098A2, y EP0329098A3, y US6214048 Presentados en Europa y Estados Unidos, respectivamente.

En ese orden de ideas, es necesario hacer énfasis que el documento US6214048 se encuentra dirigido a una pasta endurecible, con los mismos componentes y usos de la referencia D1, en donde la única diferencia es que en la patente Estadounidense ya se especifica que el origen de la Hidroxiapatita es a partir de huesos de **ternera** (<http://www.google.nl/patents/US6214048>). Así las cosas, si una persona medianamente versada en la materia tuviera algún interés en el documento D1 e hiciera el seguimiento de los documentos relacionados con dicha patente, encontraría que la fuente de fosfato sugerida y reportada siempre es de origen animal, lo cual evidentemente no es objeto de la presente invención. Por tanto, queda claro que D1 se aleja de las enseñanzas de la solicitud en estudio.

Ahora bien, en gracia de discusión, si una persona medianamente versada en la materia técnica de alguna manera se viera motivada por D1- *que no enseña para nada ni el reemplazo de hidroxiapatita por beta-fosfato tricálcico*- para incluir dentro de la formulación de D1 proporciones específicas de óxido de zinc y óxido de calcio junto con quitosano, no encontraría nada en D2 para llegar de manera evidente al Biocompuesto cerámico de la presente invención, dado que D2 también hace alusión a la participación de composiciones que contienen hueso autólogo.

Así las cosas, la combinación arbitraria de D1 con D2 daría como resultado un material **no reabsorbible** (si presumimos que para el momento en que se desarrolló el producto original de D1, este fuera sintético), y por lo tanto sin ninguna capacidad para permitir regeneración ósea.

En este orden de ideas, es importante aclarar que las diferencias entre Hidroxiapatita y el Fosfato tricálcico con relación a la tasa de reabsorción y formación ósea son muy claras en la literatura científica, y se deben a la muy poca reabsorción de la primera lo que hace que sea utilizada más como relleno que como sustituto óseo: Lichte P. et al. 2011 (Anexo 1)

Aunado a lo anterior, es importante indicar que como **aspectos adicionales** de la invención el documento D2 enseña que se pueden **combinar** las composiciones **óseas** con un composición como por ejemplo composiciones en gel que proporcionen una red de pasadizos en la composición mediante los cuales el oxígeno y otros nutrientes puedan alcanzar las partículas óseas presentes en el interior de la composición. (véase por favor el párrafo 32 de D2). Es más, D2 indica y sugiere que el quitosano y manitol constituyen estructuras

formadoras de redes, pero no indica que dichas redes puedan susceptibles de formar o promover la formación ósea.

En este orden de ideas, es importante hacer énfasis sobre el hecho que D2 no indica o sugiere una relación específica de elementos de la mezcla sólida como la proporción reclamada en la presente invención en donde fundamentalmente el objetivo del diseño experimental fue llegar a una formulación que permitiera obtener un producto que cumpliera con unos requisitos físicos, químicos, biológicos y clínicos (pH, temperatura de fraguado, resistencia, porosidad, degradabilidades, moldeabilidad, cohesión, etc.), que en conjunto no se encontraban, (ni se encuentran) en otros productos con composición similar; pero que además tuviera la característica de ser osteopromotor, ya que todos los fosfatos de calcio son solo osteoconductores como esta reseñado en la literatura científica, (Litch et al. 2008, Tatay et al. 2008), y como mostramos más adelante a partir de la clasificación propuesta por la asociación americana de cirujanos ortopedistas (AAOS 2006).

Adicionalmente, el señor examinador podrá notar que la anterioridad (D1) se encuentra dirigida a composiciones que emplean Hidroxiapatita, lo cual crea una diferencia sustancial con respecto al biocompuesto cerámico de la composición de la presente invención que es totalmente reabsorbible. En este sentido, una persona medianamente versada en la materia no encontraría motivación alguna en D2 para reemplazar la hidroxiapatita con beta-fosfato tricálcico dentro de la composición de D1 ni mucho menos el rango de porcentajes tan específico del 92% al 96% en relación con el peso de la fase sólida total, dado que D2 enseña que se combinan los reactivos secos con una composición ósea autologa (Autoinjertos) allí enseñada con compuestos de origen sintético. De hecho, dicha persona no esperaría que con lo enseñado en D1 y D2 se lograra un Biocompuesto osteopromotor como el material de la presente invención, dado que una combinación de lo reportado en dichas anterioridades obtendría solo un material que al no ser completamente reabsorbible solo se podría utilizar como relleno y nunca como sustituto óseo.

En cuanto a la presencia de beta-fosfato tricálcico, resulta pertinente señalar que D2 menciona este compuesto dentro de una lista de varios compuestos como fuentes de fosfato de calcio, sin hacer ningún hincapié en cuanto a que el compuesto beta-fosfato tricalcico pudiera ser la mejor opción allí reportada. De hecho, la enseñanza predominante en D2 no radica en las diferentes fuentes de calcio, sino en la presencia de hueso autologo que como se sabía en la técnica anterior es la opción principal en materia de injertos. Aún más, hay que señalar que los sustitutos óseos nacen como alternativa a los injertos autologos debido a los problemas de disponibilidad, costos y morbilidad del sitio donante, como se puede corroborar en el artículo de Tatay et al. 2008; Zarate & Reyes 2006.



En ese orden de ideas, respetuosamente nos permitimos decir que sería necesario examinar el biocompuesto cerámico con productos similares en el estado del arte y no con compuestos que tienen Hidroxiapatita (D1), la cual presenta estructura química diferente al fosfato tricalcico, y por ende propiedades físicas y biológicas diferentes, (entre ellas el no ser reabsorbible); y mucho menos con un compuesto como el reportado en D2 que al tener hueso autologo no se considera un sustituto óseo sino un material de injerto; cuando de hecho la presente invención propone un biocompuesto (sustituto óseo) como alternativa a este tipo de materiales por los problemas de disponibilidad y morbilidad que se derivan del injerto óseo autologo.

Sobre este particular, se dirige la atención del señor examinador sobre el hecho que la *American Academy of orthopaedic surgeons*, en el año 2006, publicó una tabla con los sustitutos óseos más utilizados, (AAOS 2006), de la cual extractamos los productos que se basan en fosfatos de calcio, y donde a manera de ejercicio incluimos en la última fila, el biocompuesto cerámico de la invención. Esta tabla está más relacionada con el estado del arte en el momento en que se diseñó el biocompuesto cerámico (2007 – 2008), y con lo que existe actualmente.

La revisión muestra que todos los productos originados a partir de fosfatos de calcio son osteoconductores, y podrían volverse osteoinductores si se les agrega factores de crecimiento, o medula ósea.

La cualidad de osteoinducción es muy importante porque permite la regeneración ósea en defectos de tamaño critico; los materiales osteoconductores funcionan bien en defectos pequeños (no críticos) pero son incapaces de estimular la cicatrización en defectos grandes a no ser que se les incorpore factores de crecimiento(AAOS, 2006; Lichte 2011).

El biocompuesto cerámico de la presente invención ha mostrado capacidad para estimular regeneración ósea en defectos de tamaño critico en dos Biomodelos diferentes, pero no decimos que tiene cualidad osteoinductora básicamente porque por convención tomamos como materiales osteoinductores al hueso autologo fresco y a los que se les incorporan factores de crecimiento (Lichte 2011; Tatay et al. 2008; Zarate & Reyes 2006), por esta razón preferimos hablar de osteopromoción.

TABLA DE PRODUCTOS						
Compañía	Producto Comercialmente disponible	composic ióni	Formas comercialmente disponibles	Mecanismo de acción reclamado	Cargas de pruebas	FDA status
DePuy Spine	CONDUIT® TCP Granules	100% β-TCP	Granules	• Osteocondu ction • Bioresorbab le	• Case reports • Animal studies	510(k) cleared • Bone Void Filler
Exactech	OpteMx™	HA/TCP biphasic Combinat ion	Granules, sticks, rounded wedges, wedges and cylinders in several sizes	• Osteocondu ction • Bioresorbab le • Compressiv e strength of 400psi • Osteogenesi s and limited osteoinducti on when mixed with bone marrow aspirate	• Human studies • Case reports • Animal studies	510(k) cleared • Bone Void Filler
Integra Orthobiologics/ (IsoTis OrthoBiologics)	Integra Mozaik™	80% highly purified b-TCP/ 20% highly purified Type-I collagen	Strip and putty	• Osteocondu ction • Bioresorbab le	• Human studies • Case reports • Animal studies	510(k) cleared Extremities, Pelvis, Spine • Bone Void Filler
Medtronic Spinal & Biologics	MasterGraft® Granules	Biphasic calcium phosphat e (15% HA / 85% b-TCP)	Granules	• Osteocondu ction • Bioresorbab le	• Animal studies • Case reports	510(k) cleared • Bone Void Filler
	MasterGraft® Matrix	Biphasic calcium phosphat e and collagen	Compression resistant block	• Osteocondu ction • Bioresorbab le	• Animal studies • Case reports	510(k) cleared • Bone Void Filler: Must be used with autogen ous bone marrow

Medtronic Spinal & Biologics	MasterGraft® Putty	Biphasic calcium phosphate and collagen	Moldable putty	• Osteoconduction • Bioresorbable	• Animal studies	510(k) cleared • Bone Graft Extender: Must be used with autograft • Bone Void Filler: Must be used with autogenous bone marrow and/or autograft and/or sterile water
	MasterGraft® Strip	Biphasic calcium phosphate (15% HA and 85% b-TCP) and collagen	Compression resistant strip	• Osteoconduction • Bioresorbable	• Animal studies	510(k) cleared • Bone Void Filler: Must be used with autogenous bone marrow
Orthovita	Vitoss®	100% b-TCP and 80% b-TCP/20%collagen and 70% b-TCP/20% collagen/10% bioactive glass	Putty, strip, flow, morsels and shapes	• Osteoconduction • Bioresorbable • Bioactive/osteostimulation • Osteogenesis and osteoinduction when mixed with bone marrow aspirate	• Published human studies (Level I and III) • Case reports • Animal studies	510(k) cleared • Bone Void Filler
Synthes	chronOS®	b-TCP	Granules, blocks and wedges	• Osteoconduction • Bioresorbable	• Animal studies	510(k) cleared • Bone Void Filler
	Norian® SRS®	Calcium phosphate	Injectable paste	• Osteoconduction • Bioresorbable	• Human studies • Case reports • Animal studies	510(k) cleared • Bone Void Filler
	Norian® SRS® Fast Set Putty	Calcium phosphate	Moldable putty	• Osteoconduction • Bioresorbable	• Human studies • Case reports • Animal studies	510(k) cleared • Bone Void Filler
Wright Medical Technology	CELLPLEX®	b-TCP	Various sized granules	• Osteoconduction	• Case reports • Animal studies	510(k) cleared • Bone Void

7

				Bioresorbable		Filler
	PRO-DENSE® Injectable Regenerative Graft	75% calcium sulfate and 25% calcium phosphate	Procedure Kits, various volumes of injectable paste	• Osteoconduction • Bioresorbable • Dense bone regeneration	• Human studies • Case reports • Animal studies	510(k) cleared • Bone Void Filler
	PRO-STIM Injectable Inductive Graft	50% calcium sulfate, 10% calcium phosphate, and 40% DBM by weight	Procedure Kits, various volumes of injectable paste/ formable putty	• Osteoconduction • Bioresorbable • Osteoinduction	• Case reports • Animal studies	510(k) cleared • Resorbable calcium salt bone void filler device
Zimmer	CopiOs® Bone Void Filler	Dibasic calcium phosphate and Type-I collagen	Sponge and paste	• Osteoconduction • Accelerated healing vs. autograft • Bioresorbable • Osteogenesis and osteoinduction when mixed with bone marrow aspirate	• Case reports • Animal studies	510(k) cleared • Bone Void Filler: Must be used with autologous blood products like blood or bone marrow
por definir	BIOCOMPOSITTE	Calcium phosphate Óxido de Calcio Óxido de Zinc Chitossan	Puty, Flow, Paste	• Osteoconduction • Bioresorbable • Osteopromotion	• Animal studies • Human studies	

Adicionalmente, es deseo del solicitante poner en consideración del señor examinador un estudio realizado donde se muestra cómo el Biocompuesto de la presente invención muestra ventajas en relación con la capacidad de promoción ósea en defectos de difícil cicatrización en un modelo animal, en donde se evidencia que con el Biocompuesto de la invención aplicado en defectos de tamaño crítico se logra una regeneración ósea caracterizada por presencia de fibra reticular (colágeno tipo III), colágena tipo I, restablecimiento de red vascular, formación de espículas óseas, integración con hueso periférico y restablecimiento de periostio. (ver anexo 2: *Evaluación del efecto sobre la cicatrización endo-ósea de un biocompuesto cerámico implantado en un defecto de tamaño crítico en el hueso parietal de ratas Wistar*)

Así las cosas, nos permitimos manifestar que la presente invención cumple a cabalidad con los requisitos de patentabilidad, principalmente con el de altura inventiva dado que para una persona medianamente versada en la materia técnica, correspondiente, no hubiera sido evidente llegar al Biocompuesto cerámico de la invención a partir de sus conocimientos básicos en combinación con las enseñanzas de D1 y D2, tomados bien sea de manera independiente o en combinación, dado que no sería evidente para una persona medianamente versada en la materia que agregando fosfato tricalcico al producto D1 se consiguiera tiempos de endurecimiento y la moldeabilidad como los obtenidos con el producto de la presente invención. Aún más, dicha persona versada en la materia entendería que la presencia de la hidroxiapatita con una composición química $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ distinta a la del fosfato tricalcico $(Ca_3(PO_4)_2)$, producirá reacciones químicas diferentes y por lo tanto, no tendría ninguna expectativa de éxito si de alguna forma reemplazara el uno por el otro.

Sobre este particular, nos permitimos manifestar que el análisis de nivel inventivo indicado en el concepto técnico es claramente el resultado de un análisis del tipo “hindsight” o retrospectivo. De hecho, este tipo de análisis no es permitido para desvirtuar el concepto de altura inventiva.

En este tipo de análisis, el examinador no enfoca su análisis en el momento en el que el solicitante plantea un problema con el fin de solucionar fallas técnicas existentes en los productos convencionales de un campo técnico específico, sino que se enfoca en la solución dada al problema planteado y en la búsqueda de documentos con conceptos análogos. A este respecto dirigimos la atención del examinador al “*Manual para Examen de Solicitudes de Patentes de Invención en las Oficinas de Propiedad Industrial de los Países de la Comunidad Andina*”, publicado en la página Web de la Comunidad Andina,

donde se establece en la página 74 en cuanto al nivel inventivo “...que la búsqueda de anterioridades se efectúa a posteriori, tomando como punto de partida la misma invención,...el examinador debe realizar el esfuerzo intelectual de colocarse en la situación que ha tenido que afrontar el técnico con conocimientos medios en la materia en un momento en que la invención no era conocida, es decir antes de la invención”.(El subrayado es nuestro) ,

En el presente caso, para el examinador puede resultar "obvio" que el objeto de la presente solicitud se derive de la materia objeto de los documentos citados sin dar mayor importancia al trabajo desplegado y a la capacidad inventiva del solicitante para lograr llegar a la solución del problema planteado. Es decir, que el examinador no hace su análisis partiendo del problema mismo que existía en la técnica en el momento en que el solicitante dirige todos sus esfuerzos para encontrar una solución, sino que enfoca su estudio en el momento en que el problema ya fue resuelto. Así las cosas, solicitamos que sean retiradas las objeciones planteadas en este aspecto.

En efecto, dado que en el momento de la fecha de presentación de la presente invención existía la necesidad de un biocompuesto con características específicas desde el punto de vista físico-química, biológico y clínico (pH, temperatura, resistencia, cohesión, fluidez inicial, moldeabilidad, estabilidad, etc.) que no estaban presentes en los productos comerciales existentes en ese momento, lo que llevo a la necesidad de plantear y realizar un diseño experimental que considerando estos parámetros permitieran alcanzar la formulación adecuada luego de un arduo trabajo de experimentación en el laboratorio.

Habiendo atendido cabalmente las objeciones presentadas por ese despacho, atentamente solicitamos se conceda el privilegio de patente de invención a la solicitud en estudio o si el señor examinador considera que subsisten razones para objetar la presente invención, rogamos expedir otro examen de fondo con los debidos motivos y razones que sustenten su objeción con el fin de que nuestro mandante tenga la posibilidad de exponer sus argumentos con base en la interpretación de los artículos 45 de la Decisión 486 -el cual otorga la facultad al examinador para emitir los exámenes de fondo-, 35 y 59 del Código Contencioso Administrativo que señala que: “habiéndose dado oportunidad a los interesados para expresar sus opiniones, y con base en las pruebas e informes disponibles, se tomará la decisión que será motivada al menos en forma sumaria si afecta a particulares” y “(.) deberá proferirse la

decisión definitiva. Esta se motivará en sus aspectos de hecho y de derecho, y en los de conveniencia si es el caso”, respectivamente (El subrayado es nuestro).

En consecuencia, solicitamos a ese despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional

Señor Superintendente,



SILVANA MARIA LÓPEZ DÍAZ

C.C. 22468787 de Barranquilla

T.P 147463 del CSJ

notificaciones@clarkemodet.com.co

Anexo 1

Lichte P. et al. 2011 (Anexo 1)



Scaffolds for bone healing: Concepts, materials and evidence

P. Lichte^{a,*}, H.C. Pape^a, T. Pufe^c, P. Kobbe^a, H. Fischer^b

^a Department of Trauma Surgery, University Hospital of the RWTH Aachen, Aachen, Germany

^b Department of Dental Materials and Biomaterials Research, RWTH Aachen University Hospital, Germany

^c Department of Anatomy and Cell Biology, RWTH Aachen University Hospital, Germany

ARTICLE INFO

Article history:
Accepted 17 March 2011

Keywords:
Bone defect
Bone healing
Synthetic scaffold
Calcium Phosphate ceramic
Polymer scaffold
Rapid prototyping

ABSTRACT

Critical sized bone defects have to be filled with material to allow bone healing. The golden standard for this treatment is autogenous bone grafting. Because of donor site morbidity, equivalent synthetic bone scaffolds should be developed. Different materials, especially ceramics and polymers are in the focus of research. Calcium phosphate ceramics show similar properties to bone and are degradable. Different modifications can improve the bioactive features. This article gives an overview about the current materials and their evidence of clinical use.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

There are several conditions in which injured bone may not be capable of healing itself. In massive traumatic bone loss or primary tumour resection the bone defect may exceed a critical size and will not heal with the help of mechanical fixation alone, which may result in a non-union. For such critical sized defects additional material is necessary to fill the gap.

The current gold standard for the treatment of these critical-sized defects is autogenous bone grafting. Autogenous bone grafts fulfil three main attributes: they are osteogenic, osteoinductive and osteoconductive. Osteogenic means that they contain living cells which can differentiate into osteoblasts. Osteoinductive describes the ability to stimulate local or added cells to differentiate into osteoblasts and thereby increase bone healing. Bone grafts also act as scaffolds: on their surface new bone material can be generated (osteoconductive).

Independent of the harvesting site and the type of autogenous bone, this method has a complication rate of up to 30%. Main complications are donor site morbidity and pain, prolonged hospitalisation, increased risk of deep infection and haematoma. Additionally the availability of autogenous bone grafts is limited. An alternative option is the use of cadaver bone or allograft. Although orthopaedic allografts carry the risk of disease transmission and infection from donor to recipient they are widely used.

Because of the above mentioned disadvantages of autogenous and allogenic bone grafts there is an increased push to develop synthetic bone scaffolds. Advantages of synthetic bone scaffolds are their abundant availability, the diminished need for autogenous bone harvesting procedure and the decreased risk for disease transmission. Moreover, using cutting edge techniques, custom-made scaffolds of tailored shape can be manufactured on the basis of clinical computer tomography data taken from the individual bone defect.

Synthetic scaffolds

The use of synthetic scaffolds for bone defects is not to permanently replace the bone tissue by the synthetic material. Instead, these scaffolds are used as 'intermediate phase' implants. This means that the scaffold should work as a guide to stimulate bone growth and attract newly formed bone tissue, before being remodelled. Therefore, the ideal synthetic scaffold would present a biomimetic surface, have an open porous microstructure for bony ingrowth, and would be biodegradable with suitable degradation kinetics. Therefore, the material composition as well as the intrinsic architecture plays critical roles in the success of a scaffold. Additionally, the ability to promote changes in the biological micro environment to support cellular bone healing would be worthwhile.

The ideal scaffold for bone regeneration should have the following properties:³⁸

- It should act as a three-dimensional template for bone regeneration.

* Corresponding author. Tel.: +49 2418036811.
E-mail address: plichte@ukaachen.de (P. Lichte).

- Resorption kinetics should be equal to the bone repair rate to facilitate load transfer to developing bone.
- The by products produced should be non-toxic and easily excreted by the body.
- It should be biocompatible and promote cell adhesion (osteoconductive) and activity (osteoinductive).
- It should create a stable interface with the host bone without the formation of scar tissue.
- It should offer mechanical properties similar to the host bone.
- It must tolerate sterilisation according to the required international standards for clinical use.
- Optimally custom-fit shapes to fill defects would be produced.

There are different strategies to address the listed requirements. Different designs and materials have been developed. Another goal is to increase the osteoinductive properties. Therefore the surface could be coated or loaded with different bioactive materials or activating agents. Especially, growth stimulating proteins, peptides and growth factors, which could be added and released in order to change the microenvironment.

Independent of the design and material of the scaffold, two main strategies have to be differentiated:

- Implantation of acellular scaffolds. The idea of acellular scaffolds is an implant for the migration of native mesenchymal stem cells (MSCs) and for their proliferation and differentiation.
- Before implantation the scaffold is prepared with MSC which have been isolated from the patient.

Scaffold materials

Several materials with different characteristics have been investigated including metals, ceramics, polymers and composite materials. They can be divided into anorganic and organic groups.

Anorganic bone substitutes

Metals

Metals like stainless steel and titanium are biocompatible, exhibit high strength, are easy to shape and relatively inexpensive. The main disadvantages of stainless steel and titanium are they are not biodegradable and they are stiff. The higher Young's modulus of these metals induces stress shielding which can prevent the native tissue from mechanical stimulation. Mechanical stimulation is known to be an important initiator of osteoblastic differentiation and activation. Due to these reasons metallic materials are only used for scaffolds in limited indications, for example in spine surgery.

In the last years a new biodegradable scaffold material based on magnesium alloy has been developed. It promotes increased bone formation and a suitable degradation rate in a rabbit model.⁴⁶ The osteoinductive properties are likely based on the corrosion product magnesium hydroxide which can temporarily enhance osteoblast activity and decrease the number of osteoclasts.²³

Ceramics

Most common for scaffolds are calcium phosphate (CaP) ceramics. Calcium phosphate ceramics are available in a variety of products due to differing chemical composition (Ca/P-ratio) and forms. Powder based CaP-materials undergo a sintering process. Several different types have been investigated including hydroxyapatite (HAp), tricalcium phosphate (TCP) as well as composites like biphasic calcium phosphates (BCP).

Calcium phosphate ceramics were introduced 40 years ago as bone substitutes. Their physical properties including stability, degradation rate and processability can be modified in a particular range by using different compositions.

Natural bone consists of an organic fraction (1/3 of the mass, mostly collagen) and an anorganic fraction. The anorganic fraction amounts to 2/3 of the dry matter and mainly includes calcium phosphate (85–90%), calcium carbonate (8–10%), magnesium phosphate (1.5%) and calcium fluoride (0.3%). The minerals are present as apatite crystals, primarily hydroxyapatite.

Calcium phosphate ceramics are known to have excellent biocompatibility and are bioactive as they bind to bone and enhance tissue formation. Alone they offer no osteogenic or osteoinductive properties. The structure and the Ca/P-ratio of the different ceramics (HAp 1.67, TCP 1.5) are similar to the above mentioned mineral phase of natural bone. Therefore ceramics induce an interface mechanism which leads to a release of calcium and phosphate ions. This results in an indefinable connexion between the ceramic and the bone (bonding osteogenesis). Woven bone accumulates directly on the ceramic surface without a separating layer of connective tissue and is converted to lamellar bone in the course.

Pore size is one of the most important characteristics of ceramic scaffolds. Porosity should be similar to cancellous bone. Pore sizes of 300–500 μm seem to be ideal for osseous ingrowth.²⁶ Additionally, the presence of interconnecting pores is essential to prevent blind alleys with low oxygen tension which can prevent the osteoblastic differentiation.³⁵ Special manufacturing techniques are necessary to ensure the presence of interconnecting pores in ceramic materials.

Depletion of ceramics depends on two different mechanisms: resorption and degradation. Resorption is an active cellular process by osteoclasts with consecutive neoformation of bone. Degradation is a chemical process in a humid environment. The resorption rate differs between the different types of calcium phosphate ceramics and can be affected by different composites and manufacturing techniques. Porous TCP-ceramics is reported to be eliminated similar to the velocity of osseous ingrowth, whereas HAp-ceramics are more permanent.^{21,33} Therefore HAp-ceramics are most often used as composites with other ceramics.

The most serious disadvantage of ceramic scaffolds for their clinical use is their low mechanical strength and brittleness. If they are produced in an adequate porous design they are insufficient as a weight bearing component.

Bioglasses

Bioglasses are based on acidic oxides (e.g. phosphorus pentoxide, silicon dioxide and aluminium oxide) and basic oxides (e.g. calcium oxide, magnesium oxide, zinc oxide). After a melting process the ingredients built a 3D network with connected pores.^{18,24} They have a significantly higher mechanical strength in comparison to most calcium phosphate ceramics.²¹

Organic materials

Polymers

Polymers are biocompatible, degradable and have good processability. Therefore, they have a great potential for scaffold materials. Polymers include polyethylene glycol (PEG), polyglycolid (PGA), poly-L-lactid and poly-D,L-lactid, polyurethanes and composites. The most commonly researched polymers are polyesters. Several FDA-approved polyesters are widely used as biodegradable pins and screws as well as surgical suture materials and surgical meshes.

Polymers degrade primary by chemical reactions like hydrolysis and only slightly by enzymatic and cellular pathways. Therefore, degradation predictability can be modified through copolymerisation and changes in hydrophobicity and crystalline structure. Degradation reaction is not only limited to the surface

10/1

but takes place in the whole volume (BULK-degradation) due to the fast diffusion of water into the material. Hydrophobic polymers only degrade from the surface (surface-degradation).²⁷ Unfortunately some of the degradation products like micro crystallites may cause immunological reactions and foreign body reactions. Erosion particles of biological inert polymers are able to activate macrophages and cause osteolysis without additional chemical reactions. It was shown in an *in vivo* study in rabbits that after implantation of polymer screws, despite their complete degradation, the drill holes were not refilled with trabecular bone after 54 months.⁸

The mechanical characteristics of polymers show converse attributes to ceramics. The elastomeric polymers like polyurethanes exhibit an even lower elastic modulus in comparison to native bone and therefore are too flexible for load bearing solutions. Incorporation of high modulus micro- or nanoscale ceramic constituents into the polymer can help to address this problem.³⁶ The most commonly researched polymer/ceramic composite is polyester with HAp constituents. Besides hardness, HAp provides osteogenic and biocompatible properties.²⁸ Also, other anorganic constituents including carbon-tubes and metals have been researched to improve the mechanical properties of polymer scaffolds.

Additional modifications

Rapid prototyping of scaffolds

The generative manufacturing, i.e. rapid prototyping techniques hold great potential for bone scaffolds. Especially the 3D-powderbed based printing (3D-P) and the Selective Laser Melting (SLM) techniques are suitable to generate scaffolds of individual shape (Fig. 1). The shape of the scaffold is generated by clinical computer tomography data that is taken from a specific bone defect.

For 3D-P calciumphosphates can be used as the base material.⁵ One thin layer of CaP granules are smoothly dispersed on a platform. A suitable binder is inprinted into the powderbed and binds the respective particles together within the layer. Subsequently, a following layer of granules is dispersed on top of the first layer. The printed binder binds the respective particles of the second layer and to the previous bound layer. This way, an individually shaped scaffold can be built up layer by layer (Fig. 2). A subsequent firing process in a ceramic furnace removes the binder out of the 3D component and consolidates the ceramic scaffold.

As a promising alternative technique, SLM can be used to generate scaffolds with an individual shape. In the 3D-P technique, a powderbed is dispersed on a platform layer by layer. Using the SLM technique a laser is used to bind the particles, not a binder. Bone substitute scaffolds were successfully made using a degradable composite out of calciumphosphate ceramics and polylactides.²⁹ Such scaffolds have three favourable characteristics: a bulk material with micropores to improve cell attachment, an open porous structure to enable bony ingrowth, and an individual shape of the outer surface based on clinical CT data.

Coated scaffolds

Extracellular matrix (ECM) macromolecules are important chemical effectors in cell signalling. They contain progenitor and osteoblast integrin binding sites as well as growth factor binding sites and are able to enhance osteogenic cell differentiation.^{43,44} Therefore ECM proteins are interesting in enhancing osteoinductivity of different scaffolds. Due to their lack of compressive strength they have to be combined with other materials. Because of their prevalence Type I collagen and glycosaminoglycans have

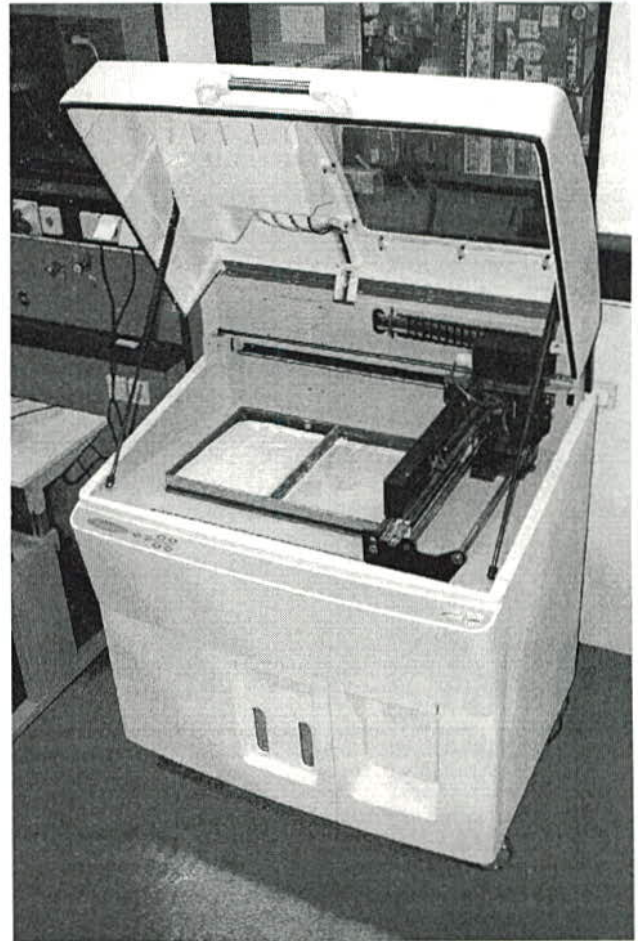


Fig. 1. 3D-printer to create tailored shape scaffolds using the powderbed-based 3D-printing technique.

been investigated. *In vitro* and *in vivo* studies have shown an enhanced osteogenic property in scaffolds combined with ECM proteins.^{15,16,37,45}

Incorporation of growth factors

The incorporation of growth, adhesion and transcription factors in synthetic scaffolds is a common strategy to enhance their

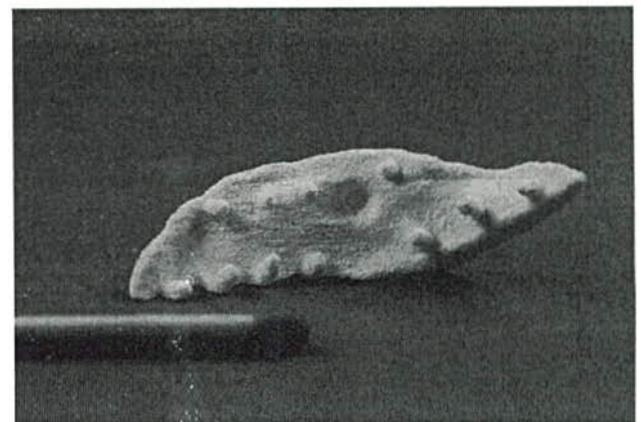


Fig. 2. Scaffold as mandible bone replacement made of tricalcium phosphate. The scaffold was built up using the powderbed-based 3D-printing technique.

osteogenic properties. In physiologic bone regeneration proliferation, migration and differentiation of osteoblastic cells is controlled by growth and transcription factors in very low concentrations. There are a variety of growth factors which have been identified *in vitro* and *in vivo* as potential substances including bone morphogenetic proteins (BMPs), platelet derived growth factors (PDGFs), insulin like growth factors (IGF-1s and 2s), tumour growth factors (TGFs) and fibroblast growth factors (FGFs).³² BMPs have been tested in preclinical and clinical settings and FDA approved. Scaffolds which release slow and continuous BMPs (especially BMP-2) have shown osteoinductive properties and are able to accelerate neoformation of bone.^{25,30,41} Recent studies investigated the effect of plasmids encoding for Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF165) in order to heal critical sized defects in animal models.²⁰ Future studies will reveal the effect of combination of scaffolds coated with growth factors.

In vivo gene therapy

Gene activated matrices, which are scaffolds impregnated with cDNA plasmids, could be another route for exploiting the osteoinductive properties of growth- and transcription-factors. The concept is based on the release of plasmids to transfect the local cell population which corresponds to a local bioreactor. The scaffold localises the cDNA in the area of need and provides a steady release dependent on their degradation rate and offers a surface for cellular attachment. Several preclinical studies could show that gene delivery can induce bone healing. Fang et al.¹⁹ implanted collagen sponges loaded with cDNA encoding for BMP-4 or/and parathyroid hormone into a rat femur osteotomy site. The control animals which were treated only with a collagen sponge, developed only fibrous tissue whereas the animals treated with gene activated matrices showed osseous ingrowth.

Despite the promising results, transfection is still relatively inefficient and levels of transgene expression are low. Gene delivery concepts can also be applied with viral vectors which may lead to higher transfection rates. Otherwise viral vectors carry the risk of an immune response to the vector.

MSC seeded scaffolds

Bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSC) are a very small portion of pluripotent cells located in the bone marrow. The MSC portion can be isolated from a mixture of bone marrow cells on the basis of epitope expression antibody selection procedures.

The isolated MSC can differentiate into several different cell types including the osteogenic lineage. Differentiation into the osteoblastic phenotype is controlled by different chemicals, for example dexamethason and ascorbic acid and growth factors like BMPs, PDGF and TGF- β as mentioned above.

One of the main problems is the relative low concentration of MSCs in the bone marrow. To receive relevant amounts of cells, the cells have to be cultured and increased *ex vivo*, placing the patient under at least two operations. One operation for obtaining the MSCs, and after an interval the implantation of the seeded scaffold. During an extended *ex vivo* cultivation MSCs are known to lose some of their phenotypic characteristics such as bone forming capacity.^{2,3} Another problem is the difficulty of adequate sterilisation of the cell-seeded scaffold before implantation.

It has been shown in preclinical trials that scaffolds seeded with MSCs have a better osteogenic capacity and show a faster integration with native tissue than acellular scaffolds.¹⁷ The osteoinductive and osteogenetic properties of MSCs could also be demonstrated in different preclinical animal models. Critical sized bone defects had been treated with MSC seeded matrices in different animals.^{1,4,10}

Several preclinical studies also show that the scaffold material has a great impact on the properties of the inserted MSC. For example MSCs on polycarbonates containing 0% or 3% PEG upregulate the expression of osteogenic markers at different stages. Cells on polycarbonates containing no PEG were characterised as having early onset of cell spreading and osteogenic differentiation. Cells on 3% PEG surfaces were delayed in cell spreading and osteogenic differentiation, but had the highest motility.⁹

Clinical evidence

The usage of autogenous bone grafts is still the gold standard for the treatment of bone defects even if it is not supported by good clinical evidence. Surgeons have used autologous bone grafts routinely since many decades with good success. Nevertheless in our literature search we could not find any data which compared the results of autograft application with that of no graft.

Calcium phosphate plays a major role in the field of scaffold research. The ability to fill bone defects in ceramic or cement form has been reported in several animal studies and some clinical case series. Tricalciumphosphate was implanted in traumatic bony defects in 43 patients.³³ 90% of the fractures and 85% of the nonunions healed after 12 months. There was a radiographic resorption rate of 10% per month with complete resorption after 6–14 months. Independent of the nonunions only 2 complications had been observed (infections after open fractures).

Cameron has published a series of 20 cases in which a disc of tricalciumphosphate was implanted into the cut surface of the tibia at the time of total knee replacement.¹¹ At six months the disc could not be identified radiographically any more. After 2 years the block seemed to be largely incorporated and replaced by bone.

In 1997 a prospective, randomised multicenter study have been undertaken and published by Chapman et al.¹² They compared the efficacy and safety of autogenous bone graft versus a composite material composed of purified bovine collagen, BCP and autogenous marrow in the treatment of long bone fractures. There were no significant differences between these groups with respect to union and functional measures. Complication rates did not differ except for deep infection, which was significantly more frequent in the bone graft group.

Polymeric biodegradable osteosynthetic implants have been in clinical use for many years. Therefore experience with their biocompatibility in humans has been observed.⁷ In PGA implants significant inflammatory reactions were observed in 7.9% of the patients. On average, the reaction occurs 11 weeks after implantation.⁶ The degree of severity ranges from erythema to screw loosening. If slower degrading polymers are used the complication rate is lower and the inflammatory signs can occur up to 5 years after operation.

Actually several preclinical *in vivo* studies have been published. Composites of polymers and calcium phosphates have shown good results as scaffolds in bone tissue engineering.^{39,42,47} In contrast to calcium phosphates no clinical trials or case series have been published to our knowledge.

The clinical application of MSCs has been described in a few case series with a low number of patients. Non cultured MSC had been used for the treatment of non-unions,^{13,22} intervertebral fusion³⁴ and bone defects.¹⁴ In these indications prepared bone marrow had been injected directly in the lesion. Industrial produced allogenic bone grafts in combination with unexpanded MSCs showed comparable results compared to autogenous cancellous bone grafts in the treatment of different bone defects.⁴⁰ Expanded MSCs for bone defect healing have been described in 2 case series. Marcacci et al. published a case report of 4 patients which showed good long term outcome for implantation of MSC seeded HA scaffolds after the treatment of long bone defects.³¹

Summary and conclusion

Surgeons are interested in changing their operating procedures to avoid the potential morbidity which is associated with the harvest of autogenous bone grafts. The goal is to develop bone graft substitutes which offer the most important properties of autogenous grafts: Osteoconductivity, osteoinductivity and osteogenic abilities.

Porous ceramic materials offer the best evidence as a potential graft substitute. They have demonstrated their ability to improve bone healing in some clinical studies and case series. Improving structural and chemical properties are important objectives. Polymeric materials have been in clinical use for many years. Preclinical studies show promising results for their use as a scaffold for bone defects, especially as composites with other materials.

In the last few years several scaffolds have been developed to establish osteoinductive and osteogenic properties. Preclinical tests show advances for scaffolds with incorporated growth factors, or cDNA of growth factors. Coating with ECM proteins seems to improve osteoinductivity. Before these concepts can be accepted in clinical use, problems with safety and cost efficiency have to be resolved.

Another promising technique is to settle *in vitro* expanded MSC on the scaffold. Preclinical studies show advantages in bone healing as well. On the other hand a second operation is necessary and actually there are some difficulties with sterility.

In conclusion autogenous bone grafting is still the gold standard for filling bone voids. The closest options are ceramic scaffolds. There is a lack of clinical studies to prove the safety and advantages for these new concepts in comparison to autogenous bone grafts.

Conflict of interest

All authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Arinzech TL, Peter SJ, Archambault MP, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical-sized canine segmental defect. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85-A:1927–35.
- Banfi A, Bianchi G, Notaro R, et al. Replicative aging and gene expression in long-term cultures of human bone marrow stromal cells. *Tissue Eng* 2002;8:901–10.
- Banfi A, Muraglia A, Dozin B, et al. Proliferation kinetics and differentiation potential of ex vivo expanded human bone marrow stromal cells: implications for their use in cell therapy. *Exp Hematol* 2000;28:707–15.
- Bensaid W, Oudina K, Viateau V, et al. De novo reconstruction of functional bone by tissue engineering in the metatarsal sheep model. *Tissue Eng* 2005;11:814–24.
- Bergmann C, Lindner M, Zhang W, et al. 3D-printing of bone substitute implants using calcium phosphate and bioactive glasses. *J Eur Ceram Soc* 2010;30:2563–7.
- Bostman O, Hirvensalo E, Makinen J, Rokkanen P. Foreign-body reactions to fracture fixation implants of biodegradable synthetic polymers. *J Bone Joint Surg Br* 1990;72:592–6.
- Bostman O, Pihlajamäki H. Clinical biocompatibility of biodegradable orthopaedic implants for internal fixation: a review. *Biomaterials* 2000;21:2615–21.
- Bostman OM, Laitinen OM, Tynniinen O, Salminen ST, Pihlajamäki HK. Tissue restoration after resorption of polyglycolide and poly-L-lactic acid screws. *J Bone Joint Surg Br* 2005;87:1575–80.
- Briggs T, Treiser MD, Holmes PF, et al. Osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells on poly(ethylene glycol)-variant biomaterials. *J Biomed Mater Res A* 2009;91:975–84.
- Bruder SP, Kurth AA, Shea M, et al. Bone regeneration by implantation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1998;16:155–62.
- Cameron HU. Tricalcium phosphate as a bone graft substitute. *Contemp Orthop* 1992;25:506–8.
- Chapman MW, Bucholz R, Cornell C. Treatment of acute fractures with a collagen-calcium phosphate graft material. A randomized clinical trial. *J Bone Joint Surg Am* 1997;79:495–502.
- Connolly JF, Guse R, Tiedeman J, Dehne R. Autologous marrow injection as a substitute for operative grafting of tibial nonunions. *Clin Orthop Relat Res* 1991;259–70.
- Dallari D, Savarino L, Stagni C, et al. Enhanced tibial osteotomy healing with use of bone grafts supplemented with platelet gel or platelet gel and bone marrow stromal cells. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89:2413–20.
- Datta N, Holtorf HL, Sikavitsas VI, Jansen JA, Mikos AG. Effect of bone extracellular matrix synthesized *in vitro* on the osteoblastic differentiation of marrow stromal cells. *Biomaterials* 2005;26:971–7.
- Dawson JL, Wahl DA, Lanham SA, et al. Development of specific collagen scaffolds to support the osteogenic and chondrogenic differentiation of human bone marrow stromal cells. *Biomaterials* 2008;29:3105–16.
- Dupont KM, Sharma K, Stevens HY, et al. Human stem cell delivery for treatment of large segmental bone defects. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:3305–10.
- El Ghannam A. Bone reconstruction: from bioceramics to tissue engineering. *Expert Rev Med Devices* 2005;2:87–101.
- Fang J, Zhu YY, Smiley E, et al. Stimulation of new bone formation by direct transfer of osteogenic plasmid genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:5753–8.
- Geiger F, Bertram H, Berger I, et al. Vascular endothelial growth factor gene-activated matrix (VEGF165-GAM) enhances osteogenesis and angiogenesis in large segmental bone defects. *J Bone Miner Res* 2005;20:2028–35.
- Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiroidis E. Bone substitutes: an update. *Injury* 2005;36(Suppl. 3):S20–7.
- Hernigou P, Poignard A, Beaujean F, Rouard H. Percutaneous autologous bone-marrow grafting for nonunions. Influence of the number and concentration of progenitor cells. *J Bone Joint Surg Am* 2005;87:1430–7.
- Janning C, Willbold E, Vogt C, et al. Magnesium hydroxide temporarily enhancing osteoblast activity and decreasing the osteoclast number in peri-implant bone remodelling. *Acta Biomater* 2010;6:1861–8.
- Jones JR, Ehrenfried LM, Hench LL. Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2006;27:964–73.
- Kanakaris NK, Lasanianos N, Calori GM, et al. Application of bone morphogenetic proteins to femoral non-unions: a 4-year multicentre experience. *Injury* 2009;40(Suppl. 3):S54–61.
- Kühne JH, Bartl R, Frisch B, et al. Bone formation in coralline hydroxyapatite. Effects of pore size studied in rabbits. *Acta Orthop Scand* 1994;65:246–52.
- Lane JM, Tomin E, Bostrom MP. Biosynthetic bone grafting. *Clin Orthop Relat Res* 1999;3107–17.
- Laschke MW, Strohe A, Menger MD, Alini M, Eglin D. In vitro and in vivo evaluation of a novel nanosize hydroxyapatite particles/poly(ester-urethane) composite scaffold for bone tissue engineering. *Acta Biomater* 2010;6:2020–7.
- Lindner M, Hoeges S, Meiners W, et al. Manufacturing of individual biodegradable bone substitute implants using selective laser melting technique. *J Biomed Mater Res A* 2011, in press.
- Liu Y, Lu Y, Tian X, et al. Segmental bone regeneration using an rhBMP-2-loaded gelatin/nanohydroxyapatite/fibrin scaffold in a rabbit model. *Biomaterials* 2009;30:6276–85.
- Marcacci M, Kon E, Moukhachev V, et al. Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Eng* 2007;13:947–55.
- Marsell R, Einhorn TA. The role of endogenous bone morphogenetic proteins in normal skeletal repair. *Injury* 2009;40(Suppl. 3):S4–7.
- McAndrew MP, Gorman PW, Lange TA. Tricalcium phosphate as a bone graft substitute in trauma: preliminary report. *J Orthop Trauma* 1988;2:333–9.
- Neen D, Noyes D, Shaw M, et al. Heals and bone marrow aspirate used for lumbar spine fusion: a case controlled study comparing heals with autograft. *Spine (Phila Pa 1976)* 2006;31:E636–40.
- Ooboshi H, Sadoshima S, Yao H, et al. Inhibition of ischemia-induced dopamine release by omega-conotoxin, a calcium channel blocker, in the striatum of spontaneously hypertensive rats: in vivo brain dialysis study. *J Neurochem* 1992;58:298–303.
- Peter SJ, Miller MJ, Yasko AW, Yaszemski MJ, Mikos AG. Polymer concepts in tissue engineering. *J Biomed Mater Res* 1998;43:422–7.
- Pham QP, Kasper FK, Scott BL, et al. The influence of an *in vitro* generated bone-like extracellular matrix on osteoblastic gene expression of marrow stromal cells. *Biomaterials* 2008;29:2729–39.
- Porter JR, Ruckh TT, Popat KC. Bone tissue engineering: a review in bone biomimetics and drug delivery strategies. *Biotechnol Prog* 2009;25:1539–60.
- Scaglione S, Lazzarini E, Ilengo C, Quarto R. A composite material model for improved bone formation. *J Tissue Eng Regen Med* 2010.
- Schmid U, Thielemann F, Weise K, Ochs BG. A novel therapeutic approach to bone replacement: vitalisation of industrial processed allogenic bone graft with autologous bone marrow. *Z Orthop Unfall* 2007;145:221–9.
- Srouji S, Ben David D, Lotan R, et al. Slow-release hrBMP-2 embedded within electrospun scaffolds for regeneration of bone defect: in vitro and in vivo evaluation. *Tissue Eng Part A*; 2010.
- Terella A, Mariner P, Brown N, Anseth K, Streubel SO. Repair of a calvarial defect with biofactor and stem cell-embedded poly(ethylene glycol) scaffold. *Arch Facial Plast Surg* 2010;12:166–71.
- Thibault MM, Hoemann CD, Buschmann MD. Fibronectin, vitronectin, and collagen I induce chemotaxis and haptotaxis of human and rabbit mesenchymal stem cells in a standardized transmembrane assay. *Stem Cells Dev* 2007;16:489–502.
- Thibault RA, Scott BL, Mikos AG, Kasper FK. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells on pregenerated extracellular matrix scaffolds in the absence of osteogenic cell culture supplements. *Tissue Eng Part A* 2010;16:431–40.
- Tour G, Wendel M, Tcacencu I. Cell-derived matrix enhances osteogenic properties of hydroxyapatite. *Tissue Eng Part A*; 2010.
- Witte F, Ulrich H, Palm C, Willbold E. Biodegradable magnesium scaffolds. Part II. Peri-implant bone remodeling. *J Biomed Mater Res A* 2007;81:757–65.
- Xu Q, Lu H, Zhang J, et al. Tissue engineering scaffold material of porous nanohydroxyapatite/polyamide 66. *Int J Nanomed* 2010;5:331–5.

Anexo 2

Evaluación del efecto sobre la cicatrización endo-ósea de un biocompuesto cerámico
implantado en un defecto de tamaño crítico en el hueso parietal de ratas wistar

Evaluación del efecto sobre la cicatrización endo-ósea de un biocompuesto cerámico implantado en un defecto de tamaño crítico en el hueso parietal de ratas wistar

1. Diseño experimental:

Tipo de investigación : Experimental descriptivo

Lugar: Bioterio Universidad del Valle, Cali, Colombia

Supervisión ética: Comité de ética animal Universidad del valle

Biomodelos: 15 Ratas Wistar, machos de 3 meses de edad

Diseño experimental: Defecto bilateral de 5 mm en parietal,(tamaño crítico), control con defecto vacío

Material de injerto: Cerámica bioactiva

Tiempos de implantación: 20, 40 y 60 días

Grupos: Tres (20, 40, y 60 días)

Fecha: 2012

2. Objetivo:

Evaluar capacidad osteopromotora en defectos de difícil cicatrización a 20, 40 y 60 días

3. Materiales y métodos

3.1 Se crearon defectos bilaterales de 5 mm de diámetro

3.2 Se injertaron los defectos del lado derecho con el biocompuesto cerámico, los del lado izquierdo se dejaron vacíos (control)

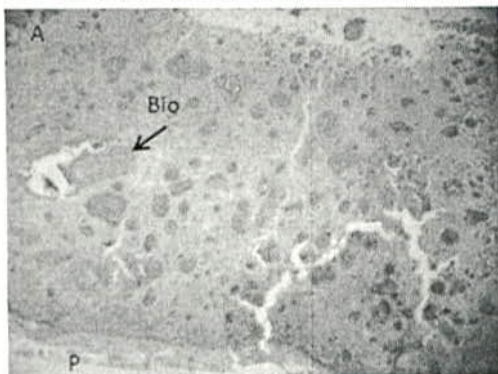
3.3 Se separaron los Biomodelos en tres grupos, según sacrificio a los 20, 40 o 60 días de implantación

3.4 A todos los grupos se les realizó tinción de rutina con hematoxilina eosina, Tricromica de Masson (colágeno tipo I, Tricromica de Gomori (Colágeno tipo I), e inmuno - histoquímica con anticuerpos monoclonales para actina alfa de musculo liso y fosfatasa ácido tartrato resistente (para osteoclastos)

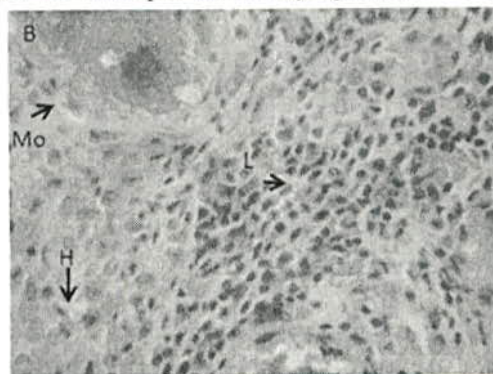
3.5 Se realizaron los análisis respectivos

4. Resultados

4.1. Se observa inflamación abundante a los 20 días que disminuye para los 40 y 60 días



H& E. 10 X

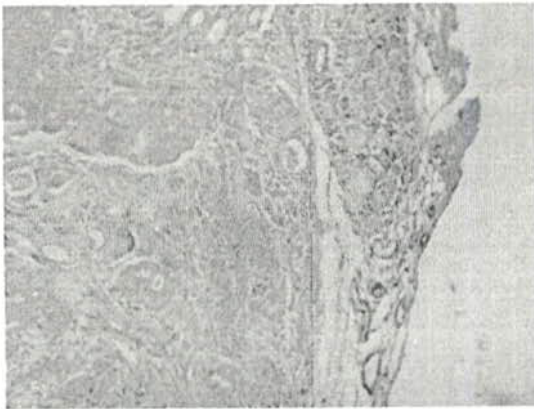


H& E. 40 X

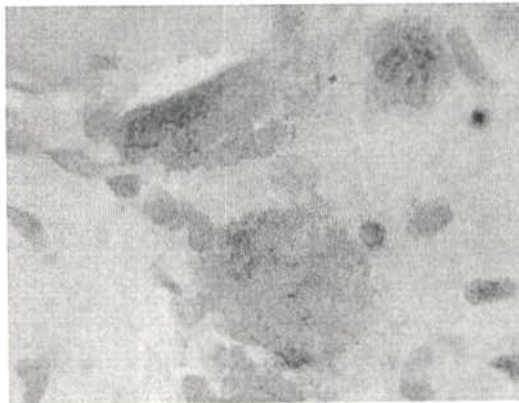
4.2. A los 40 días se aprecia neo formación de vasos sanguíneos y presencia de células multinucleadas similares a osteoclastos

19

Angiogénesis



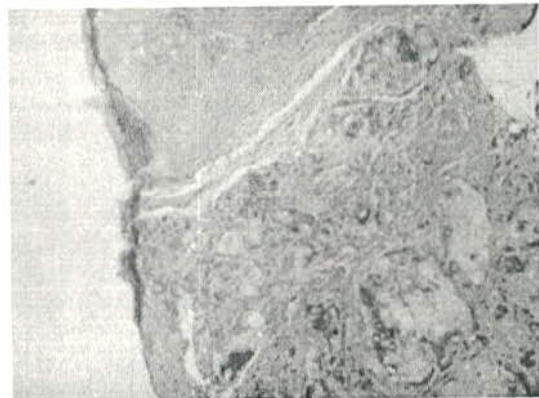
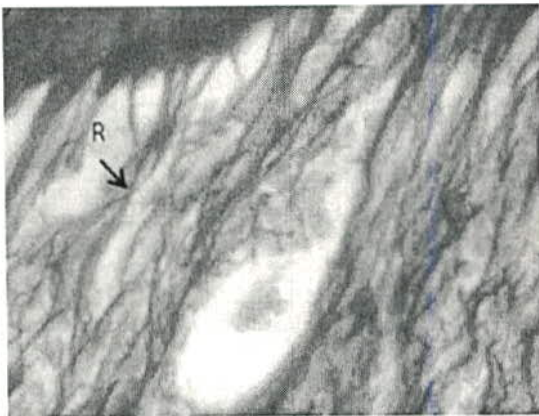
Celulas multinucleadas TRAP +



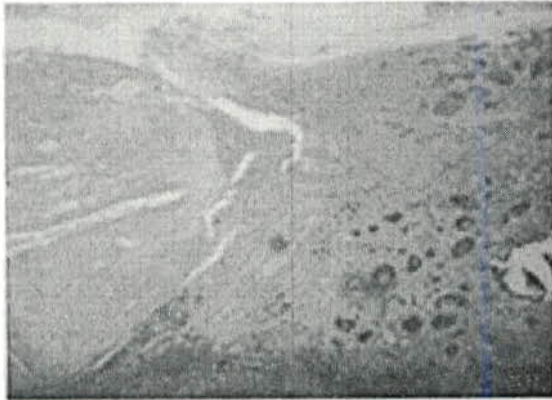
Anticuerpo monoclonal anti-actina
alfa de músculo liso humano

Anticuerpo monoclonal anti
TRAP

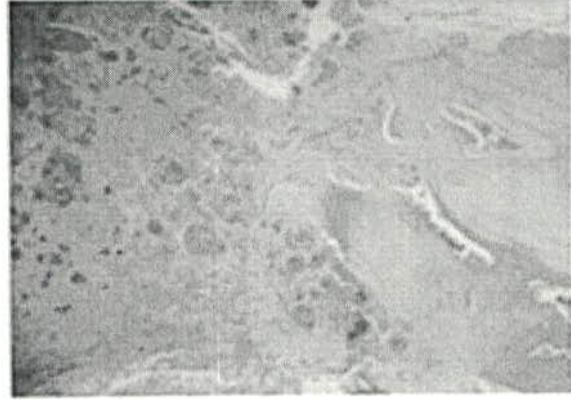
4.3 A los 40 días se observa formación de fibra reticular (colágeno tipo III) que está integrando al defecto , con el biomaterial injertado, con el hueso periférico (color morado); y colágeno tipo I (Color azul) , el cual además de integrar con el hueso periférico separa el material en columnas (septum)



4.4. A los 60 días se aprecia integración del defecto con la periferia a través de formación ósea

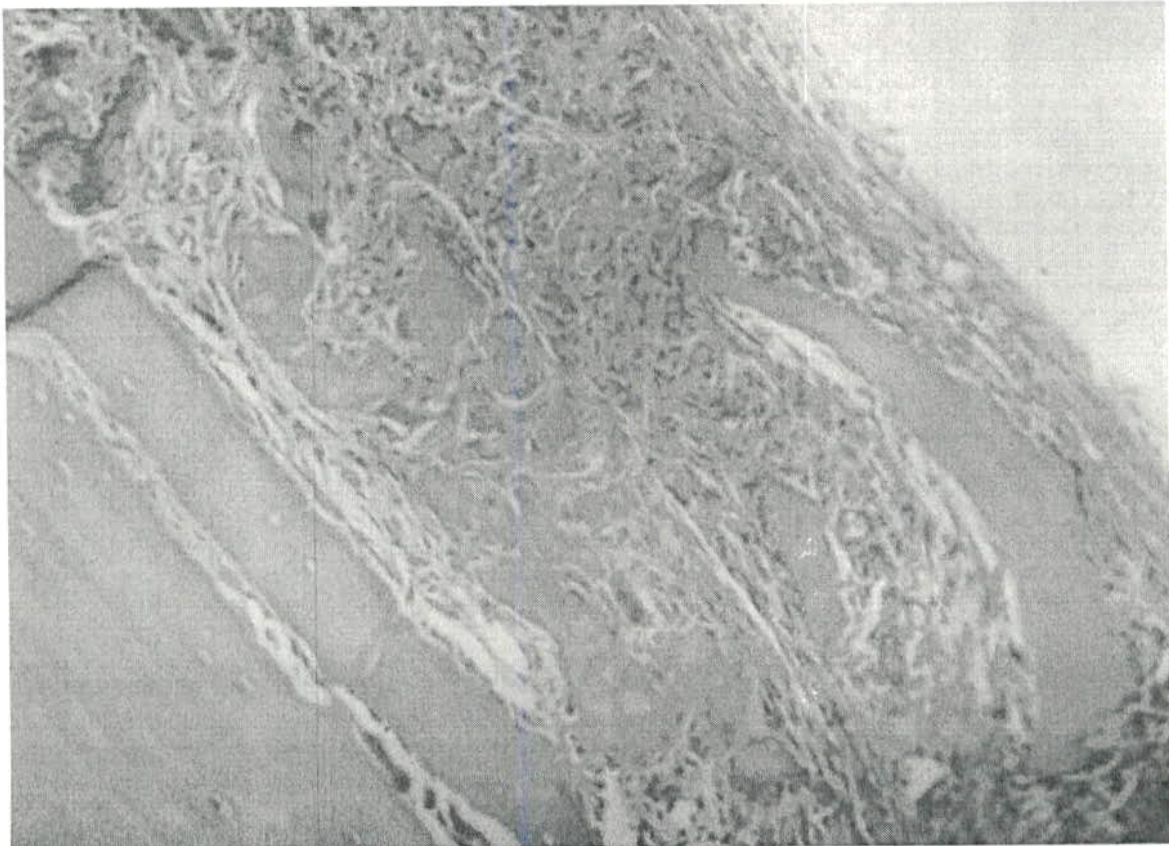


Lado izquierdo



Lado Derecho

También se aprecia formación de columnas de hueso nuevo en la periferia del defecto y en medio del material



H. R. F. 10 X

4.5 En los defectos no injertados no hubo evidencia de formación ósea, solo se apreció un tejido blando formado por colágeno

21

Defecto control a 60 días

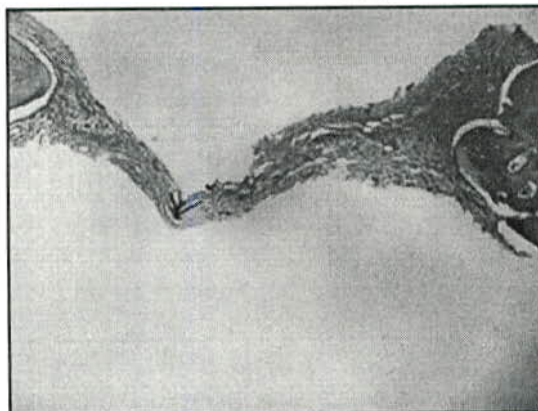


Imagen a 4X, sin evidencia de formación ósea

5. Conclusiones

- 5.1 el defecto se comportó como crítico, y solo se formó hueso en el sitio implantado
- 5.2 El biocompuesto estimulo formación ósea en un defecto de tamaño critico
- 5.3 Las imágenes muestran que el material es resorbido por células similares a osteoclastos, y reemplazado por tejido óseo normal, en un patrón compatible con formación endocondral

Resultados:

Preparación control permanece sin regenerar

Preparacion injertada muestra biointegracion por fibra reticular y colágena tipo I, angiogénesis, formación de espículas óseas, integración con hueso periférico, restablecimiento de periostio.

Referencias

American academy of orthopaedic surgeons, BONE-GRAFT SUBSTITUTES: FACTS, FICTIONS & APPLICATIONS, (disponible en:
http://www.aaos.org/research/committee/biologic/BI_SE_2003-1.pdf
 Petite H., Quarto R. Engineered Bone. Chapter 6. Calcium Phosphate Bioceramics: An Alternative to Autograft and Allograft? . LANDES BIOSCIENCE; GEORGETOWN, TEXAS. U.S.A. 2005. Copyright ©2005 Eurekah.com

. Lichte P. et al Scaffolds for bone healing: Concepts, materials and evidence. Injury, Int. J. Care Injured 42 (2011) 569–573

22

Gimeno, M. D. Sustitutivos óseos en fracturas del radio distal. Fundaciòn Mafre. Vol 5, Supl II. 2007

Tatay A. et al. Sustitutos óseos. Rev. S. And. Traum. y Ort., 2008;26(1/2):2-13

Zárate-Kalfópulos Barón, Reyes-Sánchez Alejandro. Injertos óseos en cirugía ortopédica. Cir Ciruj 2006;74:217-222

P-2583
Descripción y Rvs modificadas
Octubre 21, 2013

BIOCOMPUESTO CERÁMICO PARA REGENERACIÓN ÓSEA

5

RESUMEN

Esta invención se encuentra dirigida a un biocompuesto cerámico para regeneración ósea que presenta un rango de pH de 6,5 a 8,5 con una plasticidad inicial que permite su fácil moldeo "in situ" y un endurecimiento después de 7 minutos, que hace posible que permanezca en el lugar indicado mientras ocurre el proceso de cicatrización. Adicionalmente, el biocompuesto muestra capacidad de estimular la formación ósea en defectos de difícil cicatrización.

El material puede actuar solo o en combinación con otros tipos de injerto óseo ya sea autoinjertos, homoinjertos o xenoinjertos que actúan como vehículo, como material cementante de prótesis endo-óseas o como recubrimiento en prótesis o implantes endo-óseos.

BIOCOMPUESTO CERÁMICO PARA REGENERACIÓN ÓSEA

CAMPO TECNOLÓGICO

- 5 La presente invención hace referencia a un biocompuesto para uso en técnicas de regeneración ósea, en las cuales se busca tanto la estimulación de la formación como el aumento en el volumen óseo.

10 El biocompuesto de la presente invención tiene aplicación en el área de la odontología, en situaciones en las que el hueso de los maxilares, debido al trauma sufrido o por el proceso fisiológico normal de reabsorción ósea, no sea suficiente para la colocación de los implantes dentales o para mejorar la estética y la función de una prótesis dental.

15 El biocompuesto de la invención también es útil en traumatología y ortopedia, cuando se hace necesaria la utilización de injertos o substitutos óseos debido a la pérdida considerable de tejido óseo causada por un trauma. En cirugía ósea, en el tratamiento de las secuelas de procesos patológicos o infecciosos como los efectos causados por tumores benignos y malignos, así como la osteomielitis, los cuales generan cavidades óseas que difícilmente cicatrizan en forma espontánea.

20 El biocompuesto de la invención, también denominado biocompuesto cerámico, presenta buenas propiedades físicas y químicas que permiten una aplicación segura y facilitan su manejo *"in situ"*, ya que inicialmente permite ser moldeado y luego endurece (fraguado) en un tiempo corto pero adecuado a las necesidades operatorias, adquiriendo una consistencia lo suficientemente rígida para permanecer en el sitio sin ser disuelto por los fluidos tisulares.

25 El biomaterial es biocompatible, osteoconductor y además, estimula la formación ósea en sitios de difícil o imposible cicatrización espontánea (defectos de "tamaño crítico"), debido a sus propiedades osteopromotoras. Estas cualidades se evidenciaron en estudios experimentales realizados en modelos animales a los cuales se les indujo defectos de "tamaño crítico", es decir, defectos que no
30 cicatrizarían espontáneamente en toda la vida del animal.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La bioingeniería se encuentra en una permanente búsqueda de substitutos que sean capaces de
35 reemplazar al injerto óseo autólogo.

En el desarrollo de este tipo de materiales es posible encontrar diferentes productos basados en biocerámicas que tratan de imitar el hueso natural, por ejemplo el documento EP0329098 reporta un material endurecible que comprende hidroxiapatita, óxido de zinc y/o óxido de magnesio, el cual endurece en un periodo de 2 a 19 minutos, y mantiene un pH en un rango de 6 a 8. Si bien este
5 rango de pH puede ser considerado fisiológico, el intervalo de endurecimiento es demasiado amplio, toda vez que 2 minutos es muy poco tiempo para lograr una correcta colocación y un buen moldeo del material y 19 minutos es demasiado tiempo para las necesidades operatorias en cirugía ósea.

Adicionalmente, la hidroxiapatita, aunque es un material con adecuadas características
10 osteoconductoras, presenta problemas de incorporación debido a que su reabsorción se lleva a cabo de una manera muy lenta.

El documento EP0555807 enseña un sustituto que comprende apatitas de origen bovino (Xenoinjerto), mezcladas con óxido de calcio, óxido de zinc, óxido de magnesio y quitosano. Este
15 producto exhibe un pH en un rango de 6 a 8, intervalo que se puede considerar semejante al fisiológico, los tiempos de endurecimiento son prolongados. El producto se basa en el sistema de apatita de origen bovino, la cual tiene excelentes propiedades osteoconductoras. Sin embargo, dada la procedencia de la apatita, la misma no está exenta de riesgos biológicos y aumenta los costos del producto debido a los altos valores asociados a su procesamiento.

20

La solicitud US5,618,339 enseña un relleno óseo que incorpora una sustancia osteoinductora. El compuesto allí reportado está formado por hidroxiapatita cristalizada e hidroxiapatita amorfa, mezcladas con quitosano. La sustancia amorfa es obtenida a partir de tejido óseo de origen animal (bovinos), lo que hace que el proceso de obtención de productos a partir de especies animales sea
25 dispendioso, costoso, y no exento de riesgo biológico.

Según dicho documento, el compuesto presenta propiedades de endurecimiento y maneja un pH en un rango fisiológico. El producto base es hidroxiapatita, la cual es reconocida por su excelente osteoconductividad, pero como ya se mencionó anteriormente, su origen partir del tejido de otra
30 especie, (Xenoinjerto) hace que este producto exhiba las mismas desventajas que las de la referencia anterior.

De acuerdo con el mismo documento, la cualidad osteoinductora se ensayó en defectos experimentales creados en calota de ratas Sprague Dawley, hembras de 4 semanas de edad, en un
35 defecto craneal de 2 mm de diámetro y una profundidad de 0,3 mm. Se comparó con defectos controles que contenían únicamente hidroxiapatita, encontrando diferencias en la formación ósea.

Sin embargo, como está suficientemente reportado en la literatura especializada, para probar cualidades osteoinductivas u osteopromotoras los defectos deberían ser de 5 mm de diámetro y 0,8 mm de profundidad para poder ser calificados como "Defectos de tamaño crítico".

- 5 En este sentido, aún existe una necesidad no satisfecha en el estado de la técnica de un material cerámico que presente características fisicoquímicas adecuadas que permitan un fácil moldeo y fraguado del material con el fin de facilitar la aplicación del mismo en cavidades óseas de difícil cicatrización.

10 BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

El objeto de la presente invención es un biocompuesto sintético basado en el sistema β -fosfato tricálcico, que es un material con reconocida biocompatibilidad, osteoconducción, bioactividad y completa reabsorción.

15

De acuerdo con la presente invención, el compuesto β -fosfato tricálcico se combina con quitosano que es un polímero natural, que exhibe cualidades osteopromotoras, y con otros productos totalmente biocompatibles como el óxido de zinc y el óxido de calcio, que permiten ajustar el pH en todas las formulaciones a un valor que oscila entre 6,5 y 8,5, rango semejante al pH fisiológico.

20

El biocompuesto de la invención puede ser aplicado en combinación con otros tipos de injertos como autoinjertos, homoinjertos, xenoinjertos y aloplásticos para producir un biomaterial cerámico que también hace parte de esta invención.

- 25 La invención también tiene por objeto el biomaterial cerámico que comprende el biocompuesto antes descrito, como vehículo para otras sustancias de regeneración ósea tal como sustancias osteopromotoras del tipo colágeno, aspirado de médula ósea y plasma rico en plaquetas y sustancias osteoinductoras, como por ejemplo, proteínas morfogenéticas entre las que se encuentran factores de crecimiento transformantes beta (TGF- β). Además, el biocompuesto puede
30 actuar como material cementante o de recubrimiento en prótesis endo-óseas.

El biocompuesto de la invención se mantiene a una temperatura de reacción de 20 °C, con un rango de endurecimiento de 7 a 15 minutos, obteniéndose de esta manera una plasticidad que permite su maniobrabilidad "*in situ*" en tiempos de trabajo intra-operatorios muy convenientes para el cirujano.

35

Las cualidades de biocompatibilidad y osteoconducción fueron demostradas en una investigación con un modelo animal (*Oryctolagus cuniculus*) en un defecto de tamaño "crítico" en el hueso ilion, es decir, en preparaciones quirúrgicas de tamaño grande que no cicatrizan espontáneamente a través del tiempo.

5

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Muestra el diagrama de flujo de la metodología utilizada para la obtención del biocompuesto.

10

Figura 2. Muestra los intervalos de pH para diferentes proporciones de formulaciones de β -fosfato tricálcico, óxido de calcio, óxido de zinc, óxido de magnesio y quitosano de acuerdo con la presente invención. La invención se enfocó en mezclas que están dentro del rango de pH fisiológico.

15

Figura 3. Muestra los contornos de los tres componentes de las diferentes mezclas para la fase sólida.

Figura 4. Microfotografía SEM que ilustra una muestra donde el defecto óseo llenado con el biocompuesto de la invención se encuentra casi en su totalidad cerrado por hueso neoformado.

20

Figura 5. Microfotografía SEM que ilustra una muestra control donde el defecto óseo se encuentra invadido por tejido fibroso.

Figura 6. Microfotografía SEM en donde se muestra que el centro del defecto experimental tratado con el biocompuesto de la invención tiene zonas pequeñas en proceso de regeneración. En una de dicha zonas se aprecia un nucleolo de cicatrización (flecha).

25

Figura 7. Microfotografía SEM en donde se observa la no cicatrización ósea, evidenciándose únicamente la formación parcial de lámina cortical media.

30

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

El biocompuesto se basa en la combinación de una fase sólida constituida por β -fosfato tricálcico, óxido de calcio y óxido de zinc que se combinan con una fase líquida compuesta de un polímero natural que es el quitosano. Esta combinación aporta cualidades osteopromotoras.

35

Los compuestos que constituyen la fase sólida, de acuerdo con la presente invención, se encuentran en los siguientes rangos de porcentaje en peso en relación con el peso total de dicha fase sólida:

β -fosfato tricálcico	92% a 96%
Óxido de calcio	2.5% a 6.5%
Óxido de Zinc	0.5% a 3.5%

El procedimiento de producción del biocompuesto consiste en preparar diferentes formulaciones variando el porcentaje de composición de la fase sólida y la fase líquida. Se pesan las cantidades de los componentes de la fase sólida: β -fosfato tricálcico, óxido de calcio y óxido de zinc, se mezclan durante 5 minutos y se deshidratan en un horno microondas. Seguido, se agrega la cantidad necesaria de quitosano y se continúa mezclando hasta obtener una pasta fluida.

La fase sólida es en su mayor proporción β -fosfato tricálcico seco con una pureza mayor del 96 %, los demás componentes utilizados en esta fase deben tener una pureza mayor al 98 %.

La fase líquida está compuesta por gel de quitosano polímero natural obtenido de la cáscara de crustáceos al 2%. El gel de quitosano es el elemento aglutinante del producto de la presente invención y es importante en las características moldeables del material. Teóricamente se puede utilizar quitosano neutro o ácido. En esta invención se utilizó quitosano disuelto en ácido acético, que es la forma como normalmente se emplea.

En la figura 3 se muestran los contornos de la mezcla y se reportan las regiones para las cuales se obtiene el valor de pH objetivo que es 7, así como también las líneas y puntos negros de la región descrita para las muestras experimentales, de acuerdo con la presente invención

Estas pruebas se realizaron a una temperatura de 22 °C y una humedad relativa de 100%. Se midió el valor de pH cuando se combinó la fase sólida y la fase líquida y se tomaron medidas de pH cada minuto, durante 45 minutos a partir del momento en que se obtuvo la mezcla homogénea.

Ejemplos

Se prepararon tres mezclas de acuerdo con la invención cuyas proporciones para la fase sólida son las siguientes:

Mezcla B.C1 (ejemplo 1)	Mezcla B.C3 (ejemplo 2)	Mezcla B.C4 (ejemplo 3)
Fosfato Tricálcico = 96%	Fosfato Tricálcico = 93%	Fosfato Tricálcico = 93%
Oxido De Calcio= 2.5%	óxido de Calcio= 3.5%	óxido de Calcio= 4%
Oxido De Zinc= 1.5%	óxido de Zinc= 3.5%	óxido de Zinc= 3%

En todas ellas se adicionaron 3 g de quitosano como fase líquida.

El proceso para la preparación del biocompuesto de la invención según los ejemplos anteriores comprende las siguientes etapas:

1. Pesar las cantidades de óxido de zinc, óxido de calcio y β -fostato tricálcico;
 - 5 2. Colocar en una mezcladora las cantidades pesadas anteriormente y mezclar durante un periodo de 5 a 15 minutos hasta conseguir una combinación homogénea de los componentes;
 3. Calentar en un horno microondas, la mezcla obtenida en la etapa 2, durante un minuto para su deshidratación;
 - 10 4. Pesar la cantidad de gel de quitosano (fase líquida) y agregar a la mezcla de minerales obtenida en el paso 3;
 5. Mezclar de 2 a 5 minutos los productos de las etapas 3 y 4 en la mezcladora hasta obtener la preparación homogénea.
- 15 El cálculo para las proporciones de los tres componentes de la fase sólida, se realizó mediante un modelo cuadrático y se ilustra en la figura 3, donde se muestran los contornos de la mezcla y las regiones para las cuales se obtiene los valores de pH requeridos para la solicitud. Se encontró de manera sorprendente que las composiciones donde la relación polvo/líquido es de 0.67 tienen características fisicoquímicas adecuadas que permiten su fácil moldeo y un tiempo de fraguado
- 20 conveniente para la aplicación del mismo en cavidades óseas de difícil cicatrización.

El intervalo en el cual puede oscilar la relación fase sólida a fase líquida es de 0.5 hasta 0.9. De mayor preferencia, la relación fase sólida a fase líquida corresponde a 0,67, que de acuerdo con los ejemplos suministrados en la presente descripción, equivale a 2 g de polvo (fase sólida) por 3 g de

25 fase líquida.

Esta proporción es fundamental porque proporciona la consistencia de aplicación necesaria para que el material se mantenga "*in situ*" permitiendo la moldeabilidad y la confrontación de los tejidos sin que se disperse el producto y sin ser afectado por los fluidos corporales. Adicionalmente, la

30 proporción polvo/líquido es importante porque garantiza la resistencia mecánica ideal para soportar la carga realizada por las fuerzas compresivas y tensionales que se generan durante el proceso de la cicatrización.

31

PRUEBAS FISICOQUIMICAS PARA EL BIOCOMPUESTO:

Medición del pH: El pH inducido por las formulaciones de las mezclas se determinó con el pH metro universal (un pH metro Accumetr Basic Ab15/15). Estas pruebas se realizaron a una temperatura de 22°C y una humedad relativa de 100%. Antes de cada medición, el pH metro fue calibrado con disoluciones patrones de pH.

RESISTENCIA A LA COMPRESIÓN

Se determinó el valor máximo al cual el material se desintegra mediante el uso de probetas cuyas dimensiones son de 9 mm de diámetro por 18 mm de largo, en donde las diferentes mezclas del biocompuesto fueron colocadas y luego de su fraguado se aplicó una velocidad de la máquina de 1 mm /min. Se registró que el biocompuesto con diferentes proporciones de acuerdo con la presente invención tiene una tensión de carga entre 2.100 g/cm² (2.1x10⁷ g/m²) y 6.700 g/cm² (6.7x10⁷ g/m²).

PRUEBAS BIOLÓGICAS PARA EL BIOCOMPUESTO

Para el estudio se emplearon conejos New Zealand machos de 4 meses de edad y con un promedio de peso de 4.200 gramos. Se distribuyeron 13 animales en dos grupos: el primero con 8 animales para estudios histomorfométricos y el segundo grupo de 5 animales para la realización del análisis con microscopia electrónica.

En los animales se realizó una incisión por la cara lateral de la prominencia derecha y se realizó un defecto quirúrgico de 6 mm de diámetro por 3 mm de profundidad con una fresa trefina y fisiodispenser Novoug para implantación ósea. Se preparó el biocompuesto de la invención, se colocó in situ y se cerraron los tejidos por planos con material reabsorbible. Se procedió de la misma forma en el lado izquierdo pero dejándose el defecto vacío. Se permitió la cicatrización por 60 días teniendo en cuenta que el proceso de remodelación ósea en conejos es de 45 días.

Después de los 60 días, los animales fueron sacrificados y se recolectaron las muestras mediante el corte de los fragmentos de cadera donde estaban ubicadas las preparaciones quirúrgicas. Se seleccionaron de manera aleatoria 8 muestras dobles (experimental y control) para los estudios histomorfométricos y 5 muestras dobles para estudios de microscopía electrónica.

Los estudios histomorfométricos mostraron diferencias significativas en la histodinámica de formación ósea entre los dos grupos, los resultados mostraron un llenado del 100 % en hueso

maduro y remodelación histológica después de sesenta días en el grupo tratado con el biocompuesto de la invención, a diferencia del grupo control donde sólo hubo llenado parcial del defecto en un 25 % de los casos y sin evidencia de remodelación ósea.

- 5 Por su parte, los estudios de microscopía electrónica ratifican lo obtenido en el estudio de histomorfometría, ya que evidencian la existencia de diferencias estadísticamente significativas en la formación de hueso entre el grupo experimental tratado con el biocompuesto de la invención y el grupo control.
- 10 En las figuras 4 y 6 se puede observar que la aplicación del biocompuesto de la invención ayuda a la formación ósea en el defecto experimental creado, lo cual evidencia una propiedad osteopromotora del biocompuesto de la invención, a diferencia de lo mostrado en las figuras 5 y 7 correspondientes al grupo control, donde se observa que el defecto es invadido por tejido fibroso sin la formación de hueso nuevo.

REIVINDICACIONES

1. Un biocompuesto cerámico para re-generación ósea que estimula la formación y el aumento
5 del volumen óseo, caracterizado porque comprende:

a) una fase sólida que comprende:

i) entre 92% a 96% de β -fosfato tricálcico en relación con el peso de la fase
sólida total;

10 ii) entre 2.5% a 6.5% de óxido de calcio en relación con el peso total de la
fase sólida; y

iii) entre 0.5% a 3.5% de óxido de zinc en relación con el peso total de la
fase sólida; y

b) una fase líquida que comprende quitosano;

en donde la relación fase sólida a fase líquida oscila desde 0.5 hasta 0.9

15

2. El biocompuesto cerámico de conformidad con la reivindicación 1 caracterizado porque la
relación fase sólida a fase líquida es de 0.67.

3. Un biomaterial cerámico caracterizado porque comprende un biocompuesto de conformidad
20 con la reivindicación 1 ó 2 en combinación con un injerto seleccionado del grupo que consiste de
autoinjertos, homoinjertos, xenoinjertos y aloplásticos.

4. Un biomaterial cerámico caracterizado porque comprende un biocompuesto de conformidad
con la reivindicación 1 ó 2 en combinación con sustancias osteopromotoras tal como colágeno,
25 aspirado de médula ósea y plasma rico en plaquetas o con sustancias osteoinductores tal como
proteínas morfogenéticas.

METODOLOGIA PARA LA MEZCLA DEL BIOCOMPUESTO

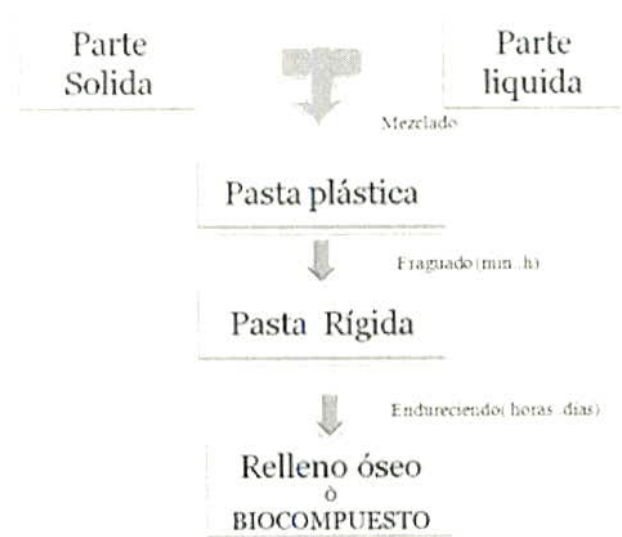


FIGURA 1

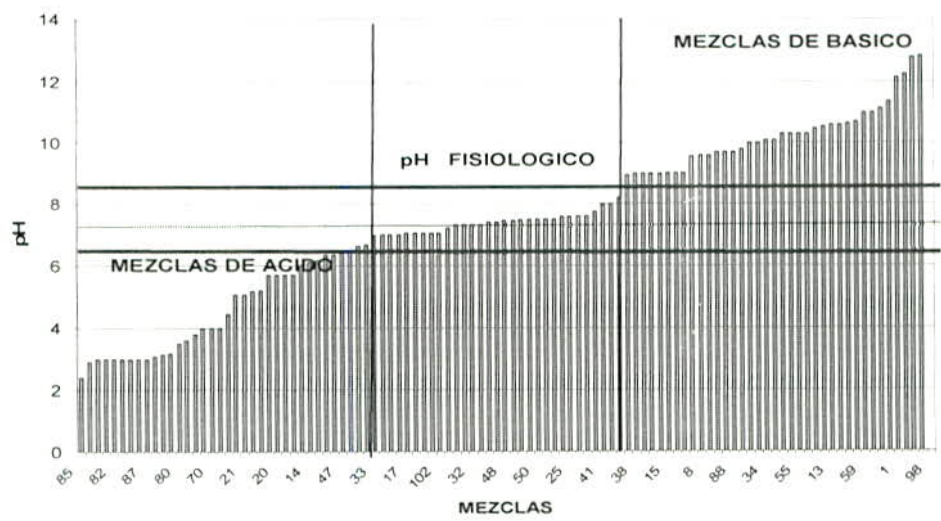
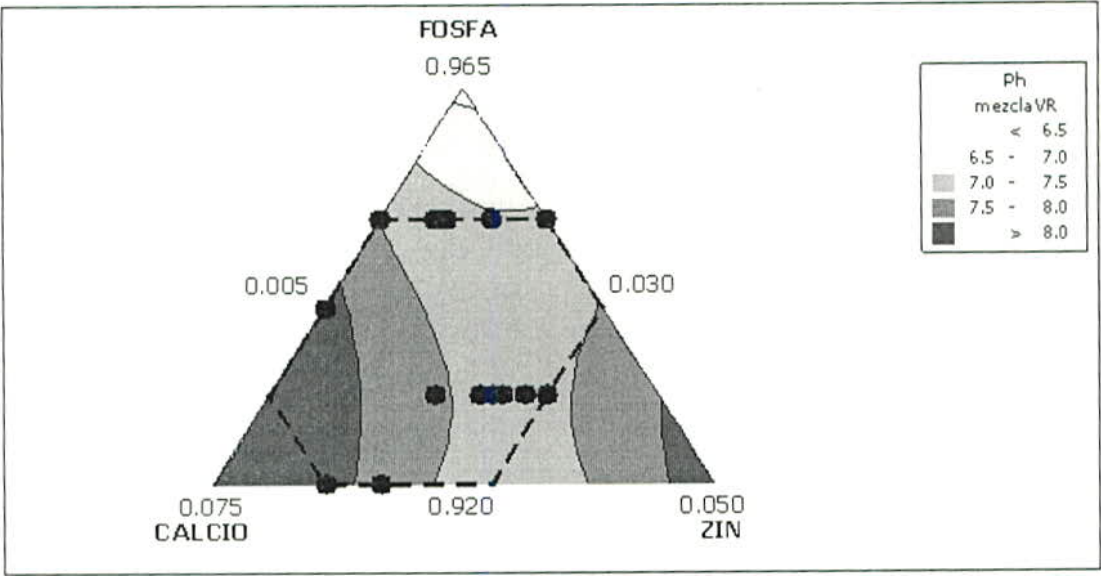


FIGURA 2

3/7



5

FIGURA 3

10

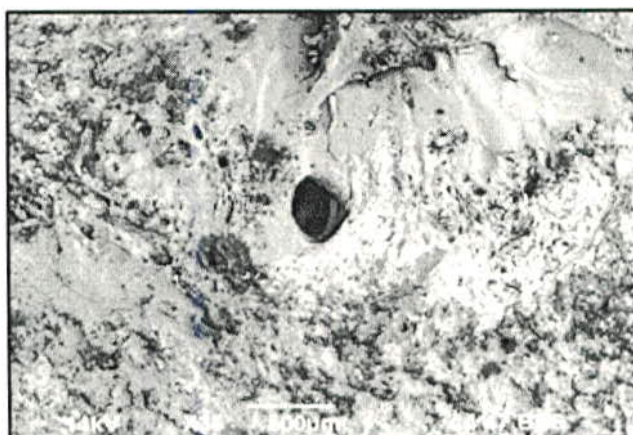
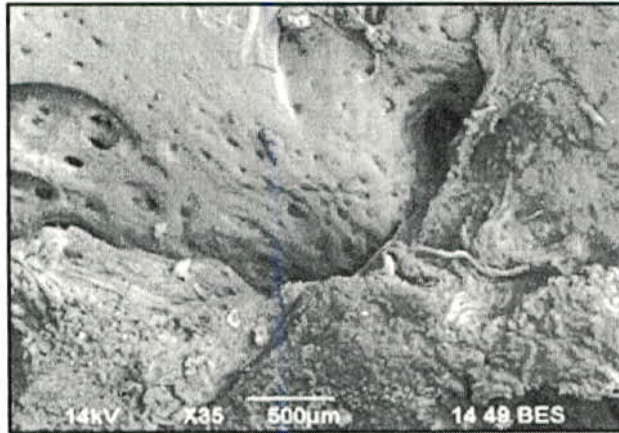


FIGURA 4



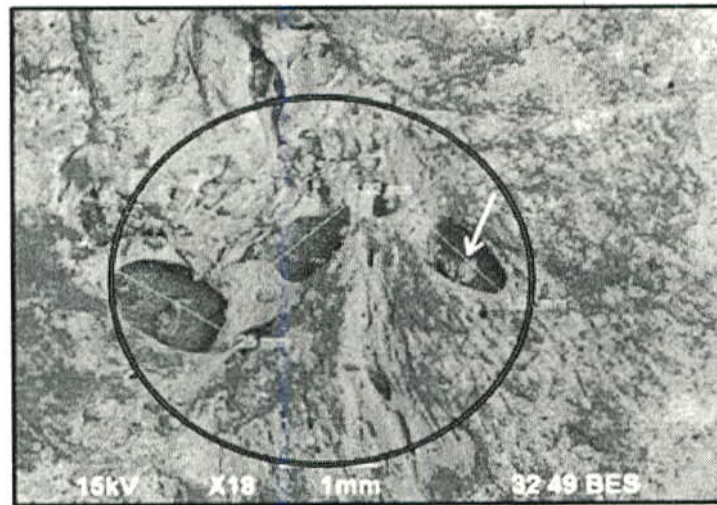


FIGURA 6

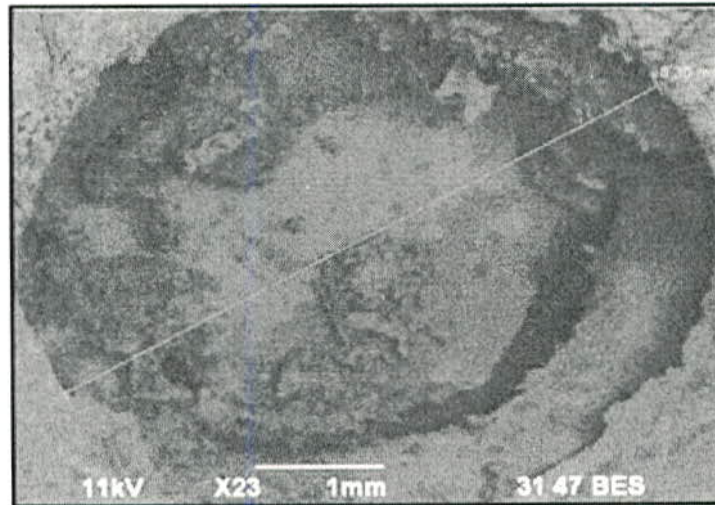


FIGURA 7