



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**SISTEMAS DE LIBERACIÓN EN  
IMPLANTES ÓSEOS**

Autor: Noelia Magán Díaz

Tutor: Paloma Marina de la Torre Iglesias

Convocatoria: Junio 2018

# INDICE

## **1. RESUMEN**

## **2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES**

2.1 Anatomía del hueso.

2.2 Tipos de enfermedades que afectan al hueso.

2.3 La importancia de los implantes óseos.

## **3. OBJETIVOS**

## **4. METODOLOGÍA**

## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

5.1 Tipos de biomateriales utilizados en implantes óseos.

5.2 Biomateriales como sistemas de liberación locales de distintas sustancias activas.

5.2 Aplicaciones de implantes como sistemas de liberación utilizados para enfermedades óseas más comunes: osteoporosis, osteomielitis y osteosarcoma.

## **6. CONCLUSIONES**

## **7. BIBLIOGRAFÍA**

## 1.-Resumen

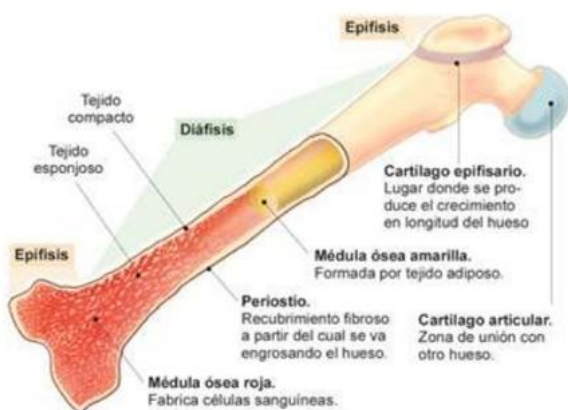
El esqueleto es una estructura dinámica construida por huesos, que soporta y protege a los órganos blandos, además de ser el punto de apoyo de la mayoría de los músculos esqueléticos. La formación y mantenimiento del hueso depende de una serie de acciones coordinadas por células y por determinadas moléculas que garantizan el proceso de formación y resorción del hueso llevado a cabo por los osteoblastos y osteoclastos respectivamente. Un fallo en este mecanismo genera una serie de enfermedades como la osteomielitis, osteosarcoma u osteoporosis entre otras, que pueden subsanarse llevando a cabo una intervención quirúrgica para incorporar el implante. Antiguamente, los implantes más empleados fueron los autólogos, procedentes de otro hueso del mismo paciente, pero pese a la complicada intervención que debía llevarse a cabo, se fue investigando hasta que se descubrieron los implantes biodegradables. El objetivo era que se llevase a cabo una degradación gradual del implante y que se formase el hueso sobre el mismo, además de que se liberase el fármaco que albergaba en su interior. Existen muchos estudios sobre implantes que a continuación se detallarán pero a día de hoy, todavía no se ha conseguido descubrir un implante con las mismas características que un implante autólogo.

## 2.- Introducción y Antecedentes

El esqueleto es una estructura dinámica construida por huesos, soporta y protege a los órganos blandos y además es el punto de apoyo de la mayoría de músculos esqueléticos. Esta estructura favorece el movimiento junto con los músculos y es el encargado de llevar a cabo la homeostasis de minerales y la producción de células sanguíneas en la médula ósea roja, donde se produce la hematopoyesis para producir glóbulos rojos, blancos y plaquetas

Cada hueso puede ser considerado como un órgano, ya que está formado por diversos tejidos como el tejido óseo, cartilaginoso, conectivo, epitelial, adiposo y nervioso.

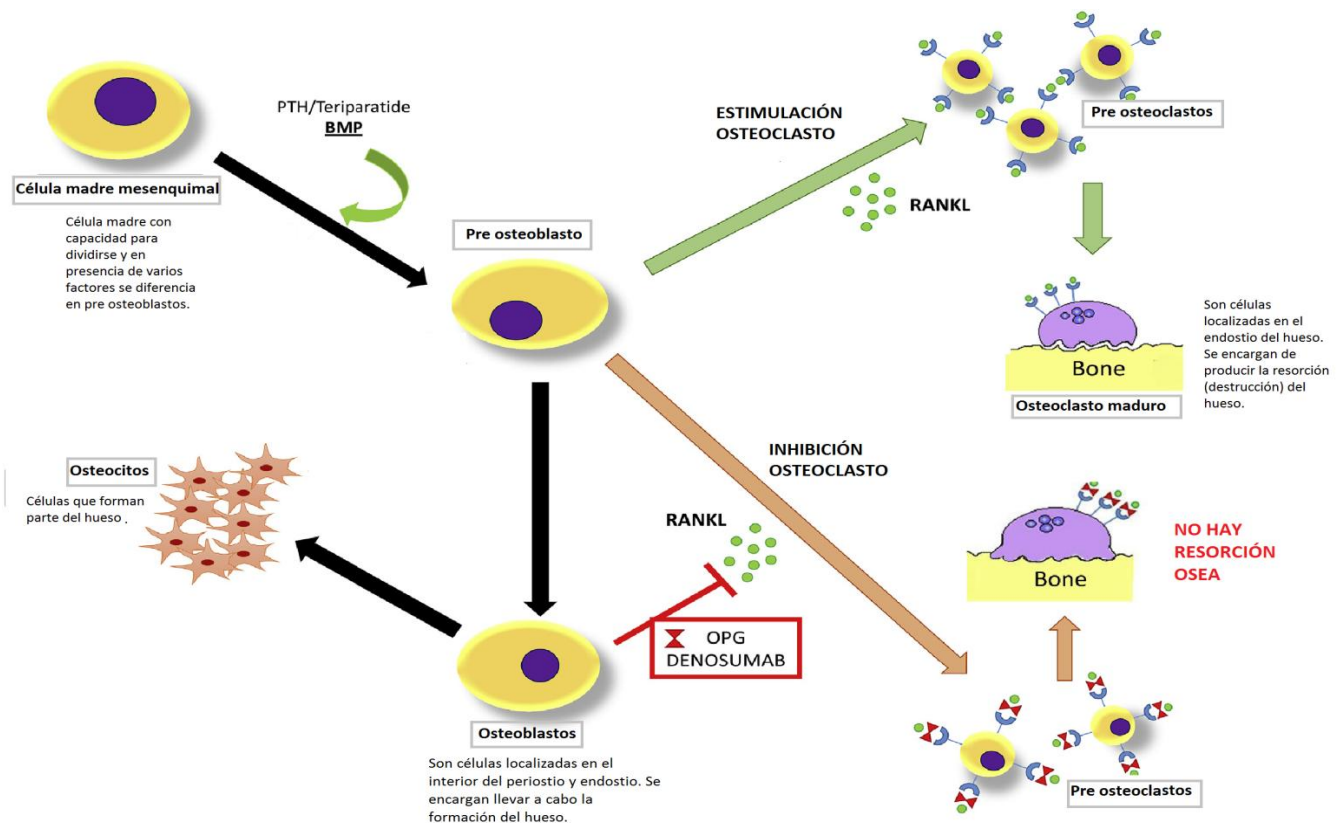
### 2.1 Anatomía del hueso.



El esqueleto está formado por varios tipos de huesos que se pueden clasificar según su forma, como por ejemplo: los huesos largos, cortos, etc. Los huesos largos constan de varias partes: diáfisis, epífisis, metáfisis, cartílago articular, periostio, cavidad medular y endostio. Todas estas partes vienen detalladas a continuación en la figura 1.

Figura 1: partes del hueso detalladas (1).

El hueso está formado por un tejido óseo, que a su vez, está formado por una matriz orgánica (25%), formada por colágeno de tipo 1 y el resto está formado por un medio gelatinoso homogéneo conocido como sustancia fundamental, compuesta por un líquido extracelular, condroitín sulfato y ácido hialurónico, cuya función es ayudar a controlar el depósito de sales de calcio. Tiene una matriz inorgánica (60-70%) formada por hidroxapatita deficiente en Calcio ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) en una concentración elevada (65-70%) y presenta un contenido celular en torno a un 1-2%. Además este tejido también presenta una pequeña cantidad de agua (5-8%) (2)



Esquema 1; proceso de diferenciación de las células.

La formación y mantenimiento del hueso depende de acciones coordinadas por distintos acciones donde van a intervenir los osteoclastos, osteoblastos y osteocitos. El proceso de regeneración ósea comienza con un proceso de resorción por parte de los osteoclastos y a continuación, en los huecos que van quedando, se introducen los osteoblastos y regeneran la matriz. Por tanto, estos mecanismos van emparejados y este balance es llevado a cabo por los factores liberados. En el esquema 1 se muestra el proceso de diferenciación y formación del hueso. Las células mesenquimales del hueso conocidas como células madre presentan una capacidad para dividirse. Estas células en presencia de unos factores como la BMP (proteína morfogénica), entre otros, favorece la diferenciación a pre-osteoblastos, los cuales se diferencian a osteoblastos que son las células encargadas de llevar a cabo la formación de hueso. Estas células, cuando llevan a cabo su

acción, se transforman en osteocitos, los cuales son células maduras que forman parte del nuevo tejido óseo. Por otro lado tenemos que la estimulación osteoclástica, Por otro lado, tenemos la estimulación osteoclástica; es decir, para que se desencadene el proceso de resorción ósea. En este proceso intervienen varios componentes entre ellos encontramos el RANKL (es el ligando de unión a RANK que está localizado en la membrana de los pre-osteoclastos). Cuando se produce la unión entre ambos se desencadena una cascada de señales que conlleva a la maduración del osteoclasto y se inicia el proceso de resorción. Por otro lado cuando está estimulado el proceso de regeneración del hueso, los osteoblastos secretan al medio un receptor conocido como osteoprotegerina (OPG) la cual interacciona con RANKL y por tanto inhibiendo el proceso de maduración. Existe un fármaco (denosumab) para el tratamiento de la osteoporosis que presenta el mismo mecanismo de acción. (3)

## 2.2 Tipos de enfermedades que afectan al hueso.

Por tanto, un desorden en el hueso puede causar serios problemas de morbilidad, complicaciones o incluso, la muerte. Las enfermedades que más comunmente pueden afectar a la estructura ósea son: la osteoporosis, las osteomielitis y cáncer de huesos entre las más importantes.

La osteomielitis consiste en una infección ósea causada por bacterias u hongos. Las bacterias u otros microorganismo pueden propagarse a un hueso desde la piel, músculo o tendones infectados, o bien, puede iniciarse en otra parte del cuerpo y propagarse al hueso a través de la sangre, o lo más común, es cuando se desencadena después de la cirugía (colocación de varillas o placas en el hueso → en este caso lo mejor es retirar las placas metálicas y colocar un implante con un antibiótico). El objetivo de los tratamientos en este tipo de patología es detener la infección y reducir el daño tanto del hueso afectado, como de los tejidos circundantes, por tanto se va a llevar a cabo un tratamiento con antibióticos por vía intravenosa. Hay veces en las que la infección no se puede controlar y en ese caso puede que tengamos que intervenir de nuevo para retirar la placa metálica que hemos incorporado y en ese espacio podemos incorporar una prótesis ósea, con un material biodegradable que estimula el crecimiento del hueso, y que además lleve un antibiótico que se libere progresivamente. (4)

Por otro lado, tenemos la osteoporosis, una enfermedad muy prevalente que afecta a un gran número de mujeres postmenopáusicas, caracterizada por un descenso de la densidad ósea, lo que conlleva a una fragilidad y mayor sensibilidad para la fractura. Es causada por una desproporción entre la osteogénesis y la resorción ósea que resulta de la deficiencia de estrógenos en el periodo

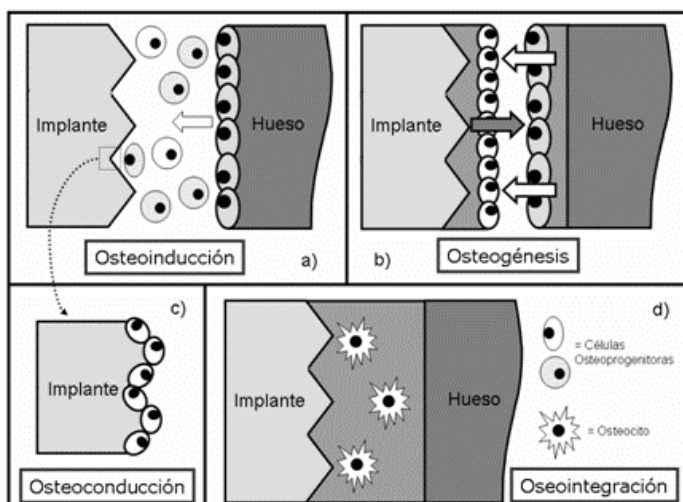
postmenopáusico. Determinados estudios aseguran que el uso de un *scaffold* (andamiaje) presenta buenos efectos terapéuticos y posteriormente lo desarrollaremos. (5)

Y por último, debemos hacer una pequeña mención al osteosarcoma, es un tipo poco común de tumor óseo. Este tipo de cáncer es de causa desconocida, en algunos casos se piensa que puede ser hereditario. (6)

### 2.3 La importancia de implantes óseos.

La regeneración exitosa no siempre se consigue y por tanto supone un defecto óseo que debe ser subsanado con un implante. El sistema estándar utilizado anteriormente para solucionar este injerto era el conocido como autoinjeto (injerto autólogo, proveniente del mismo paciente, concretamente de la cresta ilíaca, tibia, mandíbula o bien del cráneo), pero se vió que este proceso tenía varias desventajas, como una limitada capacidad del tejido, además de unas molestias en el mismo, asimismo este tipo de implantes están asociados con operaciones quirúrgicas de alto riesgo y morbilidad. Existen otros tipos de implantes óseos como el homogéneo donde el implante procede del cadáver humano, el implante heterogéneo donde se obtiene el hueso de una especie que es diferente a la humana (requieren una esterilización y desactivación de proteínas). (7)

Según Tatay et al., 2008 (8) existen tres características fundamentales que va a presentar un implante: la osteoconducción, donde las células formadoras de hueso colonizan la superficie del implante y actúan en forma de guía; esta propiedad la presentan los autoinjertos, los homoinjertos, hidroxiapatita, fosfato de calcio y colágeno; la osteoinducción, cuando tenemos determinados factores que promueven la diferenciación de las células madre a células osteoprogenitoras; esta característica la presentan las DMB<sup>1</sup>, y las proteínas ósea morfogénica (BMP) y osteogénesis, que



se puede realizar a distancia, donde el tejido óseo se produce desde la superficie del hueso circudante o bien de contacto donde la formación de tejido óseo se produce desde la superficie del implante; esta propiedad solo se encuentra en un injerto óseo autólogo o bien el de las células de la médula ósea.

Estas características se muestran en la figura 2. Estos últimos sistemas son sólo **osteoconductivos**, teniendo en cuenta que estos implantes son combinados con las células del propio paciente o

Figura 2: Propiedades de los implantes óseos: osteoconducción, osteoinducción y osteogénesis. (9).

<sup>1</sup> DMB: Matrices óseas desmineralizadas

con factores de crecimiento (como las proteínas morfogénicas del hueso entre otros).

Pero este tipo de implantes presentan unas desventajas, que promovieron la aparición de sistemas de liberación locales que combinan biomateriales osteoconductivos (con el fin de que se vaya favoreciendo la generación del hueso, por la zona necesaria a través de la diferenciación celular en osteoblastos activos, estos son del tipo de la hidroxiapatita, vidrios bioactivos, fosfato tricálcico o polímeros) y componentes osteoinductivos (para que se estimule la producción de hueso) como hormonas, factores de crecimiento u otros fármacos más concretos que traten de reemplazar las necesidades de un trasplante autólogo.

Pese al intenso descubrimiento en esta área, no existe a día de hoy un sistema que mimetice exactamente las funciones biológicas como lo hace un implante autólogo como señala Martín et al., 2018 (7). A pesar de ello, este tipo de sistemas son muy ventajosos, ya que favorecen la regeneración del hueso, concentra la dosis de fármaco en el lugar de acción, haciendo que se disminuyan los efectos sistémicos, asimismo este tipo de sistemas reducen el tiempo de cirugía y mejoran el pronóstico del paciente. Por estas ventajas, este tipo de terapias son las más utilizadas, por ello es necesario seguir investigando sobre este tipo de sistemas.

### **3.- Objetivos**

Con este trabajo quiero mostrar los tipos de sistemas de liberación en implantes empleados para la regeneración ósea, así como el tipo de fármacos que se usan en estos sistemas para tratar las patologías más frecuentes que afectan al hueso. Por ello, se explicarán a continuación los tipos de sistemas de liberación que existen en función del tipo de patología que se quiera tratar, además de sus principales ventajas e inconvenientes.

### **4.- Metodología**

Se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica respondiendo a la premisa “a día de hoy, ¿qué avances se están llevando a cabo en la aplicación de fármacos de liberación modificada en los implantes óseos? Además de conocer que fármacos de liberación modificada en los implantes óseos se están empleando para tratar las enfermedades óseas”. Para responder a esta pregunta se han usado palabras clave en español tales como: liberación modificada, implantes óseos, osteoporosis, osteosarcoma, osteomielitis y en inglés; drug, delivery, bone implant, infection, cancer, osteoporosis, modified en bases de datos como PubMed, Science Direct, Google Scholar, Medline.

Los criterios de inclusión que se establecieron fueron la selección de artículos con menos de 10 años de antigüedad, publicaciones tipo “review” o revisiones y que sean publicaciones en medios conocidos por la comunidad farmacéutica.

## **5.- Resultados y Discusión**

### 5.1 Biomateriales utilizados en implantes óseos.

Para llevar a cabo la elaboración de un implante lo primero que requiere es un vehículo que contenga la sustancia activa que queremos liberar. Este vehículo es conocido como *scaffold* o andamio y se encarga de liberar el principio activo lentamente para favorecer la formación del hueso. Según Tatay et al., 2008 (8) según el tipo de defecto que presentemos vamos a necesitar unas características u otras, es decir en el caso de que se haya producido un defecto óseo emplearemos materiales puramente osteoinductivos.

Dentro de los sistemas de liberación que podemos emplear tenemos los no biodegradables los cuales pueden causar varios efectos adversos a la larga, por ejemplo la aparición de biofilms de bacterias (lo que supone una migración y una infección secundaria en otra zona); por otro lado, algunos antibióticos en los que el proceso de encapsulación es muy complejo y además es necesario volver a intervenir para retirar el implante (en algunas ocasiones). Para subsanar los efectos adversos que presentan los primeros tipos de implantes, han surgido los biodegradables, los cuales presentan una mayor biocompatibilidad y una mejor resorción ósea, además no es necesario volver a someterse a una operación para retirar la prótesis. Asimismo, según Catelas et al., 2006 (10) dijeron que este tipo de sistemas biodegradables tenían mejor potencia osteogénica y mayor flexibilidad lo que mejoraba el proceso de osteogénesis. Por otro lado, al ser materiales biodegradables, cuanto mayor sea la capacidad de disolución del material, más fácilmente se formará hidroxiapatita en la superficie del implante y por tanto mayor bioactividad presentará. Estos materiales pueden degradarse por dos mecanismos o bien se puede llevar a cabo una resorción ósea mediada por los osteoclastos (secretan una sustancia ácida junto con anhidrasa carbónica la cual va degradando) o bien se puede llevar a cabo por una disolución, la cual está condicionada por la solubilidad, superficie, porosidad, el grado de pureza,... En este trabajo nos vamos a centrar más en profundidad en los sistemas de liberación para regeneración ósea que sean biodegradables. (11)

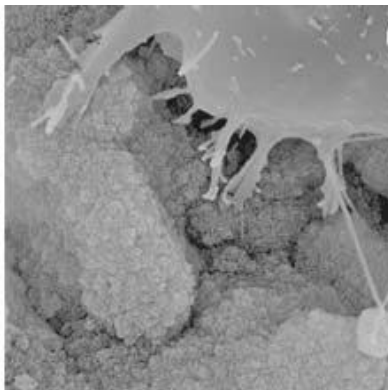
Pese a las ventajas que presentan, estos sistemas presentan además una serie de desventajas como por ejemplo; las propiedades físicas se han visto que son menores (para conseguir una buena resistencia es necesario que los implantes tengan un mayor grosor); no existe una visualización del



material en las placas radiográficas, tienen buena cobertura en las partes blandas (lo que altera su degradación obligando en algunos casos a su retirada); el coste de estos sistemas reabsorbibles es 2 – 3 veces superior a la osteosíntesis en los sistemas de titanio y la versatilidad de los sistemas de osteosíntesis.

Estos andamiajes en 3D pueden estar basado en PLA, PGA o PLGA, han sido usados desde la antigüedad para liberar factores de crecimiento como el BMP-2 entre otros, pero para promover la regeneración ósea tenemos otros materiales como cerámicas fosfatocálcicas, hidroxiapatita, ... han sido usados por su procesabilidad y buenas propiedades. Hay algunas que pueden presentar características inmunogénicas como la poliacrilamida (12), pero todos ellos son productos biocompatibles y no deben de dar ningún tipo de “rechazo” en el organismo. Dentro de los distintos tipos de biomateriales encontramos los siguientes (8):

- Cerámicas fosfatocálcicas (hidroxiapatita y  $\beta$ - tricálcico fosfato o  $\beta$ -TCP): se considera un grupo con una composición mineral muy similar al hueso. La porosidad de este grupo está en torno al 30–45 %.



Un aspecto muy importante es que el proceso de colonización comienza a las 2 – 3 semanas por ello el proceso de resorción del implante no debe ser excesivamente rápido, para permitir la colonización de los macroporos por células mesenquimales que permitan la regeneración ósea. Se caracterizan porque son materiales que tienen baja integridad estructural, poca resistencia por tanto son muy similares a los implantes autólogos. Un estudio llevado a cabo por Bruder et al., en 1998

*Figura 3: Observamos la presencia de un osteoblasto estableciendo interacciones con la superficie de un implante de hidroxiapatita. (SEM). (13)*

demonstró que ambas cerámicas mostraban cambios en su estructura y no existe resorción después de las 16 semanas tras su implantación. Dentro de este grupo encontramos

dos compuestos:

- Hidroxiapatita: su relación Ca/P es de 1.67, la limitación de este biomaterial radica en su baja tasa de resorción lo que hace que la integración del injerto sea tardía. Por otro lado la estructura porosa de la hidroxiapatita aporta un ambiente mecánico local idóneo para formar el hueso, además podemos observar en la figura 3, su buena interacción con los osteoblastos.
- Fosfato tricálcico: la relación Ca/P es de 1.5, donde aproximadamente un 39% es calcio y un 20% es fósforo. Permite la resorción por los osteoclastos gracias al tamaño de los poros además de favorecer la formación de nuevo hueso.

- Cementos fosfocálcicos; consisten en cementos formados por una combinación de fosfato monocálcico, carbonato de calcio,  $\alpha$  fosfato tricálcico en polvo y una solución de fosfato sódico. Este preparado ofrece una escasa resistencia ante fuerzas mecánicas por otro lado, en cuanto a composición química y cristalinidad son similares a la fase mineral del hueso (*in vivo* presenta los mismos procesos de remodelación que el hueso normal). Una diferencia de estos con las cerámicas es que, en estos al ser una estructura más inestable, el proceso de diferenciación de los osteoblastos no se lleva a cabo en el material además de que la progresión ósea se realiza desde la periferia mientras que en las cerámicas se lleva a cabo de forma centrífuga. Presenta poros pequeños por tanto no actúa realmente como osteoconductor.
- Sulfato de calcio; durante el proceso de formación de este producto se lleva a cabo una reacción química donde el proceso de formación de los cristales sucede al azar, por tanto, conlleva una variabilidad en cuanto a propiedades químicas, porosidad y solubilidad. Este compuesto se disuelve rápidamente a pH neutro sirviendo de fuente de iones de calcio que incorporarán al hueso (que depende de la existencia de hueso cerca del implante). El proceso de resorción se lleva a cabo entre 30-60 días. La ventaja de este producto es que tiene ventajas frente a otros vehículos de antibióticos ya que al ser biodegradable evita una posible infección nueva.
- Colágeno; compuesto de colágeno fibrilar (de tipo I mayormente y en menor proporción de tipo III) suspendido y una cerámica fosfocálcica (65% hidroxiapatita y 35%  $\beta$ -TCP) en proporción 1:1. Esta combinación incrementa la incorporación del injerto de manera significativa pero no ofrece una integridad estructural. Lo más usado son las esponjas de colágeno que están formadas por fibras de colágeno recubiertas por hidroxiapatita.

## 5.2 Biomateriales como sistemas de liberación local de distintas sustancias activas:

Diferentes estudios han comprobado que el uso de diversos biomateriales como composites (compuestos), cerámicas, polímeros y metales ligados con diferentes compuestos biológicos, tales como hormonas, factores de crecimiento o diversos principios activos han dado buenos resultados a la hora de resolver los defectos óseos causados por diversas circunstancias. La afinidad del biomaterial depende de la estructura, por ejemplo la hidrofobicidad, hidrofilia, existencia de carga o la presencia de un grupo funcional puede afectar a su interacción con el biomaterial además de influir en las cinéticas de liberación. Por ello a continuación se detallan los distintos tipos de principios activos o bien compuestos biológicos que pueden liberarse lentamente en los implantes.

- Factores de crecimiento; dentro de este grupo las más importantes son las proteínas morfogénicas del hueso (BMP) que son extraídas de la matriz del mismo conocidas como las proteínas morfogénicas extraídas de la matriz del hueso. Estas proteínas son transformadas a partir del factor TGF- $\beta$ . De esta gran familia las más estudiadas son las BMP-2, BMP-3, BMP-4 y BMP-7. El mecanismo de acción de estas proteínas se unirse al receptor específico de BMP y este receptor participa en la regulación de la expresión del gen RUNx2, que presenta acción osteoblastogénica, además de que participan en otras vías importantes como la ruta de la p38/MAPK. Por otro lado la BMP-2 puede ocasionar severos edemas, puede generar una no deseada formación ectópica de hueso o incluso incrementar el riesgo de cáncer (14), pero se ha visto que este tipo de desventajas se debe al vehículo desde donde se libera, por ejemplo en una estructura de esponja de colágeno absorbible puede producir un incremento de reacciones adversas debido a una brusca liberación. Un estudio farmacocinético y termodinámico reveló que la unión de BMP-2 al colágeno era pH dependiente de tal forma que un cambio en el pH podría liberar este factor de crecimiento y promover así la regeneración ósea (15). En este estudio se muestra como un cambio de pH de ácido a neutro genera un cambio en la conformación de rhBMP-2 (BMP-2 recombinante) y produciéndose así la agregación al tejido. Se han llevado a cabo varios estudios con este tipo de moléculas y en algunos casos la acción de éstos están probados *in vitro*, los diferentes estudios se muestran en la *tabla 1* que vemos a continuación:

*Tabla 1: distintos estudios sobre implantes para liberar factores de crecimiento*

<b>Estudio</b>	<b>Sistema de liberación</b>	<b>Observaciones</b>
Lee et al. 2015 (16)	Andamio compuesto de BCPC (colágeno basado en un composite de fosfato cálcico bifásico) + BMP-2. Andamio compuesto por BCP (fosfato cálcico bifásico) + BMP-2.	<i>In vitro</i> se vió que la liberación era mucho más constante y lenta en BCPC (el efecto era más deseable para estimular la regeneración ósea). <i>In vivo</i> demostró que con BCPC se presentó una mayor formación y mayor número de osteoblastos.
Watanabe et al. 2016 (17)	Scaffold formado por $\beta$ -TCP ( $\beta$ -tricálcico fosfato) que libera BMP-2.	<i>In vivo</i> demostró que los poros del andamiaje contenían entre 300 $\mu$ m a 500 $\mu$ m de 1000ngramo de BMP-2, presentando una formación ósea desde el centro del implante, existe un gran número de osteoblastos en el interior además de una gran cantidad de capilares. En este estudio no se produce

		una infiltración de células inflamatorias por tanto se vió una alta biocompatibilidad con el material.
Olthof et al. 2017 (18)	Scaffold de polipropileno fumarato (PPF) cargados con microesferas de poliláctico co-glicólico (PLGA) usados como vehículo de BMP-2.	Los resultados mostraron que la sustancia se liberaba en un periodo de 14 semanas y se vió la formación ectópica de hueso en un modelo de rata.
Bhattacharjee et al. 2016 (19)	Scaffold de poli $\epsilon$ -caprolactona e nanohidroxiapatita combinando 100ng BMP-2 y 4 ng TFG- $\beta$	Nota: Se lleva a cabo una transformación de este factor TFG- $\beta$ (responsable de la transcripción de distintos genes, relacionados con la inflamación, proliferación y diferenciación celular). Ambos factores de crecimiento tenían una elevada viabilidad celular, proliferación celular, buena expresión de genes osteoblastogénicos y mayor nivel de depósito de calcio, todo ello con una ventaja añadida este sistema no presenta efecto citotóxico.
Khojasteh et al. 2016 (20)	Combinación de BMP-2 junta un factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) encapsulado con PLGA en un scaffold de $\beta$ -TCP	Aumenta la proliferación celular y la producción de la matriz. Pero pueden producir una angiogénesis en tejidos no deseados.
Kaito et al. 2005 (21)	Poliláctico y polietilenglicol en hidroxiapatita con rhBMP-2	<i>In vitro</i> se vio una buena interconectividad con los poros esféricos. <i>In vivo</i> se observó la inducción de la formación de hueso en los poros y alrededor del implante, reparación completa en la zona de riesgo (es decir en el hueso de radio del conejo) con suficiente fuerza en 4-8 semanas después de la implantación.

A día de hoy varios modelos comercializados con BMP-2 pero vamos a ver cómo funciona uno de ellos, este sistema se conoce como *Infuse<sup>®</sup> Bone Graft* (donde las diferentes formas de comercialización se observan en la figura 4) es un producto de reemplazo de autoinjerto con una alta osteoconductividad. Este injerto presenta una proteína morfogénica ósea recombinante -2 (rhBMP-2) vehiculada en una base de colágeno absorbible. El proceso de implantación se lleva a cabo en 6 pasos que a continuación se detallan:

Part Number/ Size	7510050 XX Small Kit	7510100 X Small Kit	7510200 Small Kit	7510400 Medium Kit	7510600 Large Kit	7510800 Large II Kit
Infuse Bone Graft Kit						
Total Graft Volume	0.7cc	1.4cc	2.8cc	5.6cc	8.0cc	8.0cc
Sterile Water for Injection	(1) 5mL Vial	(2) 5mL Vials	(1) 5mL Vial	(2) 5mL Vials	(1) 10mL Vial	(1) 10mL Vial
Sterile rhBMP-2	(1) 1.05mg Vial	(2) 1.05mg Vials	(1) 4.2mg Vial	(2) 4.2mg Vials	(1) 12mg Vial	(1) 12mg Vial
Sterile Absorbable Collagen Sponge (ACS)	(1) 1/2" x 2" Sponge Place one inside each device	(1) 1" x 2" Sponge Place one inside each device	(2) 1" x 2" Sponges Place one inside	(4) 1" x 2" Sponges Place two inside	(6) 1" x 2" Sponges Cut in half and place one inside	(1) 3" x 4" Sponge Place one inside

- Paso 1; se incorpora el implante de rhBMP-2 y el colágeno.
- Paso 2; las células madre mesenquimales migran hacia el implante, (quimiotaxis) favoreciendo la formación del nuevo hueso.
- Paso 3; las células madre mesenquimales proliferan alrededor del implante. Los estudios demostraron que rhBMP-2 aumentan la proliferación de varias líneas celulares a su alrededor.
- Paso 4; se produce la diferenciación de esas células mesenquimales en células

Figura 4: distintas formas de comercialización de Infuse®.

formadores de hueso como son los osteoblastos.

- Paso 5; a medida que se va degradando o disolviendo el andamiaje las células madre se van diferenciando en osteoblastos y favoreciendo la formación de tejido óseo. La formación del hueso se lleva a cabo desde el exterior hacia al interior hasta que se consigue reemplazar todo el implante.
- Paso 6; se produce el paso final de remodelación, donde el hueso continúa su remodelación en respuesta a las fuerzas ambientales y mecánicas locales.

#### Modelo comercializado de bmp-2 (22)

- Lisado de plaquetas, consiste en que las plaquetas sufren un proceso de lisis de tal forma que liberan los factores de crecimiento al exterior. Con este producto también se han llevado a cabo distintos estudios que a continuación detallaremos en la tabla 2:

Tabla 2: estudio sobre liberación de un lisado de plaquetas en un implante óseo.

Estudio	Sistema de liberación	Observaciones
Babo et al 2016 (23)	Cemento de calcio fosfato (CP) junto con micropartículas de ácido hialurónico con lisado de plaquetas Cemento de calcio fosfato junto con lisado de plaquetas.	La incorporación de ácido hialurónico aumento la porosidad y la solubilidad del cemento, por tanto la resistencia a la compresión se redujo severamente en el sistema, pero en cuanto a proliferación celular y expresión de genes osteoblastogénicos no se encontraron diferencias significativas. El que presentó mejores propiedades mecánicas fue el que contenía solo lisado de plaquetas. No existen estudios <i>in vivo</i> que demuestren estos beneficios.

- Hormonas y fitohormonas; son unas sustancias que favorecen la homeostasis, controlan los niveles de calcio en sangre entre otras funciones. Como es bien sabido, la hormona paratiroidea fue aprobada por la FDA en 2002 para que fuese usada en el tratamiento de la osteoporosis. A continuación, en la tabla 3, se muestran varios estudios que se llevaron a cabo con estas hormonas

Tabla 3: distintos estudios sobre implantes para liberar hormonas y fitohormonas.

Estudio	Sistema de liberación	Observaciones
Dang et al. 2016 (24), estudio sobre la hormona paratiroidea.	Scaffold biodegradable elaborado con L-ácido poliláctico y una superficie erosionada con polianhídrido más hormona paratiroidea.	Se mostró que la liberación intermitente presentaba una mejor regeneración del hueso tanto en volumen como en área y este sistema no presento alteraciones importantes.
Wang et al. 2014 (25), estudio sobre el resveratrol.	Scaffold formado por poliácido acrílico vehiculado con resveratrol.	<i>In vivo</i> se demostró una mayor viabilidad celular y la expresión de RNA mensajero de IL- $\beta$ , MMP-13 y COX-2, se redujeron lo que implicó una disminución en la inflamación.

- Antibióticos; algunos antibióticos presentan una doble función, además de su acción antibacteriana, tienen un efecto importante en el metabolismo del hueso, lo que favorece su regeneración, a la vez que permite evitar las posibles infecciones óseas. Las tetraciclinas se caracterizan porque tienen una interacción directa con las metaloproteasas de la matriz, de tal forma que las inhiben, aumentan la regeneración ósea porque aumenta la síntesis de colágeno tipo 1 y previene la pérdida de hueso. En este caso, encontramos múltiples estudios, pero solo vamos a destacar los más relevantes. UN estudio elaborado por Marycz et al., 2016 (26) se usó un “nanocompuesto” formado por hidroxiapatita cálcica +  $\beta$ -TCP + tetraciclina. Los resultados del estudio fueron los siguientes: *in vitro* se observó que el nanocompuesto con un 5% de tetraciclina presentó mejores resultados en cuanto a una mayor proliferación celular y un aumento con las conexiones extracelulares. Presentó además un efecto bactericida frente a *Escherichia coli* y *Staphilococcus aureus*. Una desventaja de este tipo de sistema es que el 80% del antibiótico se liberó en las primeras 24 horas lo que permitió ejercer su acción antibiótica pero no pudo ejercer su acción regeneradora.
- Otro de los componentes que se pueden usar para estimular la regeneración es la simvastatina, se ha llevado a cabo un estudio en 2014 por Liu et al., (27); en este estudio se

utilizó PLGA<sup>2</sup> como controlador de la liberación de simvastatina junto con el factor 1 $\alpha$  (SDF-1 $\alpha$ ), en este estudio se demostró que esta combinación aumentaba la migración y localización de las células madre mesenquimales *in vivo* (se hizo un estudio en un ratón), además se promovía la angiogénesis y potenciaba la expresión de BMP-2 en el tejido recién formado. Igualmente, se demostró que la simvastatina mejora la capacidad quimioatáctica del factor 1 $\alpha$ , además de que aumento significativamente la acción de la fosfatasa alcalina en el tejido óseo formado.

- Alendronato es un componente usado para el tratamiento del cáncer entre otros usos. Este fármaco destaca por su acción a nivel de los osteoclastos, inhiben la interacción de las mismas con la matriz ósea; además se promueve la osteogénesis. Un estudio llevado a cabo por Park et al., 2015 (28) llevo a cabo el estudio con un “andamio” compuesto por fosfato cálcico bifásico (BCP) y alendronato, este sistema estaba preparado para liberar el fármaco para un periodo de 28 días. Los resultados mostraron que el alendronato aumentó la actividad de la fosfatasa alcalina y el contenido de calcio. *In vivo* se demostró que se producía un aumento del hueso tanto en volumen como un aumento de la formación del hueso con 5 mg de alendronato en 8 semanas.
- Raloxifeno se caracteriza porque presenta acciones estrogénicas en el hueso y acciones anti estrogénicas en útero y pecho. El estudio llevado a cabo por Zhang et al. 2017 (29) consistió en un “andamio” formado con colágeno, quitosan y  $\beta$ -TCP ligado con microesferas de PLGA que contenían raloxifeno una dosis entre 0.1 a 10 $\mu$ g. Los resultados *in vitro* fueron que la liberación del raloxifeno desde la esfera fue gradual y controlado, mostrando una mayor viabilidad celular en todas las concentraciones, mayor capacidad de mineralización y una gran actividad celular. A día de hoy no hay estudios *in vivo* pero los resultados obtenidos *in vitro* si pueden reforzar su acción.

### 5.3 Aplicaciones de implantes como sistemas de liberación utilizados para enfermedades óseas más comunes: osteoporosis, osteomalacia y osteosarcoma.

#### 5.3.1 Tipos de sistemas para tratamiento de osteoporosis.

Como es bien sabido esta enfermedad se caracteriza por la pérdida gradual de hueso, causada por el incremento de la resorción ósea, este tipo de alteraciones concluyen en fracturas. Durante el tratamiento de estos defectos óseos en condiciones osteoporóticas, la remodelación ósea

---

<sup>2</sup> PLGA: ácido poliláctico glicólico.

desequilibrada es la principal causa del fallo en el proceso regeneración a través de un implante. Se han llevado a cabo muchos tratamientos para paliar la osteoporosis pero de todos los tratamientos el más relevante y con mejores resultados fue el que a continuación se detalla. En este estudio se uso 2,5-dihidroxibenzoato de etilo un fármaco que promueve la formación de hueso e inhibe los procesos de resorción ósea. Para ello se desarrollo en un implante de titanio con un recubrimiento de acido láctico-co-glicólico (PLGA) en el que se encontraba también el fármaco de estudio para que se produjese la liberación local de este fármaco. La liberación del fármaco produjo una disminución de la resorción ósea y una mayor formación de hueso alrededor del implante. Por tanto, confirmó que en el modelo osteoporótico la curación se incrementó y se mejora la fijación del implante (5).

Por otro lado hay varios estudios que corroboran el efecto formador de hueso en sujetos osteoporóticos. Este efecto osteogénico de BMP-2 se demostró usando un andamiaje de colágeno absorbible en una tibia de rata osteoporótica fue llevado a cabo por rhBMP-2 con respecto al grupo control. Se vio una mejor respuesta en las ratas no osteoporóticas; el implante consistía en un andamiaje de calcio fosfato vehiculado con microesferas de gelatina (GM) y rhBMP-2 fue propuesto para subsanar un defecto vertebral. Se vio una mayor formación ósea, mayor mineralización (en un periodo temprano de 45 días) y mayor fuerza en los implantes formados por el andamiaje con microcapsulas de gelatina que si no las presentaba. Pero pese a esto no se observaron otras diferencias significativas. Por tanto el andamiaje formado por calcio fosfato vehiculado con microesferas de gelatina que liberan rhBMP-2 promueve una formación temprana de hueso en un modelo osteoporótico en un periodo de 4 semanas. (107).

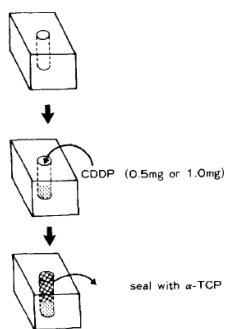
### 5.3.2 Tipos de sistemas para tratamiento de osteomielitis.

Como es bien sabido, para el tratamiento de este tipo de enfermedades se lleva a cabo el uso de antibióticos, pero tenemos distintas estrategias, como por ejemplo, podemos llevar a cabo una administración sistémica del antibiótico que acabaría con la bacteria pero traería consigo la aparición de efectos secundarios, sería mucho más costoso; por otro lado tenemos los sistemas de liberación de fármacos (biodegradables), este proceso es mucho más ventajoso ya que no genera efectos sistémicos, sólo es necesario un único proceso quirúrgico y la estancia hospitalaria es mucho menor, lo que implica un menor costo en sanidad, además es muy importante tener en cuenta que el uso de este tipo de sistemas biodegradables implica una liberación completa del antibiótico, en cambio en los otros sistemas pueden quedar restos del antibiótico quedando la infección no bien tratada. Pero, pese a todos los desarrollos en cirugía y los nuevos antibióticos de amplio espectro, el manejo de este tipo de infecciones óseas sigue siendo un proceso difícil. Tanto



a nivel experimental como a nivel clínico, se están utilizando los sistemas de liberación como un medio para liberar de forma local los antibióticos en el lugar de acción; de tal forma que se han conseguido liberar grandes concentraciones de antibiótico de forma local para acabar con la infección además de disminuir la toxicidad sistémica. Los sistemas más empleados son los sistemas biodegradables, ya que presentan mejores características que los no biodegradables. La duración del proceso de biodegradación depende del estado de la infección y de la cantidad de tejido que debe de reparar. Los sistemas que se usaron para este tipo de enfermedades consistían en sistemas biodegradables elaborados con polímeros sintéticos y la adición del antibiótico podía ser añadiendo el mismo en forma de polvo o bien empapándose la prótesis con ello. Determinados estudios indicaron que antibióticos como la tobramicina, netilmicina, vancomicina, clindamicina y rifampicina debían usarse con un injerto óseo como portador y se liberan siguiendo una cinética de primer orden. Todos estos antibióticos mantuvieron su concentración bactericida durante un periodo de 1 a 3 semanas en el lugar de implante. Por otro lado, el uso de sulfato cálcico, hidroxiapatita y otros biomateriales tuvieron una gran respuesta en este tipo de pacientes. Un estudio *in vivo* reciente elaborado por Bhattacharya et al. 2011 (31) demostró que el uso de ceftriaxona-sulbatama sódica vehiculada en hidroxiapatita en un animal y con una validación posterior en pacientes con osteomielitis observo que se llevaba a cabo la osteogénesis del hueso y no se vio ningún signo de infección, durante un periodo de tiempo de 8 meses. Otro estudio de McConoughey et al. 2015 (32) consiste en la aplicación de tobramicina y vancomicina impregnada en calcio sulfato fue efectiva y redujo la infección de la prótesis, además este estudio revelo que el uso del sulfato de calcio fue más efectivo como transportador que la PMMA. Otro estudio llevado a cabo en 2014 por Ferguson et al. (33) demostró que el sulfato de calcio fue útil en el tratamiento de la osteomielitis crónica.

### 5.3.3 Tipos de sistemas implantables para tratamiento de osteosarcoma.



Para este tratamiento solo se ha encontrado un artículo que data de 1992, elaborado por Uchida et al. (6). Este trabajo; nos habla de un sistema de liberación de cis-platino (un fármaco utilizado para el tratamiento del cáncer cuyo mecanismo de acción consiste en inhibir la síntesis del ADN, produciendo enlaces cruzados dentro y entre las cadenas de ADN), este se encuentra encapsulado en bloques de hidroxiapatita (la forma del implante se observa en la

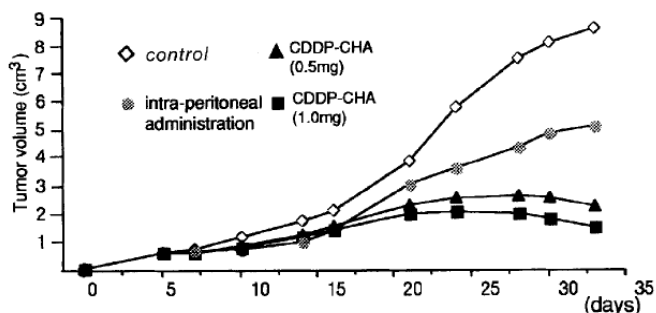
Figura 5; mecanismo de formación y composición del implante. (6)

figura 5). La liberación gradual de este sistema se confirma por experimentos *in vitro*, pero cuando este prototipo se implantó en una tibia de un modelo murino con un tumor, se observó que la liberación

del fármaco duró más de 12 semanas después del periodo de implantación. La difusión del cisplatino a sangre u otros órganos fue menor del 10%. Se vio que la disminución del tumor era mucho mayor cuando se producía una administración local de la droga que cuando se producía una liberación intraperitoneal. Este sistema es considerado un sistema ventajoso frente al resto ya que permite retirar el tumor óseo y reemplazar el defecto óseo al mismo tiempo. Para ver los beneficios de este implante se llevo a cabo un estudio comparativo donde se demostró la eficacia del efecto antitumoral cuando se comparó su efecto al administrarlo de forma intraperitoneal, los dos sistemas con distintas concentraciones de cis-platino (0.5 mg y 1.0 mg) comparando los resultados con un control. Los resultados se muestran en el *gráfico 1* donde se compara el efecto anticanceroso observando una disminución en el tamaño del tumor a lo largo del tiempo donde en el implante mucho mayor en los sistemas de liberación que en el caso de una administración intraperitoneal.

A día de hoy, numerosos grupos de investigación están llevando a cabo experimentos donde utilizan como vehículo un andamio (vidrio mesoporoso) con unas puertas moleculares de fosfato de adenosina y poli-l-lisina que, en presencia del estímulo adecuado, permitan la liberación de un

fármaco ya sea un antitumoral como la doxorubicina o un antibiótico como el ciprofloxacino. El avance de estos materiales respecto a un biomaterial normal es que la liberación del fármaco puede ser automática e inesperada. El mecanismo de liberación sería el siguiente, los poros del biomaterial cargados del fármaco están bloqueados debido al cierre de la puerta. Cuando se detecta las enzimas que están



Gráfica 1: resultados sobre la disminución del tumor dependiendo su forma de administración.(6)

presentes en un tumor o en una infección se libera el fármaco al exterior. Por ejemplo, en los tumores óseos esta incrementada la fosfatasa alcalina, mientras que en infecciones están presentes las proteasas. A día de hoy solo existen modelos *in vitro*, no existen modelos animales ni ensayos clínicos sobre este tipo de implantes. (34)

## 6.- Conclusiones

- Para promover la regeneración ósea es necesario utilizar un sistema de liberación vehiculado con más de un sólo fármaco para que pueda actuar en varias vías y pueda promover una mejor regeneración.

- La composición del implante es uno de los métodos más empleados para llevar a cabo una liberación gradual del fármaco, aunque en algunos casos utilizan puertas inteligentes para liberar poco a poco el fármaco.
- Los mejores sistemas de liberación son aquellos que están formados por componentes biodegradables, lo que favorece una mejor regeneración ósea, además de no tener que ser eliminados quirúrgicamente.
- El uso de factores de crecimiento tales como las proteínas morfogénicas del hueso (sobre todo BMP-2) en combinación con otro tipo de componentes, disminuye la aparición de efectos citotóxicos y mejora el proceso de regeneración.

## **7.- Bibliografía.**

- (1) [https://www.partesdel.com/partes\\_del\\_hueso\\_largo.html](https://www.partesdel.com/partes_del_hueso_largo.html)
- (2) <http://www.aecientificos.es/escaparate/verpagina.cgi?idpagina=20624995>
- (3) Ferrer J., Tovar I., Martínez P. *Osteoprotectorina y sistema RANKL/RANK: ¿el futuro del metabolismo óseo?*. An Med. Interna. 2002; 19: 385-388.
- (4) Kumar S. et al. *Understanding osteomyelitis and its treatment through local drug delivery system*. Biotechnology Advances. 2016; 16 (5): 57-111.
- (5) Kwon B-J. et al., *Locally delivered ethyl - 2,5-diiodoxybenzoate using 3D printed bone implant for promotion of bone regeneration in a osteoporotic animal model*. European Cell and Materials. 2018; 35: 1-12.
- (6) Uchida A., Shinto Y., Araki N., Ono K., *Slow released of anticancer drugs from porous calcium hydroxyapatite ceramic*. Journal of Orthopaedic Research. 1992; 10:440 – 446.
- (7) Martin V., Bettencourt A. *Bone regeneration: Biomaterials as local delivery systems with improved osteoinductive properties*. Materials Science and Engineering C. 2018; 82: 363-371.
- (8) Tatay A., Pérez J.M., Ribera J., Cordero J.A., Mella M. *Sustitutos óseos*. Rev. S. and Traum. y Ort. 2008; 26: 2-13.
- (9) Vanegas J. C. et al., *Generalidades de la interfase del hueso implante dental*. Rev. Cubana Inv. Biomed. 2009; 28 (3):130-146.
- (10) Catelas, I., Sese, N., Wu, B.M., Dunn, J.C.Y., Helgerson, S.A.M., Tawil, B., *Human mesenchymal stem cell proliferation and osteogenic differentiation in fibrin gels in vitro*. Tissue Engineering. 2006; 12(8): 2385-2396.
- (11) Sánchez J. D. et al. *Sistemas biodegradables de fijación y reconstrucción craneofacial*. Panorama Actual del Medicamento. 2015; 39 (381): 237-240.
- (12) Farokhi M., et al., *Importance of dual delivery system for bone tissue engineering*. Journal of Controlled Release. 2016; 225 (154):152-169.
- (13) Vizcarbe M.A. et al. *Sustitutos de tejido: de los biomateriales a la ingeniería tisular*. Rev. R. Acad. Cien. Exact. Fis. Mat. 2007; 101: 227-249.
- (14) Shields L.B. et al., *Adverse effects associated with high-dose recombinant human bone morphogenetic protein-2 use in anterior cervical spine fusion*. Spine (Phila PA 1976) 2006; 31:542-547.
- (15) Luca L., Rougemont A-L., Walpoth BH, Guruy., Jordan O. *The effects of carrier natural an ph or rhBMP-2 induce ectopic bone formation*. J. Control. Release. 2010; 147: 38-44.
- (16) Lee E.U. et al. *Bone regenerative efficacy of biphasic calcium phosphate collagen composite as a carrier of rhBMP-2*. Clin. Oral. Implants Res. 2015; 27: e91-e99.

- (17) Watanabe S. et al. *Efficacy of honeycomb TCP-induced microenvironment on bone tissue regeneration in craneofacial área*. Int. J. Med. Sci. 2016; 13: 466-476.
- (18) Olthof M.G.L. et al. *Effect of diferent sustained bone morphogenetic protein-2 released kinetics on bone formation in poly (propilene fumarate) scaffolds*. J. Biomed. Mater. Res. 2017; Part B 00B (000).
- (19) Bhattacharjee P. *Non-multiberry silk fibroin grafted poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/nano hydroxyapatite nanofibrous scaffok for dual growth factor delivery to promote bone regeneration*. 2016; 472: 16-33.
- (20) Khojasteh A. et al. *Development of PLGA-coated  $\beta$ -TCP scaffold containing VEGF for bone tissue engineering*. Mater. Sci. Eng. C. 2016; 69 (783): 780-788.
- (21) Kaito T. et al. *Potential of the activity of bone morphogenic protein – 2 in bone regeneraton by a PLA-PEG/hidroxiapatita composite*. Biomaterial. 2005; 26 (75): 73-79.
- (22) Medtronic.com. Atención de la salud. [sede Web]. 1940 [actualizada el 5 de mayo de 2018; acceso 15 de abril de 2018]. Disponible en: <http://www.medtronic.com/us-en/healthcare-professionals/products/spinal-orthopaedic/bone-grafting/infuse-bone-graft.html>
- (23) Babo P.S., Santo V.E., Gomes M.E., Reis R.L. *Development of an injectable calcium phosphate/hyaluronic acid microparticles system for platelet lysate sutained delivery aiming bone regeneration*. Macromol. Biosci. 2016; 16: 1662-1677.
- (24) Dang M., Koh A. J., Jin X., McCauley L.X., Ma P.X. *Local pulsatile PTH delivery regenerates bone defect via enhanced bone remodeling in a cell-free scaffold*. Biomaterials. 2016; 114: 1-9.
- (25) Wang W., Sun L., Zhang P., Song J., Liu W. *An anti-inflammatory cell-free collagen/resveratrol for repairing osteochondrial defects in rabbits*. Acta Biomater. 2014; 12: 4983-4995.
- (26) Maryz K. et al. *Multifuncional nanocrytalline calcium phosphates loaded with tetracycline antibiotic combined with human adipose derived mesenchymal stromal stem cells (hASCs)*. Mater. Sci. Eng. C. 2016; 69: 17-26.
- (27) Liu Y.S. et al. *The effect of simvastatin on chemotactic capability of SDF-1 alpha and the promotion of bone regeneration*. Biomaterials. 2014; 34: 4489-4498.
- (28) Park K.W., Yun Y.P., Kim S.E., Song H.R. *The effect of alendronato loaded biphasic calcium phosphate scaffolds on bone regeneration in a rat tibial defect model*. Int. J. Mol. Sci. 2015; 16: 26738-26753.
- (29) Zhang M.L., Cheng J., Xiao Y.C., Yin R.F., Feng X. *Raloxifene microsphere-embedded collagen/chitosan/ $\beta$ -tricalciumphosphate scaffold for effective bone tissue engineering*. Int. J. Pharm. 2017; 518: 80-85.
- (30) Li M., Liu X., Ge B. *Calcium phosphate cement with BMP-2 loaded gelatin microspheres enhances bone healing in osteoporosis: a pilot study*. Cliv Orthop Relat Res. 2010; 468: 1978-1985.
- (31) Bhattacharya, R. et al, *Macro-to-micro porous special bioactive glass and ceftriaxone-sulbactam composite drug delivery system for treatment of chronic osteomyelitis: An investigation through in vitro and in vivo animal trial*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 2011; 22(3), 705-720.
- (32) McConoughey S.J., et al. *Comparing PMMA and calcium sulfate as carriers for the local delivery of antibiotics to infected surgical sites*. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials. 2015; 103: 870-877.
- (33) Ferguson, J.Y. et al. *The use of a biodegradable antibiotic-loaded calcium sulphate carrier containing tobramycin for the treatment of chronic osteomyelitis a series of 195 cases*. Bone and Joint Journal. 2014; 96(6), 829-836.
- (34) Polo L. et al. *Molecular gates in mesoporous bioactive glasses for the treatment of bone tumours and infection*. Acta Biomaterialia. 2016. Doi; <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2016.12.025>