



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: MATERIALES MESOPOROSOS
PARA LA RECONSTRUCCIÓN DE DEFECTOS
ÓSEOS

Autor: Esperanza M^a Janer Madiba

D.N.I.: 50545701G

Tutor: Daniel Arcos Navarrete

Convocatoria: JUNIO 2016

1. RESUMEN

La curación de los **defectos óseos**, cada vez cobra más relevancia y estos daños se producen por accidentes en la práctica de deporte, la osteoporosis, tumores etc. Con el incremento de la esperanza de vida de la población, hay una búsqueda de llevar a cabo una regeneración ósea en vez de una sustitución, con el objetivo de acercarse a la composición de los tejidos biológicos, así se han desarrollado los **vidrios mesoporosos bioactivos (VMBs)** para tal efecto, mediante la combinación de la química supramolecular y procesos de sol-gel; además presentarían como mejora frente a los vidrios bioactivos convencionales una mayor bioactividad y actuación como sistemas liberadores de fármacos de forma controlada. A lo largo de este trabajo de fin de grado, se expone la evolución de los materiales para la fabricación de andamios, el mecanismo de bioactividad, los procesos de síntesis, los factores y componentes que influyen en la estructura mesoporosa y ensayos *in vivo* e *in vitro* (como seguimiento de los VMBs con isótopo 45 de calcio, la incorporación de antibióticos, utilidad de la incorporación de boro y dexametasona etc) que evidenciarían su gran potencial para su futura aplicación biomédica.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El incremento de la esperanza de vida ha creado un escenario con una población cada vez más envejecida con edades comprendidas entre 60 y 100 años que desean una buena calidad de vida, que no es sencillo de alcanzar dado que a partir de los 30 años los tejidos inician un progresivo camino de deterioro hasta la muerte del individuo [1]. La calidad del hueso de los pacientes se deteriora progresivamente con la edad, especialmente en las mujeres después de la menopausia. Para satisfacer el aumento de la necesidad de las reparaciones ortopédicas en el futuro, se encuentran las siguientes opciones: mejorar la capacidad de supervivencia del implante en 10-20 años o desarrollar medios alternativos en el tratamiento ortopédico que no requiera implantes o al menos retrasar la necesidad de prótesis por 10-20 años. Se estima que la tasa de fallo de las prótesis oscila entre el 15 y 50%, para aquellas con periodos de implantación transcurridos entre los 15 y 30 años. Las mejoras introducidas en los materiales diseñados para sustituir el hueso dañado no han conseguido solucionar el problema de la limitación del tiempo de vida útil. Como la población cada vez presenta una mayor esperanza de vida, se quiere prolongar la supervivencia de los materiales de las prótesis ortopédicas. A partir de aquí se quiere un cambio de **reemplazar tejidos a regenerar tejidos**, es decir, llevar a cabo terapias regenerativas, en lugar de buscar soluciones de reemplazo del tejido natural por materiales artificiales permanentes, haciendo una aproximación de los materiales y prótesis a los tejidos biológicos. Para

ello se necesita la biología molecular, para que haga una nueva alternativa biológica basada en el uso de **materiales bioactivos** para la ingeniería de tejidos y que así los biomateriales estimulen la respuesta osteogénica del organismo, iniciando y potenciando los mecanismos de reparación ósea. Así surge el concepto de CLASE A (Materiales Bioactivos que Estimulan la Regeneración del Hueso) que permite a los científicos crear los andamios **bioactivos reabsorbibles**. Los **materiales bioactivos de CLASE A** muestran 11 etapas de reacción que conducen a mejorar la proliferación y diferenciación de osteoblastos y la regeneración de la estructura del hueso trabecular *in situ* [1,2].

2.1 El hueso: estructura, componentes y funciones.

El hueso es un órgano vivo en constante actividad, que presenta funciones mecánicas y biológicas. Su formación implica los procesos de osificación membranosa y condral. La composición del hueso, presenta:

- Componente celular: constituido por las células que pertenecen a la **línea osteoformadora** denominadas **osteoblastos** y osteocitos y las células de la **línea de resorción ósea** denominadas **osteoclastos**.
- Fracción orgánica (ocupa el 30% de la matriz que está formada por un 90% de colágeno. La disposición de las fibras colágenas permite diferenciar entre tejido laminar y tejido fibroso plexiforme, siendo el hueso del adulto en su mayor parte laminar) y la fracción inorgánica (depósitos minerales en forma de hidroxipatita).

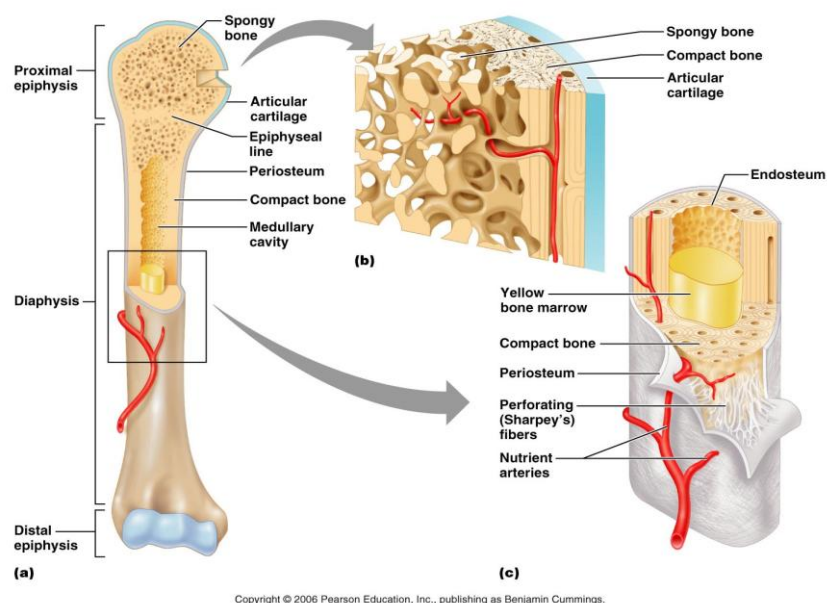


Figura 1. Anatomía del hueso

En función de su estructura se distingue entre **hueso cortical o compacto** (10% de porosidad y gran resistencia a la compresión) y **esponjoso o trabecular** (50-90% de porosidad y baja resistencia a la compresión). Dado que el hueso se encuentra vascularizado, se dan los procesos de **modelación** (permite que los distintos huesos conserven su forma) y **remodelación ósea** (permite la reparación, mejora la distribución vascular y mantiene la homeostasis mineral, mediante la participación de osteoblastos y osteoclastos durante toda la vida). La diferencia entre la cantidad de hueso que se destruye y la que se forma en cada una de las BRU (*bone remodeling units*) se conoce como balance óseo [21,22].

2.2 Bioactividad vidrios mesoporosos bioactivos

En los nuevos tiempos se han desarrollado los **vidrios mesoporosos bioactivos (VMB)** que pertenecen al grupo de materiales denominados **biomateriales de 3ª generación** (estimulan la regeneración del tejido óseo) [1]. Un factor importante de los biomateriales es que posean la propiedad de bioactividad, es decir, la capacidad de formar un enlace directo con el hueso, sin interposición de tejido fibroso conectivo [18]. La **fijación bioactiva** consiste en la unión interfacial de un implante al tejido, por medio de la formación de una capa de hidroxiapatita biológicamente activa, sobre la superficie del implante, con una fuerza de enlace igual o mayor que el hueso, provocando una respuesta biológica específica en la interfaz del material. El nivel de bioactividad de un material específico puede estar relacionado con el tiempo necesario para que se una más de un 50% de la interfaz del material con el hueso ($t_{0.5\text{ bb}}$): Índice de bioactividad (I_B)= $100/t_{0.5\text{ bb}}$. [2]

Cuanto mayor sea la solubilidad de un **vidrio bioactivo** más pronunciado será el efecto en el crecimiento del tejido óseo. **Mecanismo de bioactividad:** al reaccionar un vidrio con una solución acuosa, la acumulación de los productos de la disolución provoca un cambio en la composición química y el pH de la solución. La formación de hidroxiapatita (HCA) en el vidrio bioactivo y la liberación de la sílica soluble y los iones de calcio alrededor del tejido son factores clave en la rápida unión de los vidrios al tejido, la estimulación del crecimiento del tejido y su uso como tejido en la ingeniería de andamios. Las etapas del proceso de unión del vidrio bioactivo al hueso son un total de once, comprendiendo etapas químicas y etapas de respuesta biológica. Es necesario que se sea capaz de controlar la solubilidad (**velocidad de disolución**) del material y los factores que influyen en ella y en la bioreactividad. [2]

3. OBJETIVOS

El objetivo de realizar este trabajo es la revisión de la situación actual de los defectos óseos (por osteoporosis, procesos tumorales, accidentes etc), y la forma en la que se podrían solventar mediante los materiales mesoporosos bioactivos que se encuentran en líneas de investigación, ilustrando las posibilidades que ofrecerían como regeneradores del tejido óseo y sistemas liberadores de fármacos, sus aplicaciones biomédicas a nivel de cirugía ortopédica y traumatología y otras áreas sanitarias, para mejorar la calidad de vida a largo plazo, dado que la población cada vez presenta una mayor esperanza de vida y por otro lado ver cuáles son las mejoras que presentan frente a los implantes y prótesis actuales.

4. METODOLOGÍA

Para la realización del trabajo se llevó a cabo una revisión bibliográfica, que consistió en la consulta de artículos científicos relacionados con la materia en cuestión y la búsqueda de información a través de bases de datos como PubMed.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los vidrios mesoporosos bioactivos (VMB) presentan nuevas características texturales y bioactivas, por ser materiales porosos altamente ordenados, con una elevada área superficial y un volumen de poro con una distribución de diámetro de poro estrecha. Por todo ello presentan la mayor cinética de bioactividad *in vitro* observada hasta el momento; su obtención conlleva la combinación de la química supramolecular y procesos de sol-gel. Actualmente para su obtención se sigue la ruta de precipitación y el autoensamblaje inducido por evaporación (*evaporation induced self-assembly*, EISA) con la incorporación de agentes directores de estructura. Otras técnicas empleadas son la fabricación de espumas, el electrospinning y la impresión 3D. Su alcance clínico se desconoce ya que su **estructura mesoporosa ordenada** permitiría que sus aplicaciones biomédicas fuesen como sistemas de liberación controlada de fármacos y proteínas y regeneración del tejido óseo, pudiendo tener un gran potencial en el tratamiento de procesos degenerativos del tejido óseo [1,3,12].

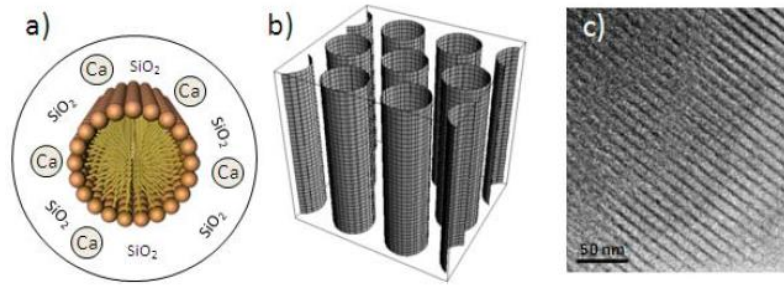


Figura 2. a) Representación esquemática, b) Reconstrucción estructural, c) Imagen de microscopía electrónica de transmisión de un VMB [1]

Los materiales mesoporosos a base de sílice son capaces de incorporar altas dosis de fármacos en los mesoporos y una vez que se implantan son capaces de unirse al hueso a través de la formación de una capa de hidroxiapatita carbonatada no estequiométrica a escala nanométrica, que asegura la osteo-integración y sus productos de degradación promueven la regeneración de tejido óseo. En la actualidad se trabaja con la escala nanométrica porque contribuye al buen rendimiento de los biomateriales que se implantan, dado que la apatita (componente mineral de composición variable con deficiencia en calcio y presencia de carbonatos, de los tejidos duros) es de tamaño nanométrico permitiendo que sea muy reactivo y así asegure la constante y rápida regeneración de los huesos. El grupo de investigación del Prof.F.Y Zhao sintetizó los primeros vidrios mesoporosos bioactivos con composiciones químicas equivalentes a los vidrios convencionales sol-gel de sistemas multicomponente $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$, pero con las propiedades de porosidad y superficie propias de los materiales mesoporosos, mediante el autoensamblaje inducido por evaporación (EISA). A continuación se muestran las diferencias entre los vidrios sol-gel convencionales y los vidrios mesoporosos bioactivos [3,12,1].

VIDRIOS SOL-GEL CONVENCIONALES	VIDRIOS MESOPOROSOS BIOACTIVOS
Propiedades texturales	Propiedades texturales
Superficie específica (100-230 m ² /g)	Superficie específica (200-450 m ² /g)
Volumen de poro (0.20-0.35 cm ³ /g)	Volumen de poro (0.45-0.65 cm ³ /g)
Estructuras porosas desordenadas	Estructuras porosas ordenadas

Heterogéneos (nanocristales de CaP)	Homogéneos (Ca y P dispersos en sílice)
Dependencia composición-porosidad	Independencia composición-porosidad
Contenido en CaO como factor determinante bioactividad	Superficie específica como factor determinante bioactividad

Tabla 1. Principales diferencias entre los vidrios sol-gel convencionales y los vidrios mesoporosos bioactivos en el sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ [1]

Una característica significativa de los VMB en comparación con el vidrio bioactivo no mesoporoso, es que se evidencia una mayor capacidad de mineralización y degradación de la apatita, porque como avance presenta un incremento del área superficial, volumen de poro y distribución de tamaño, que acelera la formación de hidroxiapatita y mejora la bioactividad y liberación de fármacos, que queda demostrado recientemente en estudios del sistema $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ VMB *in vitro* e *in vivo* [7,3].

Superficie específica y porosidad  > Reactividad y cinética en respuesta y formación

A pesar de todas las ventajas mostradas de los VMB por su excelente bioactividad, biocompatibilidad y osteoconductividad para la regeneración ósea, también presentan una serie de inconvenientes que radican en la complejidad de preparar estructuras con alta resistencia a la compresión, que dificulta en gran medida su desarrollo y utilización [23], y la razón principal es que son rígidas y quebradizas [10].

5.1 Diseño y síntesis de las biocerámicas

Los biomateriales para ser implantados, se tienen que adaptar a cada ser vivo, de manera que se sintetizan y elaboran de forma específica [10]. Previo al diseño se debe considerar: elección de los componentes para fabricar el material, la cristalinidad (a menor cristalinidad, mayor porosidad, dando una mayor degradación y reactividad), el tamaño de partícula, los defectos estructurales, el conformado de la pieza o implante, la porosidad y posible funcionalización de la superficie para mejorar el rendimiento de la regeneración ósea, las funciones de carga y

liberación de fármacos, además de ser tridimensionales con una red de poros interconectados que permitan el crecimiento celular y transporte de nutrientes y desechos metabólicos [12].

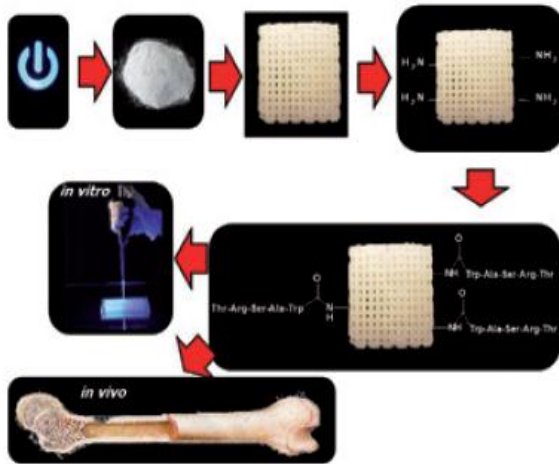


Figura 3. Hoja de ruta para la fabricación de sustitutos óseos. [12]

La síntesis de materiales mesoporosos ordenados requiere moléculas de tensoactivos en disolución acuosa. Cuando la concentración de tensoactivo en disolución alcanza un valor umbral (concentración micelar crítica), las moléculas de éste forman micelas, que a su vez se agrupan

para formar estructuras supramicelares. Las fases por las que pasan las micelas son hexagonal, cúbica y laminar, en este orden a medida que se aumenta la concentración de tensoactivo. En los materiales mesoporosos con sílice, los oligómeros de silicato se condensan entre sí, alrededor de las micelas que actúan a modo de "plantilla", por un proceso de ensamblaje. Finalmente, se obtiene un producto sólido que en su interior contiene tensoactivo, el cual se extrae del sólido con disolventes adecuados, mediante reacciones químicas acopladas o por calcinación en aire a temperatura elevadas, dejando en la matriz silicea cavidades, que van a determinar junto a la naturaleza química de la superficie del esqueleto inorgánico las propiedades fisicoquímicas del material [14].



Figura 4. Mecanismo de síntesis de materiales mesoporosos de sílice empleando surfactante [14]

De manera general los tensoactivos se pueden clasificar en catiónicos, aniónicos, neutros y no iónicos. El

empleo de uno u otro tensoactivo influye en la síntesis de materiales mesoporosos ya que la naturaleza de la fase que se obtiene está condicionada por la interacción entre las especies químicas en disolución y el tensoactivo, y permiten la obtención de diversas estructuras.

Influencia del óxido de calcio y otros componentes en la estructura porosa

Una serie de estudios demostraron que la estructura porosa dependía de la cantidad de CaO (óxido de calcio), así se vio que altas cantidades de CaO permitían la obtención de la fase hexagonal $p6m$, mientras que si disminuye el contenido en CaO se obtenían fases propias de sistemas más hidrófobos (fase ortorrómbica $p2mm$ y fase cúbica $Ia-3d$, cuya obtención es más simple si se aumenta la temperatura de evaporación del solvente), predominando unas interacciones de tipo hidrófobo con el componente apolar del surfactante.

El proceso bioactivo entre el hueso y la superficie del implante, implica un proceso de difusión de materia que es superior en estructuras con sistemas de poros constituidas por redes 3D, que se extienden por todo el volumen del material, en comparación con las estructuras 2D de empaquetamientos hexagonales. Éste resultó ser una de las diferencias más notables entre los vidrios sol-gel convencionales y los VMBs.

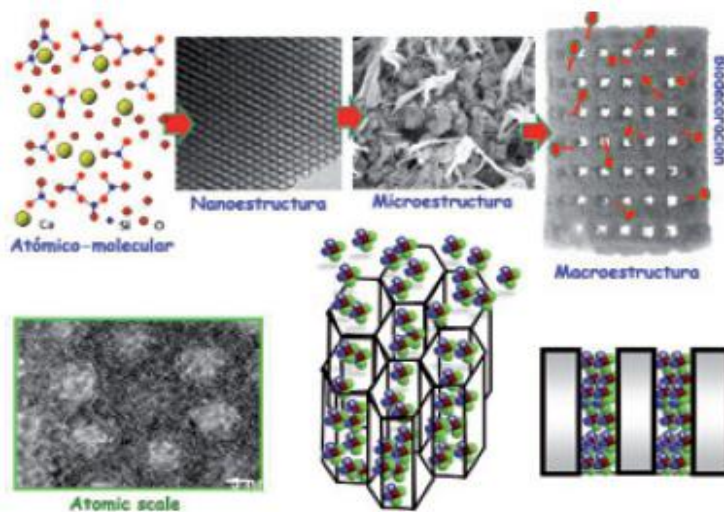


Figura 5. Secuencia estructural desde la escala atómico-molecular de los vidrios hasta la macroestructural de los andamios. En la parte inferior, una micrografía de un vidrio mesoporoso bioactivo y el esquema que indica la posibilidad de introducir moléculas en sus poros.

Por otro la cinética de formación de HCA en los VMBs está determinada por las agrupaciones de fosfato de calcio, según los estudios de RMN multinuclear de $P31$ y $Si29$ ya que no son detectados por la difracción de rayos X (DRX) [1].

5.2 Regeneración ósea

Los VMB poseen una composición similar al vidrio bioactivo tradicional ($\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$) pero presenta mayor bioactividad y se necesitan tiempos de reacción más cortos para formar apatita hidroxicarbonato (HCA). También se ha comprobado que el Ca y Si pueden estimular la proliferación de osteoblastos y diferenciación. Por lo tanto, presentan un gran potencial para aplicaciones en la regeneración ósea. [23]

Seguimiento de la evolución de los VMB mediante el isótopo ^{45}Ca

Se realizó un estudio basado en la síntesis de andamios de ^{45}Ca -VMB de estructura reticulada con macro-mesoporos (esta estructura proporciona un entorno favorable para las células y la penetración de los vasos sanguíneos), que se implantaron en el fémur defectuoso de ratas para realizar un análisis en el tiempo por un rastreo cuantitativo isotópico. Los resultados revelaron que el andamio se degradaba con el tiempo y que persistía en torno a un 9.63% en la semana 12, es decir, que sólo una pequeña cantidad de los iones de calcio liberados por el VMB participaron en la formación de nuevo hueso y se convirtió directamente en matriz. Se ha demostrado que los iones de Si y Ca son capaces de promover la expresión de los genes osteogénicos.

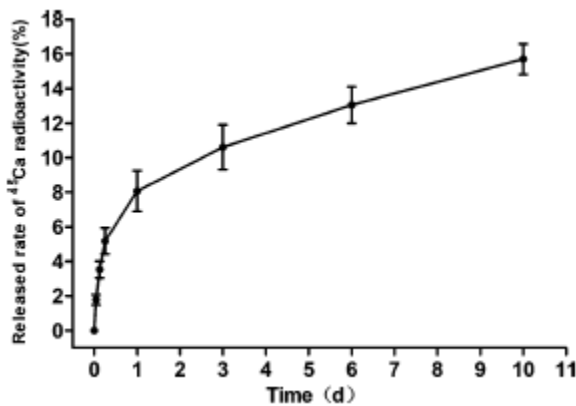


Figura 6. ^{45}Ca liberado del andamio ^{45}Ca -VMB [5]

Se confirmó que los componentes activos derivados de la degradación de los andamios de VMB podían activar los niveles de expresión de ARNm de los genes relacionados con osteoblastos en las células madre mesenquimales derivadas de médula ósea de rata (rBMSCs) *in vitro* y promover la regeneración ósea *in vivo*. Además se pudo detectar ^{45}Ca en el corazón, pulmones, bazo, riñones, intestinos y cerebro a través de la sangre y sobre todo se acumuló en el tejido óseo distal, incluyendo el radio y el cráneo, pero tras 12 semanas la radioactividad de ^{45}Ca disminuyó o desapareció de los tejidos sin causar cambios histopatológicos anormales. La radioactividad en el hueso aumentó con el tiempo, siendo superior que en el resto de órganos, que podría ser porque es el tejido primario para la deposición del ión calcio (capacidad específica de absorción de calcio). [5]

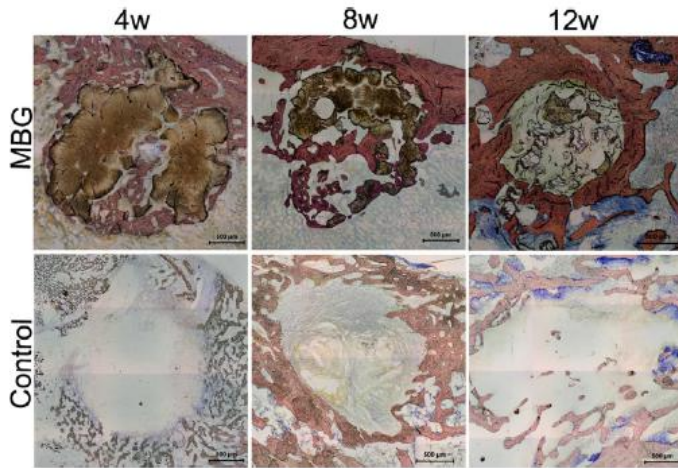


Figura 7. Formación de nuevo hueso y material de degradación en los andamios de VMB las semanas 4, 8 y 12 después de la implantación (tinción de Van Gieson). Los colores rojo, verde y marrón representan el nuevo hueso formado, el tejido fibroso y el material residual, respectivamente (escala de 500 micras). Los grupos negativos se usaron de control. [5]

Los análisis histológicos mostraron que los andamios VMB fueron adsorbidos y que el nuevo hueso invadió los andamios, desde el borde hasta el centro, tras la cuarta y 12 semana de la implantación. El sistema de nanoestructura no sólo provee de una alta área superficial y volumen de poro ($343.444 \text{ m}^2/\text{g}$ y $0.565 \text{ cm}^3/\text{g}$ respectivamente) sino también un fácil intercambio iónico con el medio circundante, incrementando el transporte de masa y los procesos de difusión. Sobre todo los iones de Si y Ca liberados inducía la diferenciación osteogénica de rBMSCs, mejoraban la osteogénesis inducida por el andamio y conducen a la mineralización del tejido óseo y la quimiotaxis de osteoblastos.

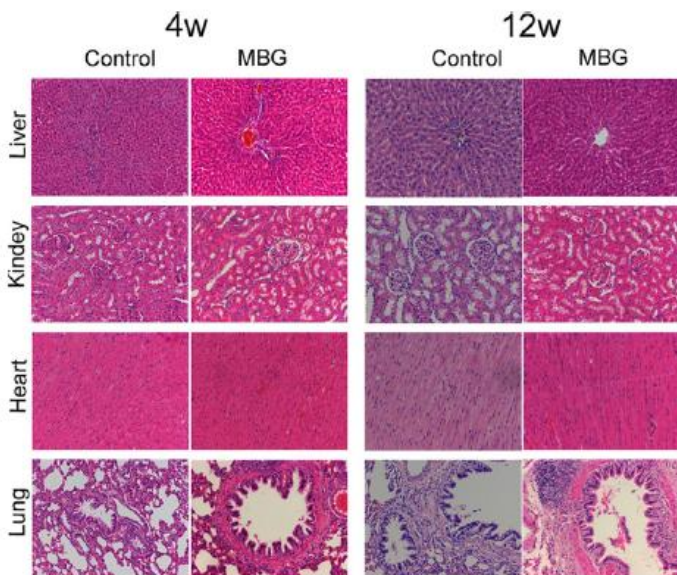


Figura 8. Representación de los tejidos de rata tras la implantación de los andamios de VMB en las semanas 4 y 12. No se encuentran cambios patológicos en los órganos [5]

Los test hematológicos a las 12 semanas mostraron que el WBC (recuento de leucocitos) fue $(12,9 \pm 2,21) \times 10^9 / \text{L}$ en el grupo experimental, que era más alto que el valor de $(7,87 \pm 0,35) \times 10^9 / \text{L}$ en el grupo control, posiblemente debido a

que las células fagocíticas, fagocitaron los productos de degradación volviéndose activos. Los resultados muestran que los productos de degradación de los andamios de VMB, que se acumulan en los principales órganos como el hígado y el riñón en el corto plazo, no tienen un efecto biológico negativo en la morfología o la función del tejido. En consecuencia, los andamios VMB tienen buena de seguridad biológica para la aplicación clínica [5]

5.3 Los vidrios mesoporosos bioactivos como sistemas de liberación de fármacos

Las estructuras de los biomateriales mesoporosos son importantes para la carga y liberación de fármacos. En general se cree que una superficie de 200-350 m² / g con un tamaño de mesoporos de 3-5 nm proporcionaría el entorno adecuado para adsorber una gama de biomoléculas, tales como antiinflamatorios, anticancerígenos, antibióticos, factores de crecimiento, agentes osteogénicos...[7] para ser posteriormente liberados de una forma gradual [10]. De esta forma se pueden diseñar andamios 3D con una meso-macroporosidad para su utilización en ingeniería de tejidos, y una nanoporosidad para liberación controlada de fármacos. Lo complejo no es la síntesis de las biocerámicas sino la incorporación en ellas del fármaco, ya que sus temperaturas de descomposición son muy bajas, frente a las altas temperaturas necesarias para conformar piezas cerámicas. Como en primer lugar, los fármacos tendrán que ocupar los poros vacíos, para su posterior liberación controlada, es necesario controlar a nivel de poro: su número, tamaño, forma, distribución, conectividad y posible funcionalización de su pared, en función del fármaco que se quiera utilizar. Lo más óptimo es una matriz de poros ordenada para que la adsorción y liberación del fármaco sea homogénea y unos resultados reproducibles [12]. Como los materiales mesoporosos presentan grupos silanol, éstos se pueden funcionalizar, es decir, sustituir el grupo H del silanol por una sustancia química R (tanto polar como apolar) susceptible de unirse mediante un enlace covalente al átomo de oxígeno generando un material "híbrido" (como se muestra en la figura 9), para liberarlas posteriormente de forma controlada, de manera que podrían actuar como soportes celulares a los que incorporar proteínas, péptidos o factores de crecimiento, para posteriormente liberarlos al entorno promoviendo la proliferación y diferenciación [10,14]. La funcionalización es un factor muy importante ya que puede incrementar la cantidad de fármaco adsorbida y ralentizar el proceso de difusión de fármaco, al establecerse enlaces más fuertes que dificultan el movimiento (ejemplo: el tiempo de liberación de la carga de ibuprofeno en una matriz MCM-41 se multiplica por un factor 4 cuando se funcionaliza su pared con grupos amino) y otros factores a considerar son el tamaño del poro y la estructura de la matriz. Sin embargo, la funcionalización puede presentar como inconveniente una pérdida de bioactividad, por generar un cambio en la superficie de los biomateriales. Mediante la funcionalización con grupos tiol, amino, hidroxilo y fenilo se pudieron obtener cinéticas de orden 0 [1].



R= silano; Y= OH, SH, NH₂, SO₃H, Cl, F, CH₃, fenilo etc

X representa un átomo de halógeno, cloro, grupo alcoxi (como metoxi o etoxi)

Figura 9. Proceso de funcionalización de los biomateriales mesoporosos [14]

Un ejemplo de funcionalización es un estudio realizado en el que se puso de manifiesto que tanto los VMB como los VMB funcionalizados, podrían promover significativamente la proliferación y diferenciación osteogénica de las células madre mesenquimales, donde los resultados de pruebas *in vivo* demostraron que el andamio de N-VMB (presenta un grupo amino) podría promover niveles más altos de la regeneración ósea en comparación con VMB y C-VMB. La red macroporosa interconectada de un N-VMB es útil para la adhesión celular y la migración en los materiales mesoporosos, además de la adsorción de proteínas, así mejora la bioactividad. También disminuye la tasa de degradación para una mejor adaptación del hueso nuevo. El grupo NH_2 posee una capacidad más fuerte para adsorber la fibronectina (FN) en comparación con $-\text{CH}_3$, $-\text{COOH}$ y $-\text{OH}$. Aunque $-\text{NH}_2$ es un grupo hidrofílico, su carácter hidrófilo es más bajo que los de $-\text{OH}$ y grupos $-\text{COOH}$, en consecuencia, superficies que contienen $-\text{NH}_2$ presentan un equilibrio hidrófilo-hidrófobo, que es beneficioso para la adhesión celular. Como resultado, dota de excelentes actuaciones osteogénicas *in vitro* e *in vivo* [23].

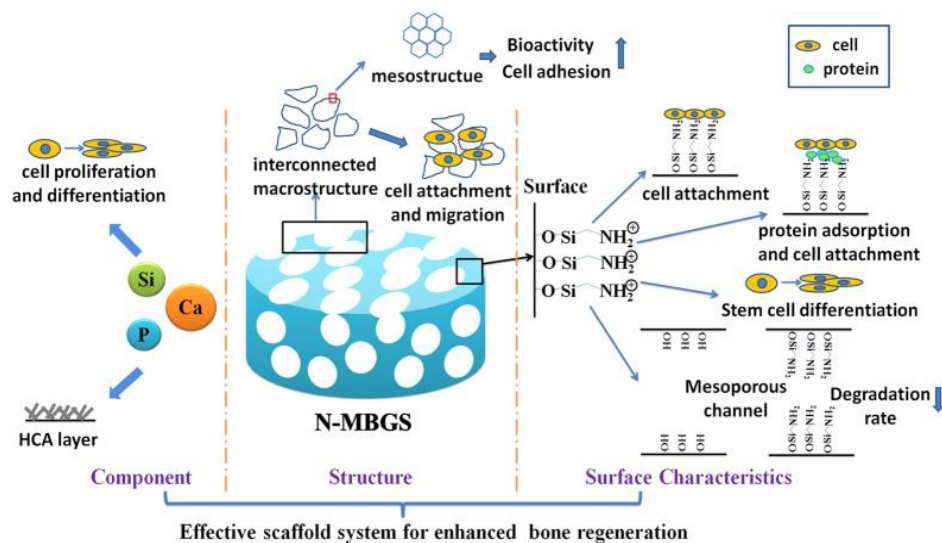


Figura 10. Diagrama esquemático de N-VMB como un andamio eficaz para la regeneración ósea mejorada. [23]

Para la realización de estudios *in vitro* la carga del fármaco en la matriz mesoporosa es por impregnación y se emplea un fluido corporal simulado o suero fisiológico, para observar el proceso de liberación de fármacos por difusión. Durante la liberación se da una interacción entre los grupos silanol de la pared y grupos químicos del fármaco. Por último se determina la concentración de fármaco liberado a la solución y el tiempo invertido en el proceso de liberación [10]

Importancia de la utilización de antibióticos en los VMB

Uno de los problemas más importantes en cirugía dental y ortopédica es la alta incidencia de infecciones óseas (ejemplo: osteomielitis causada por *S.aureous* y *S.epidermidis*) y la respuesta inflamatoria del organismo frente al implante, que conducen a la pérdida de la función del implante y a la septicemia, que hace necesario, entre otras cosas, la utilización sistémica de antibióticos y antiinflamatorios a dosis elevadas para alcanzar niveles eficaces en hueso [14]. Lo tradicional es utilizar la vía oral o intravenosa, pero no cabe duda que cualquier solución local sería más efectiva y reduciría la dosis. Por ello una buena estrategia sería utilizar los VMB que cargarían en sus poros distintos fármacos antes de implantarlos, y mejorarían la liberación local del antibiótico sin perjudicar a otras partes del organismo, lo que permite combinar la regeneración del hueso con la defensa a la infección [12].

Se hizo un estudio de impregnación en un VMB de composición 58S ($58\text{SiO}_2\text{-}37\text{CaO}\text{-}5\text{P}_2\text{O}_5$ %mol) con solución concentrada de sulfato de gentamicina, con capacidad de incorporar más cantidad que los vidrios sol-gel. La cinética de liberación de gentamicina varía según la posición que adquiera en los poros, como se muestra en la Figura 11 [1].

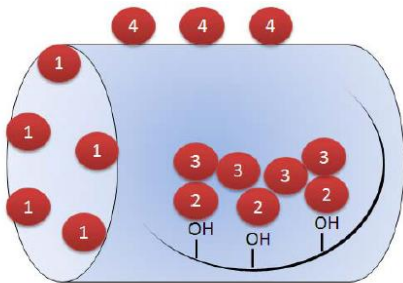


Figura 11. Posibles localizaciones de la gentamicina respecto a los poros en un VMB: 1) Ventana de salida del poro 2)Interior del poro con interacciones material-gentamicina por enlace de hidrógeno 3) Interior del poro con interacción gentamicina-gentamicina 4)Adsorción en la superficie externa del material [1]

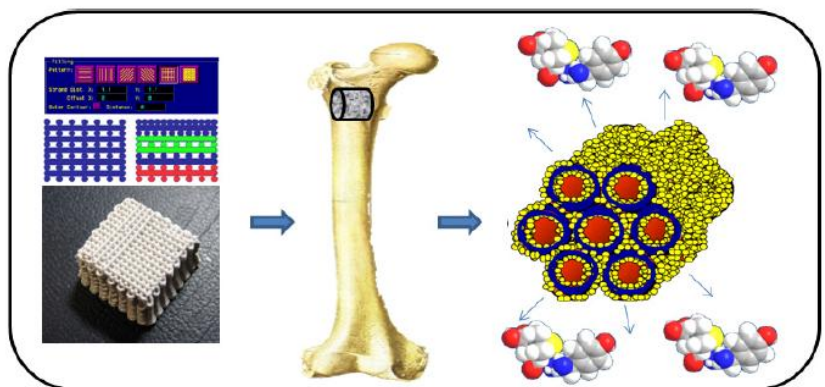
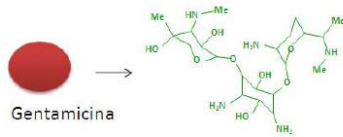


Figura 12. Diseño de la porosidad y preparación por impresión 3D de un VMB (izquierda). Implante en defecto óseo y liberación de gentamicina (derecha) [1]

Participación del boro en la regeneración ósea y el uso de dexametasona como fármaco osteogénico

El boro es uno de los elementos traza en el cuerpo humano que interviene los procesos de embriogénesis, el crecimiento óseo y su mantenimiento, la función inmune y habilidades psicomotoras. En particular, en las mujeres post-menopáusicas, el boro podría estimular la producción de estrógeno, imitando así sus efectos. Adquiere gran interés la introducción de boro en los materiales bioactivos para conseguir una regeneración ósea en la pérdida ósea post-menopáusica que puede conducir a osteoporosis y fracturas. Por otro lado, la dexametasona (DEX) es un fármaco para uso osteogénico utilizado en experimentos de cultivo celular para inducir la proliferación, maduración y mineralización de la matriz extracelular de los osteoblastos. Por ello se realizó un estudio en el que se desarrollaron andamios B-VMB (vidrios mesoporosos bioactivos con boro incorporado) por el método de sol-gel (sol: dispersión de partículas coloidales de 1 a 100 nm en un líquido; gel: malla rígida interconectada con poros de dimensiones de submicrómetros [9]). Los andamios de B-VMB tenían distintos porcentajes de incorporación de boro (molar: 0, 5 y 10%), además del polímero no iónico P123 (EO20-PO70-EO20) que produce las estructuras mesoporosas (en nanómetros) y las esponjas de poliuretano que crean poros grandes (en micrómetros)[7]. Se obtuvieron los siguientes valores en la tabla 2:

Materiales	Área superficial (m ² /g)	Volumen de poro (cm ³ /g)	Tamaño de poro (nm)
0B-VMB	265	0.329	5.285
5B-VMB	234	0.244	5.280
10B-VMB	194	0.207	5.085

Tabla 2. Área superficial, volumen de poro y tamaño de poro de 0B-VMB, 5B-VMB y 10B-VMB. A medida que se incorpora más boro, decrecen los valores expuestos. [7]

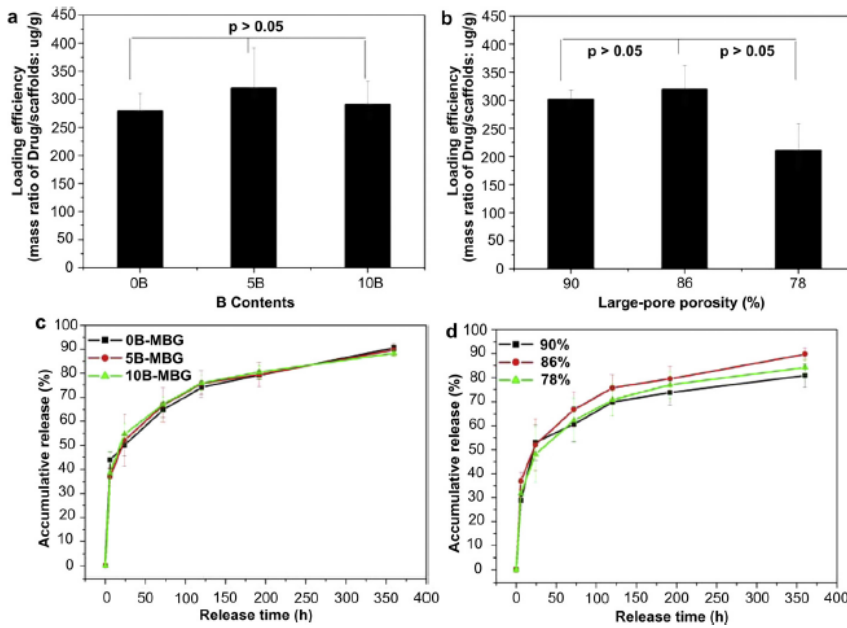


Figura 13. Estudio de las muestras de 0B-VMB, 5B-VMB y 10B-VMB: Efecto del contenido de boro y del tamaño de poro en la carga y liberación de DEX. La incorporación de B no influye en la carga (a) y liberación (c) de DEX. Los andamios con una porosidad del 86-90% son muy eficientes en la carga (b), pero los poros grandes no tienen mucho efecto en la liberación de DEX. [7]

Los resultados mostraron que en estos B-VMB la incorporación de boro, disminuye ligeramente el área superficial específica y el volumen del poro, pero mantiene la estructura ordenada y la elevada área superficial y un volumen de poro nanométrico (mesoporos) en comparación con los vidrios bioactivos no mesoporosos, pero no influye en la carga y la liberación de DEX. Por otro lado, son capaces de mantener una liberación sostenida de DEX a largo plazo y mejoró significativamente la actividad de la fosfatasa alcalina (ALP) y la expresión de genes (Col I, Runx2, ALP y BSP) de osteoblastos. A su vez permiten una liberación controlada de iones boro que mejoraron significativamente la proliferación y la expresión de genes relacionados con el hueso (Col I y Runx2) de los osteoblastos. Hay bastante posibilidad, que la liberación de iones de boro a partir de los B-VMB son seguros para la salud humana. En definitiva, se sugiere que el boro es capaz de incrementar la proliferación de osteoblastos en los andamios B-VMB y que los andamios de B-VMB cargados con DEX presentan un gran potencial como sistema liberador para potenciar la propiedad osteogénica y así poder ser aplicados en la ingeniería del tejido óseo. [7]

6. CONCLUSIONES

Las biocerámicas son biomateriales con buena biocompatibilidad y osteointegración y a su vez, son los materiales más parecidos al componente mineral del hueso; para ser implantados, se tienen que adaptar a cada ser vivo, de manera que se sintetizan y elaboran de forma específica. Hoy día ante los daños y defectos óseos, se está pasando de un concepto de sustitución a regeneración ósea y así se están desarrollando los vidrios mesoporosos bioactivos (VMB) que tienen una excelente bioactividad, biocompatibilidad y osteoconductividad para las terapias regenerativas, por ser materiales porosos altamente ordenados que emplean la escala nanométrica, con una elevada área superficial y un volumen de poro con una distribución de diámetro de poro estrecha, que también permitirían que fuesen sistemas de liberación de fármacos y proteínas de forma gradual. Por tanto, va a suponer un avance muy importante en los implantes evitando sucesivas intervenciones quirúrgicas.

En base a los resultados expuestos en el trabajo de fin de grado se puede concluir que:

- Modificando las cantidades de óxido de calcio se pueden obtener diferentes estructuras (desde fases hexagonales hasta ortorrómbicas y cúbicas), al igual que para la estructura final del andamio es de vital importancia la selección del surfactante adecuado que actúa como agente director de estructura.
- Sólo una pequeña cantidad de los iones de calcio que se liberan por la degradación de los VMB participan en la formación del nuevo hueso.
- Los iones de silicio y calcio son capaces de promover los genes osteogénicos, conducen a la mineralización del tejido óseo y la quimiotaxis de osteoblastos.
- Los componentes activos que derivan de la degradación de los andamios de VMB pueden activar los niveles de expresión de ARNm de los genes relacionados con osteoblastos en las células madre mesenquimales.

- El tejido primario para la deposición del ión calcio es el hueso. Los productos de degradación no afectan negativamente a la morfología o función de los tejidos, reflejando la seguridad biológica de éstos.
- Además de las características relacionadas con el poro, el área superficial etc la funcionalización de los VMB juega un papel importante ya que influye en la cantidad de biomoléculas que se adsorben, la cinética de liberación de fármacos pero como inconveniente podrían modificar la bioactividad del VMB.
- La ventaja de emplear los VMB como sistemas liberadores de fármacos permite emplear fármacos a nivel local, reducir la dosis y que no se vean afectados otros órganos. Con el empleo de antibióticos se garantiza una defensa contra la infección tras el acto quirúrgico.
- Por último decir que la incorporación de boro mantiene la estructura ordenada, no influye en la carga y liberación de dexametasona, es capaz de mantener la liberación sostenida de dexametasona a largo plazo, es capaz de incrementar la proliferación de osteoblastos y junto a la dexametasona muestra un gran potencial para la propiedad osteogénica.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Arcos Navarrete D. Vidrios mesoporosos bioactivos: implantes y sistemas de liberación de fármacos al servicio de terapias regenerativas óseas. 1st ed. Madrid; 2012.
2. L Hench L, R Jones J, Sepulveda P. Bioactive Materials for tissue engineering scaffolds. 1st ed.
3. López-Noriega A, Arcos D, Izquierdo-Barba I, Sakamoto Y, Teraski O, Vallet-Regí M. Ordered Mesoporous Bioactive Glasses for Bone Tissue Regeneration. 1st ed. Madrid y Estocolmo; 2006.
4. Yan X, Yu C, Tang J, Zhao D. Highly Ordered Mesoporous Bioactive Glasses with Superior in Vitro Bone-Forming Bioactivities. 1st ed. 2004.
5. Sui B, Zhong G, Sun J. Evolution of a Mesoporous Bioactive Glass Scaffold Implanted in Rat Femur Evaluated by ⁴⁵Ca Labeling, Tracing, and Histological Analysis. 1st ed. Shangai; 2013.

6. Gómez-Cerezo N, Izquierdo-Barba I, Arcos D, Vallet-Regí M. Tailoring the biological response of mesoporous bioactive materials. 1st ed. Madrid; 2015.
7. Wu C, Miron R, Sculean A, Kastel S, Doert T, Schulze R et al. Proliferation, differentiation and gene expression of osteoblasts in boron-containing associated with dexamethasone deliver from mesoporous bioactive glass scaffolds. 1st ed. 2011.
8. Wu Chang J. Mesoporous bioactive glasses: structure characteristics drug, growth factor delivery and bone regeneration application. 1st ed. 2012.
9. Lizarbe M. Sustitutivos de tejidos: de los biomateriales a la ingeniería tisular. 1st ed. Madrid; 2007.
10. Vallet-Regí M. Biocerámicas: regeneradoras de hueso y portadoras de sustancias biológicamente activas. 1st ed. Madrid; 2014.
11. Duran A. Sol-gel: un nuevo camino hacia el vidrio (o como obtener materiales singulares a través de la química). 1st ed. Madrid; 1986.
12. Vallet-Regí M. Hoja de ruta para el diseño de sustitutos óseos. 1st ed. Madrid.
13. Castro Y, Ferrari B, Moreno R, Durán A. Recubrimientos sol-gel obtenidos por deposición electroforética (EPD) sobre metales. 1st ed. Madrid; 2000.
14. Vallet-Regí M, Doadrio Villarejo A. Liberación de fármacos en matrices biocerámicas: avances y perspectivas. 1st ed. Madrid;.
15. López-Quiles Martínez J. Densitometría ósea de los maxilares. 1st ed. Madrid; 1998.
16. Aguiar H, Serra J, González P. Los vidrios bioactivos en el mundo de los biomateriales. 1st ed. Vigo; 2011.
17. Hulsart-Billström G, I Dawson J, Hofmann S, Müller R, J Stoddart M, Alini M et al. A surprisingly poor correlation between in vitro and in vivo testing of biomaterials for bone regeneration :results of a multicentre analysis. 1st ed. 2016.
18. Muratore Moreno G, Ojeda Castellano J, Erdocia Eguia P, Carrasco Martínez L, Chirino Cabrera A, Rodríguez Álvarez J. Biomateriales cerámicos. 17th ed. Las Palmas de Gran Canaria; 2003.
19. Vallet-Regí M. Biocerámicas: evolución y aplicaciones. 1st ed. Madrid; 2011.

20. Hoffmann F, Cornelius M, Morell J, Fröba M. Silica-based Mesoporous Organic-Inorganic Hybrid Materials. 1st ed. 2006.

21. 13.1 El tejido óseo. Recuerdo anatomofisiológico — OCW Universidad de Cantabria [Internet]. Ocw.unican.es. 2016 [cited 3 June 2016]. Available from: <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-13.-envejecimiento-musculo-esqueletico/13.1-el-tejido-oseo.-recuerdo-anatomofisiologico>

22. 13.2 Remodelación ósea — OCW Universidad de Cantabria [Internet]. Ocw.unican.es. 2016 [cited 3 June 2016]. Available from: <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-13.-envejecimiento-musculo-esqueletico/13.2-remodelacion-osea>

23. Zhang X, Zeng D, Li N, Wen J, Jiang X, Liu C et al. Functionalized mesoporous bioactive glass scaffolds for enhanced bone tissue regeneration. Sci Rep. 2016;6:19361.