

## **DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE PROTOTIPOS DE SUSTITUTOS ÓSEOS ACELULARES GENERADOS POR BIOINGENIERÍA DE TEJIDOS PARA RESOLUCIÓN DE LESIONES CRÍTICAS DE HUESO Y OSTEOGÉNESIS**

### *DEVELOPMENT AND EVALUATION OF PROTOTYPES OF ACELLULAR BONE SUBSTITUTES GENERATED BY TISSUE BIOENGINEERING FOR RESOLUTION OF CRITICAL BONE LESIONS AND GUIDED OSTEOGENESIS*

Investigadores USAL: Kokubu, Gabriel Adrián (gabriel.kokubu@usal.edu.ar); Leirós, Gustavo J.;  
López Ferrucci, María Débora; Balañá, María Eugenia.

Investigadores externos: Mandalunis, Patricia Mónica; Kokubu, Sabrina; Hagelin, Karin;  
Montaner, Alejandro Daniel; Alumno practicante USAL: Mahmoudian, Nima.

**Palabras clave:** Osteogénesis; Regeneración ósea; Bioingeniería de tejidos; Moléculas osteoinducto-  
ras; Sustitutos óseos.

**Keywords:** *Osteogenesis; bone regeneration; tissue bioengineerin;, osteoinductive molecules; bone  
substitutes*

#### **Resumen**

Los injertos de hueso autólogo (hueso del propio paciente) u homólogo (hueso de donante humano cadavérico) son alternativas terapéuticas en casos de pérdida de tejido óseo, dado que proveen a la lesión de células osteogénicas y factores osteoinductivos y osteogénicos. Sin embargo, estas estrategias terapéuticas tienen limitaciones: los injertos de tejido óseo homólogo puedan transmitir enfermedades infecciosas y la utilización de hueso autólogo (que normalmente se toma de cresta ilíaca) genera, por un lado, una nueva herida cruenta, con la morbilidad asociada, y por otro puede no resultar suficiente. Es decir que estas limitaciones los hacen inaplicables en ciertos casos. La utilización de implantes metálicos o cerámicos exhiben una pobre integración, entre otros inconvenientes. Por ello, es necesario desarrollar nuevas estrategias que permitan generar sustitutos óseos por bioingeniería, lo cual implica contar con una matriz, biocompatible, reabsorbible, con una porosidad y tamaño de poro que permitan la invasión celular y la libre difusión de nutrientes, desechos y gases, y que además sean osteoinductivos y osteoconductivos. El objetivo del presente proyecto es la generación de un sustituto óseo libre de células a través del uso de matrices de colágeno cargadas con BMP-2, IMT-504 o una combinación de ambos que permita la regeneración ósea en lesiones críticas de hueso en un modelo de calota de rata. También se propone evaluar estas construcciones con un molde de nanocelulosa como retardador de fibrosis en un modelo de osteogénesis guiada en calota de rata. En el caso de regeneración ósea, se ensayaron 4 grupos experimentales (Membrana Hellitape + BMP-2, Membrana Hellitape + ODN IMT-504, Hellitape + BMP-2 + ODN IMT-504, Esponja BIOPAD + ODN IMT-504), 2 controles de membranas (Hellitape Control y BIOPAD Control) y un control de lesión sin injerto (Control absoluto). Los estu-

dios radiográficos a 10 días no mostraron diferencias significativas en el cierre de la herida entre los distintos grupos. 40 días poscirugía, todos los grupos mostraron una disminución significativa de la lesión respecto a los 10 días. Si comparamos los tratamientos a 40 días, solo el grupo Hellitape-BMP2, y su control, mostraron un mejor cierre de lesión que el control absoluto. Por el contrario, la presencia del ODN IMT-504 empeoró el cierre de la herida respecto del grupo control Hellitape. Este efecto fue parcialmente revertido por BMP2 en el grupo Hellitape BMP2+ODN

IMT504. El grupo BIOPAD + ODN IMT-504 y su Control BIOPAD mostraron resultados similares al control absoluto. Esto parece mostrar que BMP2 mejora el cierre de la herida, mientras que el ODN IMT-504 mostraría el efecto contrario. Los estudios histológicos mostraron que la presencia de BMP-2 incrementó notablemente la performance de la matriz, mejorando posiblemente el efecto osteoconductor y osteoinductor. La presencia de hueso nuevo fue continua y de estructura más ordenada a lo largo de la lesión, comparada con el control absoluto, que solo mostró formación de hueso nuevo en los bordes, y respecto del control Hellitape, que mostró “islas” de hueso nuevo. Por último, el ODN IMT-504 mostró una peor regeneración ósea que el control absoluto, posiblemente debido a un efecto antiinflamatorio en su aplicación tópica.

### **Abstract**

*Bone injury repair recapitulates the ontogenetic process. Autologous or homologous bone grafts are therapeutic alternatives in cases of bone tissue loss since they provide the injury area with osteogenic cells and osteoinductive and osteogenic factors. Nevertheless, both of them have limitations, making them inapplicable in certain cases. Therefore, it is necessary to develop new strategies that allow the generation of bone substitutes by bioengineering, which implies having a biocompatible and resorbable matrix, with a porosity and pore size that allows cell invasion and free diffusion of nutrients, waste and gases, and they also need to be osteoinductive and osteoconductive. The objective of the current project is to generate a cell-free bone substitute using collagen matrices loaded with BMP-2, IMT-504 or a combination of both that allow bone regeneration in critical bone lesions in a rat calvaria model. It is also proposed to evaluate these constructs with a nanocellulose template as a fibrosis retarder in a guided osteogenesis model in rat calvaria. In bone regeneration trials, 4 experimental groups were examined (Hellitape Membrane + BMP-2, Hellitape Membrane + ODN IMT-504, Hellitape Membrane + BMP-2 + ODN IMT-504, BIOPAD Sponge + ODN IMT-504), 2 membrane control groups (Hellitape Control and BIOPAD Control) and a control with no treated lesion (Absolute Control). Radiographic studies performed 10 days after surgery did not show significant differences in wound closure between the different groups. 40 days post-surgery, all groups showed a significant decrease in the lesion area compared to 10 days post-surgery. When we compared the lesion areas 40 days after surgery, only the Hellitape-BMP2 group, and its membrane control, showed a better lesion closure than the absolute control. In contrast, the presence of ODN IMT-504 worsened wound closure compared to the Hellitape control group. This effect was partially reversed by BMP2 in the Hellitape BMP2 + ODN IMT504 group. The BIOPAD + ODN IMT-504 group and its BIOPAD Control showed similar results to the absolute control. This seems to show that BMP2 improves wound closure, while ODN IMT-504 would show the opposite effect. Histological studies showed that the presence of BMP-2 significantly increased matrix performance, possibly improving the osteoconductive and osteoinductive effect. The presence of new bone was continuous and with a more orderly structure throughout the lesion, compared to the absolute control that only showed new bone formation at the edges, and compared to the Hellitape control that showed only “islands” of new bone. Finally, ODN IMT-504 showed worse bone regeneration than absolute control, possibly due to an anti-inflammatory effect in its topical application*