



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**VIDRIOS BIOACTIVOS PARA LA
FABRICACIÓN DE SCAFFOLDS EN LA
REGENERACIÓN DEL TEJIDO ÓSEO**

Autor: Ana Curiá Chíncoa

D.N.I.: 05315976D

Tutor: Jesús Román Zaragoza

Convocatoria: Junio

RESUMEN

Tradicionalmente los vidrios bioactivos han sido usados para rellenar y reparar tejidos óseos. Los vidrios bioactivos, objetivo de este trabajo, pertenecen al grupo A dentro de la clasificación de los biomateriales, caracterizados por ser osteoconductivos y osteoinductivos, motivo por el cual se han convertido en un interesante campo de investigación para el desarrollo de la ingeniería de tejidos. En esta revisión bibliográfica se realiza un recorrido a través de sus propiedades mecánicas como material para scaffolds, también conocidos como andamiajes celulares (estructuras temporales que permiten el crecimiento de nuevo tejido) en la regeneración del tejido óseo, así como otras propiedades y mecanismos de acción a través de los cuales se forma la unión con el tejido óseo gracias a los cuales constituyen una buena opción para la ingeniería de tejidos. Además, se revisan sus ventajas y limitaciones, así como sus futuros campos de investigación.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica acerca del estado actual del papel del vidrio bioactivo como material para la fabricación de scaffolds en la ingeniería de tejidos, centrándose especialmente en los vidrios bioactivos de silicio por ser los más usados e investigados en la actualidad.

METODOLOGÍA

Para cumplir con el objetivo de este trabajo se realizó una búsqueda bibliográfica en la base de datos PubMed y ScienceDirect, usando como palabras clave: *Scaffold*, *bioactive glass* y *tissue engineering*.

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, cuando se procede a la reparación de un defecto óseo, cuales quiera que sean los motivos, el patrón de referencia es el autoinjerto [1] que presenta como inconveniente el limitado suministro y la lesión consecuente en otra parte del organismo. Como alternativa se puede optar por los injertos homólogos o heterólogos (con la desventaja de que pueden producirse reacciones de rechazo).

En las dos últimas décadas, la ingeniería de tejidos ha surgido como un campo prometedor en la reparación de órganos o tejidos como resultado de lesiones traumáticas, enfermedades o el propio envejecimiento [2]. Además, posee el potencial de superar la barrera que supone la baja disponibilidad de órganos para trasplantes, así como la corta

vida de estos. A esto se suma la actual falta de alternativas, el impacto económico que suponen este tipo de intervenciones sobre los sistemas de asistencia sanitaria y un creciente envejecimiento de la población, que motiva aún más el desarrollo de área [3].

Dentro de la ingeniería de tejidos es importante tener claro el concepto de biomaterial, ya que serán uno de los pilares que permitan el avance en este campo. Un biomaterial se define como una sustancia que ha sido diseñada para adquirir una forma que, o bien por sí sola o bien como parte de un sistema complejo, es usada para dirigir, mediante el control de interacciones con componentes de los sistemas vivos, el curso de cualquier procedimiento terapéutico o proceso diagnóstico [4].

Si nos centramos en la reparación de tejido óseo, cobran especial relevancia las biocerámicas, dentro de las cuales se encuentran los vidrios bioactivos, objetivo principal de este trabajo.

Los vidrios bioactivos surgen como consecuencia del intento de superar las limitaciones y problemas de los materiales disponibles hasta el momento [5], que no eran capaces de cumplir con los requerimientos técnicos. Dichos materiales se elegían debido a que eran bioinertes [6] (es decir, se buscaba que no interaccionara con el organismo por considerarse lo más adecuado). Pero debido a que realmente no existe ningún material que no reaccione con el organismo, estos materiales propiciaban reacciones de encapsulación y en el caso de los metales, corrosión. Además, los metales, que son más fuertes y rígidos que el hueso, promueven la resorción ósea mediante la protección del esqueleto de alrededor de sus niveles de estrés normales. Como consecuencia, el implante se acaba aflojando haciendo necesaria otra intervención quirúrgica [1].

En 1971 L. Hench, con el objetivo de superar estos problemas, diseñó un vidrio biodegradable en el sistema $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$. El gran descubrimiento fue el hecho de que un vidrio compuesto por un 46,1 mol. % SiO_2 , 24,4 mol. % Na_2 , 26,9 mol. % CaO , y un 2,6 mol. % SiO_2 , (conocido como Bioglass®), era capaz de formar una unión con el

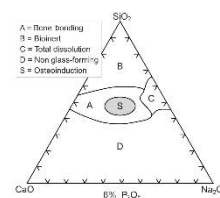


Fig. 1

hueso tan fuerte que no podía ser eliminado sin romper el tejido óseo [7]. Este vidrio muestra el índice de bioactividad (Fig. 1) (la capacidad que tiene un material de interactuar con los tejidos, blandos y duros, del organismo [8], más alto ($I_B=25$) hasta ahora conocido y es aún considerado el patrón de referencia para otros materiales bioactivos [9]. Tras el descubrimiento del Bioglass®, se desarrollaron a lo largo de los años numerosas

variaciones de vidrios que se encuentran actualmente disponibles en el mercado, especialmente aquellos vidrios de silicio bioactivos con composición diferentes, como aquellos que no contienen sodio o aquellos a los que se les ha añadido algún otro elemento a la red de silicio, como el flúor, magnesio, estroncio, hierro, plata, boro, potasio o zinc [10], incluyendo también los vidrios de fosfato, borato e invertidos (cuando la cantidad de elementos formadores de red es menor que la de los modificadores) [9].

El Bioglass®, en uso clínico desde 1985 [5] junto con otros tipos de vidrios bioactivos, supone una buena base para la ingeniería de tejidos, en especial el tejido óseo, ya que, como se describirá posteriormente, posee muchas de las características que deben reunir los materiales usados en este campo. Además, con el objetivo de mejorar la respuesta biológica y facilitar el proceso de curación, estos vidrios pueden ser dopados con elementos traza u óxidos terapéuticos. Por ejemplo, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Na^+ y Ga^{3+} que pueden ser incorporados con el fin de modular la bioactividad. Los iones Al^{3+} y Ga^{3+} pueden mejorar la resistencia y Ag^+ , Zn^{2+} , Cu^{2+} y Ti^{3+} , en cantidades adecuadas, pueden aportar propiedades antibacterianas [10].

Estos vidrios han tenido una gran repercusión en la fabricación de scaffolds, que pueden definirse como una estructura porosa temporal que guía la formación de nuevo tejido mediante el abastecimiento de una matriz con una porosidad interconectada y una superficie química adaptada para el crecimiento y proliferación celular, así como el transporte de nutrientes y de productos de deshecho [1]. Pueden, incluso, incorporarse factores de crecimiento u otras biomoléculas, que ayuden a la regulación celular durante el proceso [10, 11].

El hueso es considerado una estructura biomecánicamente anisotrópica, heterogénea, no lineal, viscoelástica y termoreológicamente compleja. Por ello cualquier material que se considere para su reemplazo deberá cumplir con los requerimientos mecánicos, químicos y biológicos adecuados [12]. Para la regeneración del tejido óseo encargado del soporte de carga han sido estudiados el uso de polímeros biodegradables o cerámicas como las hidroxiapatitas que, pese a las buenas cualidades que presentan por separado, no cumplen con las exigencias técnicas requeridas. Con la intención de superar el problema, algunos intentos se han dirigido hacia la creación de polímeros reforzados con una fase inorgánica biocompatible, normalmente hidroxiapatita (HA) u otras cerámicas bioactivas. Sin embargo, no se ha conseguido igualar las prestaciones mecánicas del hueso. Es aquí donde

parece cobrar especial importancia los vidrios bioactivos ya que, a pesar de la fragilidad del cristal como biomaterial, poseen mejores prestaciones mecánicas que los polímeros y las mencionadas cerámicas bioactivas. Desde el descubrimiento del vidrio bioactivo 455S por Hench, este tipo de cerámicas han sido consideradas como uno de los materiales más adecuados para la fabricación de scaffolds en la reparación de tejido óseo. Esto es debido principalmente a su reconocida capacidad para unirse al hueso, así como para estimular su crecimiento [4], ya que poseen como ventaja frente a otras cerámicas bioactivas la capacidad de estimular la expresión de genes en osteoblastos, lo cual conducirá a un proceso de osteogénesis y promoción de la formación de tejido óseo, además de estimular procesos de angiogénesis [1, 7, 8].

Dado que las propiedades del scaffold dependen principalmente de la composición y de la microestructura, es necesario analizar cada uno de estos factores por separado.

1. PROPIEDADES MECÁNICAS

Para poder comprender adecuadamente las características de los scaffolds de vidrio bioactivo es conveniente realizar una breve descripción acerca de la fisiología del tejido óseo. El hueso es lo que se conoce como un composite (unión íntima de dos materiales cuyas propiedades superan las de cada uno de manera individual), compuesto por una base mineral (69%, hidroxiapatita, fosfato cálcico, carbonato, etc.) que le confiere el refuerzo estructural, rigidez, homeostasis mineral, una fase orgánica (22%, de la cual el 90% es colágeno y el resto componentes celulares), que otorga flexibilidad y tenacidad y soporte de funciones celulares y un 9% de agua[1, 13]. Por otro lado, dependiendo de la función principal que desempeñen, se puede clasificar en: a) hueso cortical o compacto, y b) hueso trabecular o esponjoso. El hueso cortical, es mucho más denso y con una porosidad de entre un 5-10%. El hueso trabecular posee porosidades mucho mayores, encontrándose en un rango entre el 50-90%.

Hay que tener en cuenta también que las propiedades mecánicas del tejido óseo varían según el sujeto y las diferentes regiones del mismo hueso. Esto supone un desafío de cara al diseño y la fabricación de los scaffolds ya que implica una gran variabilidad en cuanto a arquitectura y propiedades mecánicas, a lo cual se suma el hecho del que el tejido óseo varía en función de la edad, el estado nutricional, la actividad y las posibles patologías que desarrolle el sujeto [1].

En la mayoría de la literatura, gran parte de los estudios se centran en la respuesta mecánica a la compresión de carga, especificando datos acerca de la resistencia de compresión y, a veces, acerca del módulo elástico para una serie de tasas de deformación. Sin embargo, otras propiedades mecánicas como son la fuerza de flexión, la dureza de la fractura, la seguridad o confiabilidad y el trabajo de fractura también son de vital importancia cuando consideramos un material y su aplicación como scaffold.

Teniendo en cuenta estas características del tejido óseo podemos entender mejor las prestaciones mecánicas que se pretende que tengan estos vidrios bioactivos como material para la fabricación de scaffolds:

1.1 Resistencia

Datos recogidos de 20 estudios diferentes permiten llegar a una serie de conclusiones en función de la composición y el método que haya sido usado para su fabricación [10].

a) La fuerza de compresión abarca casi tres órdenes de magnitud, oscilando desde 0.2 a 150 MPa para porosidades de 30-95%. Para una misma composición y microestructura (arquitectura), la resistencia se incrementa a medida que disminuye la porosidad, tendencia que también se observa en otros materiales porosos.

b) Los datos muestran que la arquitectura del scaffold (resultante del tipo de método de preparación usado) tiene una fuerte influencia en la resistencia, independientemente de la composición del vidrio. Para una misma porosidad, scaffolds con una arquitectura porosa orientada, muestran una fuerza de compresión mucho mayor que aquellos con una porosidad aleatoria o isotrópica.

c) Los datos que relacionan resistencia-porosidad muestran que, para una arquitectura dada, la composición del vidrio puede tener un marcado efecto sobre la resistencia mecánica del scaffold. Como ejemplo, para scaffolds con una misma porosidad aproximada $> 80\%$ fabricados mediante replicación de espumas poliméricas, la resistencia de los scaffolds del vidrio 13-93 (11MPa) era unas 20 veces mayor que para aquellos derivados del vidrio bioactivo 45S5 (0,5 MPa).

Todo ello demuestra que la resistencia de los vidrios bioactivos para la reparación de huesos que hagan de soporte de carga puede ser mejorada de manera que no sea una limitación total para su uso como biomaterial. Mediante la optimización de la composición del vidrio, junto con un mejor control de la arquitectura porosa a través del uso adecuado

de las diferentes técnicas, se pueden conseguir scaffolds que combinen los requerimientos necesarios tanto de cara a la resistencia como a la porosidad.

1.2 Baja Tenacidad a la fractura y seguridad (confiabilidad)

Los scaffolds implantados en huesos de soporte de carga están normalmente sujetos a cargas cíclicas. Por esa razón, otro de los factores limitantes para el uso de vidrios bioactivos como material para scaffolds, es su fragilidad intrínseca o baja resistencia a la propagación de grietas. Por lo general, la resistencia de un material a la propagación de grietas se mide en términos de un parámetro de ingeniería conocido como tenacidad a la fractura, denominado K_{IC} . Para materiales cerámicos, en este caso los vidrios, los valores suelen ser bajos por naturaleza ($0,5-1; \text{Pa}\cdot\text{m}^{1/2}$) y por ello resultan un material especialmente sensible a la presencia de pequeños defectos.

1.3 Endurecimiento de los scaffolds porosos de vidrio bioactivo

El hueso cortical posee una tenacidad a la fractura de $2-12 \text{MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$, mucho mayor que la que posee el vidrio [1]. Inspirados en los mecanismos naturales de endurecimiento del hueso, se han llevado a cabo estudios con el objetivo de mejorar la tenacidad de los scaffolds de vidrio bioactivo. Una de las aproximaciones es la de recubrir o infiltrar el scaffold con un polímero biodegradable, proveyendo así a la fase inorgánica (el vidrio bioactivo) de una fase orgánica (como el PLC, policaprolactona) que aumente la tenacidad y conseguir así un scaffold con propiedades más parecidas a las del hueso. Esto provoca que la fragilidad de vidrio bioactivo, que conduciría normalmente a un fracaso del scaffold una vez implantado, no se observe, por ejemplo, tras someter a un proceso de compresión a un scaffold de vidrio bioactivo recubierto con PLC, que muestra una respuesta “plástica”. Se cree que este fenómeno es debido a la extensión de las fibrillas del PLC (fase orgánica) y el puenteo de fisuras, lo cual ayuda a disipar la energía aplicada durante el proceso de compresión. Se concluye además que este mecanismo de aumento de la tenacidad sería bastante similar a aquel que proveen de manera natural las fibrillas de colágeno en el hueso cortical.

Con todo esto, es necesario tener en cuenta que estos estudios fueron realizados sobre scaffolds de vidrio bioactivo con una baja resistencia y sería necesario reevaluar los resultados relativos a la tenacidad en scaffolds de vidrio bioactivo con una mayor resistencia para una aplicación en hueso que soporten una mayor carga.

2. SCAFFOLDS DE VIDRIOS BIOACTIVOS

Se considera actualmente que la ingeniería de tejidos está basada en tres pilares que son, células, moléculas señalizadoras y scaffolds [14].

Los scaffolds usados en ingeniería de tejidos están sujetos a una gran cantidad de requerimientos biológicos y estructurales que están interrelacionados y que, obviamente, deben ser tenidos en cuenta a la hora de seleccionar un biomaterial que sea adecuado para su fabricación. A continuación, se citan las características que de manera general debería reunir un scaffold que vaya a ser implantado en el organismo [7]:

- Ser bioactivo y biocompatible, promoviendo la fijación de células osteogénicas y la propia osteogénesis.
- Ser capaz de unirse al hueso del huésped sin que se produzca la formación de tejido fibroso que lo separe del mismo.
- Tener una estructura que posea poros interconectados que permitan el flujo de fluidos, la migración celular, el crecimiento óseo y la vascularización, así como la salida de productos de deshecho.
- Degradarse a una velocidad determinada y finalmente ser remodelado por la acción de los osteoclastos.
- Ser capaz de compartir la carga mecánica con el hueso del huésped y mantener una serie de propiedades mecánicas durante su degradación y remodelado.
- Poder elaborarse mediante un proceso que permita posteriormente la fabricación a gran escala.
- Ser de un material que permita la esterilización y cumpla con los requerimientos para el uso médico.

De manera más específica, se considera que la porosidad del scaffold debería cumplir con los siguientes requisitos en relación a su arquitectura: poseer una estructura porosa interconectada (es decir, debería ser altamente permeable), con una porosidad <90% y con un diámetro de poros que se encuentre en un rango de 10-500 μ m, para, como ya se ha mencionado antes, facilitar el sembrado de células, el crecimiento óseo, la vascularización, así como la llegada de nutrientes y la salida de desechos [7].

Un criterio de diseño particular para los scaffolds en ingeniería de tejidos es el mimetismo y la aplicación de la porosidad bimodal del tejido del hueso esponjoso, lo cual es un factor relevante para una correcta vascularización y para el crecimiento óseo.

La geometría y las propiedades anisotrópicas del hueso hacen del diseño de un scaffold para la regeneración ósea un reto. El material debe ser diseñado con una resorción y degradación compatible con los tejidos que lo rodean. Así mismo debe cumplir con una serie de requisitos mecánicos de manera que el scaffold mantenga una integridad estructural adecuada hasta que el nuevo tejido sea capaz de soportar la carga por sí solo.

3. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS VIDRIOS BIOACTIVOS

Las características *in vitro* de los scaffolds de vidrio bioactivos, como son la tasa de degradación, la conversión hacia un material de tipo apatita, así como sus prestaciones mecánicas, dependen principalmente de la composición y de la arquitectura de los mismos.

Normalmente la cinética de degradación del vidrio y su conversión a HA *in vitro* se mide mediante la inmersión de dicho vidrio en una solución acuosa de fosfato como el SBF (simulated biological fluid) a 37°C y midiendo la pérdida de peso del vidrio en función del tiempo. La degradación conlleva la liberación de especies solubles y de iones (como Na⁺, Si(OH)₄, (BO₃)³⁻, dependiendo de la composición de vidrio) que producen un cambio en el pH de la solución y de la concentración iónica en función también del tiempo [2]. El mecanismo mediante el cual los vidrios

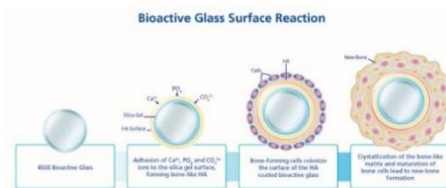


Fig. 2

bioactivos se degradan y se convierten en un material de tipo HA han sido objeto de varias investigaciones (Fig. 2) [2] y aunque los mecanismos generales parecen ser en gran medida entendidos, la influencia que posee la composición del vidrio muchas veces sigue siendo incierta [7]. La formación de la capa de HAC (hidroxiapatita carbonatada) se produce mediante un mecanismo muy similar al que tiene lugar durante la corrosión convencional de los vidrios [7]. La acumulación de los productos de disolución provoca tanto un cambio en la composición química como en el pH del medio, generando lugares de fijación en la superficie y un pH que contribuye a la nucleación de la HCA [7]. De manera más específica, Hench sugirió que la formación de la capa de HAC tiene lugar en cinco etapas tras el contacto entre el vidrio bioactivo y el medio que lo rodea [8]. En primer lugar, iones de naturaleza alcalina son liberados desde el vidrio y son reemplazados en la estructura cristalina por H⁺ del medio. Como consecuencia se produce un incremento del pH local que provoca la ruptura de los puentes Si-O-Si del vidrio. En una segunda etapa, el silicio es liberado al medio en forma de silanol (Si(OH)₄), y como el pH local es menor de 9.5, estos

grupos silanol se condensan en una tercera etapa formando una capa de gel de sílice polimerizada. La estructura de este gel que se acaba de formar permite que siga existiendo un intercambio iónico entre el vidrio bioactivo y el medio que lo rodea. De esta manera, los iones calcio y fosfato difunden desde el vidrio conjuntamente con los del medio hasta formar una capa de fosfato de calcio amorfo sobre la capa de sílice ya formada [7].

Aun así, hoy en día, continua sin estar claro como tienen lugar las etapas siguientes en las cuales ocurre la interacción celular [2,7]. Se sabe que cierto tipo de proteínas se adhieren a la capa de HAC y que en uno de los pasos finales tiene lugar la fijación de células osteoprogenitoras, que sufrirán un proceso de diferenciación y comenzarán a sintetizar la matriz celular lo que finalmente dará lugar a la regeneración del tejido óseo.

4. LIMITACIONES DE LOS VIDRIOS BIOACTIVOS EN SU APLICACIÓN COMO SCAFFOLD

Los vidrios bioactivos poseen una serie de ventajas frente a otros materiales a la hora de ser usados en la fabricación de scaffolds. Una de las principales ventajas es la facilidad para controlar su composición química [1]. La estructura y la química de los vidrios puede ser adaptada a un amplio intervalo mediante variaciones en la composición o el tipo procesamiento. De esta manera pueden diseñarse vidrios bioactivos que puedan tener una velocidad de degradación que se ajuste tanto al del crecimiento del hueso como acercarse más a los requerimientos mecánicos. Sin embargo, poseen una serie de inconvenientes que suponen un reto para el diseño. Una de las principales desventajas es la baja resistencia mecánica que presentan. Con el objetivo de superar esta limitación, diferentes estudios demuestran que, mediante la optimización de la composición, y las condiciones del procesamiento, se pueden crear scaffolds de vidrio bioactivo con una arquitectura porosa prediseñada y con una resistencia similar a la del hueso trabecular y cortical. Aun así, no se ha conseguido mediante estos métodos lograr un soporte mecánico que iguale el del hueso en lo que a soporte de carga se refiere.

Otra de las desventajas es la fragilidad inherente de estos vidrios debido a los procesos de cristalización que se produce durante la sinterización [7]. Esta característica limita en gran medida el rango de aplicación clínica [15].

Además, es importante no olvidar el problema potencial de las infecciones inherente a todo proceso quirúrgico como sería la propia implantación del scaffold. Sin embargo, en

este aspecto, como se ha mencionado previamente, el dopaje de vidrios bioactivos puede modificar la velocidad de disolución, así como aportar un efecto terapéutico mediante la liberación de iones. Esto es importante porque las infecciones asociadas a la implantación de biomateriales durante una cirugía pueden causar graves complicaciones. Una de las estrategias para prevenir la formación de biofilms bacterianos es la de usar componentes antimicrobianos de amplio espectro (eficaz tanto frente a Gram positivos como a Gram negativos). El mecanismo exacto mediante el cual el vidrio bioactivo dota al scaffold de tales propiedades no es del todo entendido, pero ha sido propuesta una hipótesis en la que la eliminación de bacterias sería debida a un aumento de pH y los subsecuentes efectos osmóticos resultado de la liberación de iones como Ag^+ , Zn^{2+} , Cu^{2+} y Ga^{3+} [10].

5. IMPORTANCIA DE LA POROSIDAD JERARQUIZADA

La existencia de poros en el scaffold es necesaria ya que permite la migración y la proliferación de osteoblastos y células mesenquimales y la vascularización [10, 16]. De forma general se considera que los requerimientos mínimos para que se produzca el crecimiento de tejido y la funcionalidad de los scaffolds son poros con un diámetro medio de 100 μm y una porosidad <50% [1, 2].

Con el objetivo de que el scaffold posea una óptima funcionalidad, se ha visto que es conveniente la existencia de cierta heterogeneidad en el tamaño de los poros, de manera que se puede hablar de diferentes niveles jerarquizados de porosidad.

Los poros de mayor tamaño (> 300 μm) son un requerimiento para una mejor formación del hueso, así como para la formación de capilares. La microporosidad ($\approx 2\text{-}10\mu\text{m}$, < 50 μm) es esencial para una inmediata adhesión de células y proteínas, migración celular y osteointegración. Se ha demostrado que el proceso de vascularización se ve afectado por la presencia de estos microporos influyendo de manera constatable en la progresión de la osteogénesis [2, 11, 17].

Además, se ha visto que los poros de menor diámetro favorecen las condiciones de hipoxia e inducen la formación osteocondral antes de la ontogénesis, mientras que los poros de mayor tamaño, que se encuentran bien vascularizados, conducen directamente a la ontogénesis.

Sin embargo, un incremento excesivo en la porosidad puede afectar negativamente a la resistencia del scaffold y por lo tanto el volumen de vacío debería ser controlado de

manera que permita tanto la acomodación de las células como el mantenimiento de la resistencia requerida para soportar la carga.

Por ello, de cara al diseño será vital llegar a un compromiso entre porosidad y la conservación de unas propiedades mecánicas adecuadas que permitan al biomaterial desempeñar su función como estructura temporal en la neogénesis del hueso [2].

Un scaffold ideal sería aquel que se degradará a una velocidad comparable a la del crecimiento del tejido óseo, creando un espacio abierto para la formación de nuevo tejido hasta que la regeneración haya sido conseguida.

6. TIPOS DE VIDRIOS BIOACTIVOS

En base a su composición, de manera general, podemos clasificar los vidrios bioactivos en:

a) Vidrios bioactivos de silicio.

Desde su descubrimiento, el Bioglass ® ha sido el vidrio bioactivo más investigado para aplicaciones médicas, así como el más usado. Las características claves en su composición y que son responsables de la bioactividad del 45S5 son su bajo contenido en SiO₂ y su alto contenido en Na₂O y CaO, así como la relación CaO/P₂O₅ [7]. Además, se ha comprobado que los niveles de silicio juegan un papel de vital importancia en lo referente a la unión y formación del nuevo hueso, demostrando que la rapidez del proceso puede variar en función del porcentaje del elemento (siendo más lenta cuanto mayor es el porcentaje de silicio en el vidrio, pudiendo llegar incluso a no presentar unión directa entre el material y el hueso) [11].

Por otro lado, se ha observado que la gran cantidad de modificadores de la red cristalina como el CaO y Na₂O, así como la alta proporción CaO/P₂O₅ estimulan la reactividad de la superficie del vidrio dentro de un ambiente fisiológico. Con todo ello, la principal limitación de cara a la reactividad asociada a este tipo de vidrios es su baja tasa de degradación y por lo tanto de conversión hacia apatita, lo que complica la velocidad de resorción del implante y simultáneamente el crecimiento del hueso. Sin embargo, esta tasa de conversión es tres veces mayor *in vivo* que *in vitro*.

Existen también algunas variaciones desarrolladas posteriormente como el vidrio bioactivo 13-93 que han demostrado también ser capaces de soportar la proliferación

celular y la diferenciación de osteoblastos y células madre mesenquimales tanto *in vitro* como *in vivo* [9].

Entender la estructura atómica del vidrio es importante ya que las propiedades de este son resultado directo de la misma y permite un mejor diseño de composiciones alternativas [7]. En el caso de los vidrios de silicio se trata de un conjunto de tetraedros de sílice conectados por puentes de oxígeno Si-O-Si. El silicio es por lo tanto el átomo formador de la red de vidrio. En este caso del Bioglass®, el Na y Ca actúan como modificadores de la red que no forman puentes de oxígeno, sino que establecen uniones del tipo Si-O⁻Na⁺.

La conectividad de la red de sílice viene dictaminada por la composición y el método de síntesis del vidrio. Un alto contenido de silicio resulta en una red altamente conectada que contiene una gran proporción de puentes de oxígeno y una baja capacidad de disolución y bioactividad menor. Dicha conectividad puede ser disminuida mediante la adición de modificadores de red (como el Na y el Ca).

b) Vidrios bioactivos de fosfato.

Los vidrios de fosfato también se han desarrollado para uso médico. Debido a que sus constituyentes están presentes en la fase orgánica mineral del hueso, poseen una afinidad química con el mismo. La solubilidad, al igual que los vidrios de silicio, puede ser controlada modificando su composición, y por lo tanto tienen una potencial aplicación como materiales reabsorbibles [2].

c) Vidrios bioactivos de borato.

Este tipo de vidrios se degrada más rápidamente debido a su baja durabilidad química y, por lo tanto, son capaces de convertirse completamente en un material de tipo HA, lo que no logran los vidrios bioactivos como el 45S5 o el 13-93 en la misma medida. Además, se ha demostrado que son también capaces de soportar la proliferación celular, así como procesos de diferenciación *in vitro*. La preocupación con el uso de este tipo de material radicaba en la posible toxicidad que pudieran presentar los iones de borato que se liberan al medio. Sin embargo, se ha demostrado que no resulta tóxico a las concentraciones a las que sería usado y por lo tanto en este aspecto, sería seguro su uso [2].

7. MÉTODOS DE PREPARACIÓN Y CÓMO AFECTA A LAS PROPIEDADES

De manera general los vidrios bioactivos pueden fabricarse usando dos tipos de proceso:

Método de fusión: Mediante este método los óxidos son fundidos juntos a altas temperaturas (por encima de los 1300 °C) en un crisol de platino y enfriados en un molde de grafito o en agua [7].

Método sol-gel: El método sol es un proceso que consiste en la síntesis química de materiales inorgánicos mediante la preparación de un sol (suspensión estable de partículas sólidas coloidales en un medio líquido), la gelificación de esa preparación y la eliminación del solvente [11]. Durante el proceso tiene lugar una reacción química de tipo polimérico que finalmente dará lugar al gel. Este gel puede ser secado y calentado hasta convertirse en un vidrio. El proceso sol-gel posee además una gran versatilidad ya que cambiando el pH de la solución se pueden obtener polvos nanoporosos o monolitos o nanopartículas.

Los scaffolds resultantes del proceso sol-gel tienen una arquitectura porosa jerarquizada que consiste en macroporos (10-500µm) interconectados, resultado del proceso de formación de espuma, y mesoporos (2-50 nm) que son implícitos al proceso [1].

Las principales diferencias resultantes entre los vidrios obtenidos por ambos métodos (Fig. 3) es que mientras que los vidrios sol-gel suelen tener una nanoporosidad inherente, los vidrios fabricados mediante fusión tienden a ser densos. Esta nanoporosidad resulta en una mejor respuesta celular debido a que imita la estructura jerarquizada del hueso humano y simula de manera más cercana el entorno fisiológico. Además, el área superficial es dos veces mayor (en torno a 100-200m²/g) en el caso de los vidrios sol-gel que en aquellos vidrios de composición similar fabricados mediante fusión [2]. Esto permite que los scaffolds se degraden antes y por lo tanto se forme antes la capa de HA.

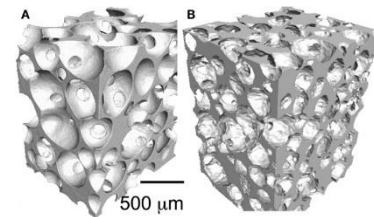


Fig. 3

Por otro lado, el método sol-gel suele requerir un menor número de componentes [7], esto es debido a que el papel principal del Na₂O en el método de fusión es el de disminuir la temperatura de fusión, mejorando así la procesabilidad. Además, también aumenta la solubilidad del vidrio, que como se verá posteriormente, resulta esencial para la bioactividad.

Una de las desventajas del método sol-gel frente al método de fusión es que resulta difícil obtener vidrios bioactivos libres de grietas con diámetros que excedan 1cm [7]. Dichas grietas se producen principalmente debido a: 1) La gran contracción que se produce

durante el proceso de secado, 2) La evaporación del líquido de los productos secundarios de la condensación [6].

Además de estos dos métodos principales, actualmente existen otras técnicas como son la replicación de espumas poliméricas, fabricación de formas solidas libres, manufactura de prototipos rápidos y robocasting, entre otros.

8. EFECTO DE LOS DIFERENTES IONES EN DISOLUCIÓN GENERADOS POR LOS VIDRIOS

Durante mucho tiempo se asumió que la reacción para la formación de una capa de HCA superficial era un requerimiento crítico para el comportamiento bioactivo. En concreto, la formación de esta capa se encuentra íntimamente asociada con la osteoconducción⁸. De hecho, de acuerdo con algunos autores [9], la razón por la cual estos vidrios presentan una mayor bioactividad respecto a otros materiales cerámicos como la hidroxiapatita, está relacionada con la velocidad a la cual se forma la capa de HCA; cuanto mayor es la velocidad a la cual se forma, más rápido se une el material al hueso, incrementándose así su osteoconductividad⁷.

El tejido óseo es un tejido altamente vascularizado que posee la habilidad de remodelarse a lo largo de la vida mediante la actividad de osteoblastos (células formadoras de hueso) y osteoclastos (células que se encargan de la resorción ósea). El proceso de formación y resorción (remodelación ósea) se encuentra regulado por una gran variedad de agentes locales y sistémicos entre los que se incluyen factores de crecimiento, hormonas y el estrés. Además, existen numerosos iones inorgánicos, en especial iones metálicos que actúan como cofactores enzimáticos que se encuentran involucrados en su metabolismo y que juegan un importante papel en la angiogénesis, el crecimiento y la mineralización. Por este motivo resulta interesante saber qué papel juegan en el metabolismo óseo los iones liberados desde el vidrio bioactivo ya que pueden actuar como agentes terapéuticos [3].

Los mecanismos clave que llevan a una mejora en el crecimiento óseo están relacionados con la liberación controlada de productos de disolución provenientes del vidrio bioactivo en degradación, especialmente concentraciones críticas de sílice soluble y calcio biológicamente activo [9]. Estudios recientes muestran que vidrios bioactivos parcialmente reabsorbibles y sus productos iónicos de disolución mejoran los procesos de osteogénesis mediante la regulación de procesos metabólicos que tienen lugar en el tejido

óseo. Teniendo esto en cuenta, se han propuesto cuatro mecanismos mediante los cuales el vidrio bioactivo es capaz de afectar a la expresión génica del tejido óseo [17]:

- a) Química de superficie
- b) Topografía
- c) Tasa y tipo de disolución de los iones
- d) Esfuerzo cortante en la interfase scaffold/hueso

Se ha visto que parte de la importancia de estos productos de disolución radica en su capacidad para la activación de ciertas familias de genes de manera controlada, así como otras funciones, lo que provee de las bases conceptuales para el diseño molecular de los conocidos como “materiales de tercera generación”.

Para regenerar el hueso es esencial: a) que las células osteoprogenitoras sufran un proceso de división celular b) que se produzcan los estímulos adecuados del ambiente que las rodea.

En el caso de los vidrios bioactivos de silicio, el mecanismo para una regeneración ósea *in situ* implica la regulación al alza de 7 familias de genes que controlan el ciclo celular de los osteoblastos, mitosis y diferenciación para que se produzca una rápida regeneración del tejido. Sun *et al.* [17] demostraron que el Bioglass® promueve la proliferación de los osteoblastos mediante la reducción del ciclo de crecimiento que pasa por las fases G1 y S y finalmente pasa con rapidez a la fase G2. En presencia de concentraciones críticas de Ca y Si, en 48h, los osteoblastos son capaces de diferenciarse hacia un fenotipo de osteocito maduro que es capaz de proliferar y generar hueso nuevo. Además, los osteoblastos que no se encuentran en la fase adecuada del ciclo celular y no son capaces de dirigirse hacia un proceso de diferenciación son inducidos a sufrir un proceso de apoptosis por la presencia de productos iónicos de la disolución.

La tasa de liberación y los niveles terapéuticos de los iones que están determinados por la concentración y el tamaño de las partículas del vidrio o por la morfología del scaffold y la porosidad, así como la contribución relativa de los productos de iónicos de disolución provenientes de los vidrios bioactivos o los fosfatos de calcio sustituidos con Si a la osteogénesis y angiogénesis ha sido motivo de controversia en la literatura científica.

Se ha planteado la hipótesis de que altas concentraciones de silicio provenientes del vidrio bioactivo podrían ser un factor determinante para estimular un crecimiento más

rápido de los osteoblastos. Sin embargo, existen estudios [18] en los cuales no se encontraron diferencias significativas en la proliferación de osteoblastos humanos cultivados en medios con concentraciones similares de Ca, P y Na, pero diferentes en su concentración de Si. Por otro lado, diversos estudios sugieren que una liberación controlada de bajas concentraciones de ciertos iones a la disolución puede inducir la angiogénesis. Esto resultaría de vital importancia ya que la falta de microvasculatura funcional conectada a la fuente de sangre del huésped ha sido determinante como factor en el fallo del implante, suponiendo además uno de los mayores retos de la ingeniería de tejidos.

A continuación, se expone una tabla en la que se muestran con más detalle algunos de los efectos que tienen algunos iones en disolución sobre el tejido óseo y que podrían jugar un papel terapéutico al pasar a formar parte de scaffold [18]:

Elemento	Efecto sobre el tejido óseo
<p style="text-align: center;">Calcio (Ca)</p> <p>Principal componente de la apatita (junto con el fósforo), fase inorgánica del hueso humano.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ A concentraciones bajas-medias resulta apropiado para la proliferación y diferenciación de osteoblastos y mineralización de matriz extracelular (MEC) ▪ A concentraciones altas resulta (> 10mmol) resulta citotóxico. ▪ El Ca extracelular activa directamente una serie de mecanismo intracelulares afectando a receptores sensibles a Ca presentes en los osteoblastos (ej: incrementa la expresión de IGF-I y II, incremento de la liberación de glutamato, que juega un papel importante en las rutas de señalización)
<p style="text-align: center;">Fósforo (P)</p> <p>Principal componente de la apatita (junto con el calcio), fase inorgánica del hueso humano.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estimula la expresión de la proteína Gla de la matriz
<p style="text-align: center;">Silicio (Si)</p> <p>Esencial en procesos metabólicos asociados a la formación y calcificación del hueso</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Si acuoso ha demostrado capacidad para inducir la precipitación de hidroxiapatita. ▪ Suplementos de Si en la dieta demostraron un aumento en la densidad mineral ósea (mediante la reducción de la resorción ósea) ▪ Si(OH)₄ a concentraciones biológicas estimula la formación de colágeno I en células osteoblásticas humanas (COH) y estimula la diferenciación de osteoblastos
<p style="text-align: center;">Estroncio (Sr)</p> <p>Debido a su similitud química con el Ca, se puede acumular en el hueso intercambiados por el Ca en el entramado cristalino de la hidroxiapatita.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Presenta efectos beneficiosos para las células óseas y la formación de hueso constituyendo un prometedor agente terapéutico para el tratamiento de la osteoporosis. ▪ Medicamentos como el renalato de Sr mejora la curación del tejido óseo.
<p style="text-align: center;">Magnesio (Mg)</p> <p>Esencial en el metabolismo del tejido óseo</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Interactúa con las integrinas de los osteoblastos, responsables de la adhesión celular y estabilidad. ▪ Una depleción de Mg conlleva un crecimiento óseo deficiente, un aumento en la resorción y una pérdida de hueso trabecular.
<p style="text-align: center;">Cobre (Cu)</p> <p>Participa en la angiogénesis <i>Efectos del Cu sobre el metabolismo óseo no han sido claramente demostrados</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Estimula la proliferación de células endoteliales en humanas e induce un incremento de en la diferenciación de células madre mesenquimales hacia un linaje osteogénico.

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ A concentraciones de 10-6l-1 ha demostrado ser capaz de inhibir la actividad de los osteoclastos.
<p>Zinc (Zn)</p> <p>Participa en el metabolismo óseo. Ha sido identificado como un agente regulador en la transcripción del proceso de diferenciación de los osteoblastos</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Efectos antiinflamatorios. ▪ Estimula la formación de hueso (in vitro) mediante la activación de síntesis de proteínas en osteoblastos y el incremento de la actividad ATPasa. ▪ Presenta efectos inhibitorios en el proceso de resorción ósea al inhibir la formación de osteoclastos en ratones.
<p>Boro (B)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Afecta la síntesis de RNA en los fibroblastos. ▪ Consumido a través de la dieta es capaz de estimular la formación de hueso.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Desde un punto de vista biológico tiene sentido dirigir los estudios hacia la fabricación de materiales que combinen polímeros y materiales cerámicos en la fabricación de scaffolds para su uso en la ingeniería de tejidos ya que el hueso es una combinación natural de ambos [11]. Es por ello que una de las estrategias más prometedoras es la de la fabricación de composites a base de vidrios bioactivos y elastómeros. Los elastómeros biodegradables son utilizados como único material en ciertas ocasiones debido a su biocompatibilidad y degradación controlable. Sin embargo, de cara a la regeneración ósea carecen de las prestaciones mecánicas [10].

El concepto del uso de biocerámicas como material de refuerzo en los composites poliméricos fue introducido por Bonfield et al [10]. Como ya se ha mencionado, los polímeros carecen de la suficiente resistencia y baja bioactividad, mientras que los vidrios bioactivos poseen una baja tenacidad de fractura, fragilidad y poca flexibilidad cuando son usados de manera aislada. Dentro de los polímeros que pueden ser usados encontramos, además, los polímeros naturales que poseen una baja toxicidad, bajo coste y capacidad de renovación. Los más usados en ingeniería de tejidos son el colágeno, la elastina, alginatos, seda, quitosano y ácido hialurónico. Además, poseen ciertas ventajas de cara a la adhesión celular, la degradación y la remodelación. Sin embargo, a pesar de lo prometedor de esta estrategia existe el problema de la limitación a la hora de incorporar el vidrio bioactivo ya que sobrepasado cierto punto, se ven comprometidas ciertas propiedades como la resistencia o la respuesta celular. Se ha visto también que otros parámetros, como el tamaño del vidrio, la forma y su composición pueden influir en las propiedades finales del composite.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Antoni P. Tomsia, Mohamed N. Rahaman, Qiang Fu, Eduardo Saiz. Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and future perspectives. *Materials Science and Engineering C* 31 (2011) 1245–1256. <doi:10.1016/j.msec.2011.04.022>.

[2] B. Sonny Bal, Delbert E. Day, Lynda F. Bonewald, Mohamed N. Rahaman, Qiang Fu, Steven B. Jung. Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomaterialia* 7 (2011) 2355–2373. <doi: 10.1016/j.actbio.2011.03.016>.

[3] C. Vitale-Brovarone, E. Verné, L. Robiglio, P. Appendino, F. Bassi, G. Martinasso *et al.* Development of glass–ceramic scaffolds for bone tissue engineering: Characterisation, proliferation of human osteoblasts and nodule formation. *Acta Biomaterialia* 3 (2007) 199–208. <doi:10.1016/j.actbio.2006.07.012>.

[4] Página Revista Biomaterials [homepage de internet]. New York: Columbia University, [consultado: 16 de mayo 2016]. Disponible en: <<http://www.journals.elsevier.com/biomaterials>>

[5] Larry L. Hench Chronology of Bioactive Glass Development and Clinical Applications. *New Journal of Glass and Ceramics*, 2013, 3, 67-73 <doi.org/10.4236/njgc.2013.32011>.

[6] Larry L. Hench. The story of Bioglass ®. *J Mater Sci: Mater Med* (2006) 17:967–978. <doi 10.1007/s10856-006-0432-z>.

[7] Julian R. Jones. Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. *Acta Biomaterialia* 23 (2015) S53–S82. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2012.08.023>>.

[8] Haney Castro Fernández* y Oscar E. Ledea Lozano. Determinacion de la bioactividad y la resistencia a la compresion de bloques de poliapatita. *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 4, 891-894, 2010.

[9] Clever R. Chinaglia, Edgar D. Zanotto, Marina T. Souza, Murilo C. Crovace, Oscar Peitl. Biosilicate® A multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. In vitro, in vivo and clinical trials. *Journal of Non-Crystalline Solids* 432 (2016) 90–110. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jnoncrsol.2015.03.022>>.

[10] Belinda Pingguan-Murphy, Ehsan Zeimaran, Ivan Djordjevic, Mark R. Towler, Nahrizul Adib Kadri, Sara Pourshahrestani. Bioactive glass reinforced elastomer composites for skeletal regeneration: A review. *Materials Science and Engineering. C* 53 (2015) 175–188. < <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2015.04.035>>.

[11] A. R. Boccaccini, J. A. Roether, Q. Chen. Tissue Engineering Scaffolds from Bioactive Glass and Composite Materials. *Topics in Tissue Engineering*, Vol. 4.

[12] Mónica Echeverry Rendón M.Sc., Juan G. Castaño Ph.D., Sara M. Robledo Restrepo M.Sc. PhD., Félix Echeverría E M.Sc., Ph.D. Materiales y Técnicas utilizadas en

recubrimientos bioactivos para mejorar procesos de oseointegración. *Revista Politécnica* ISSN 1900-2351, año 8, número 15, páginas 75-87, 2012.

[13] María Antonia Lizarbe. Sustitutivos de tejidos: de los biomateriales a la ingeniería tisular. *Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat. (Esp)* Vol. 101, N°. 1, pp 227-249, 2007.

[14] Antonio J. Salinas, María Vallet-Regí. Glasses in bone regeneration: A multiscale issue. *Journal of Non-Crystalline Solids* 432 (2016) 9–14. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2015.03.025>>.

[15] Daniel Groh, Delia S. Brauer, Franziska Döhler. Bioactive glasses with improved processing. Part 1. Thermal properties, ion release and apatite formation. *Acta Biomaterialia* 10 (2014) 4465–4473. <[http:// dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2014.05.019](http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2014.05.019)>.

[16] David Kaplan, Vassilis Karageorgiou. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials* 26 (2005) 5474–5491. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.02.002.

[17] Aldo R. Boccaccini, Lutz-Christian Gerhardt. Bioactive Glass and Glass-Ceramic Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Materials* 2010, 3, 3867-3910; <doi:10.3390/ma3073867>.

[18] Aldo R. Boccaccini, Alexander Hoppe, Nusret S. Güldal. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics *Biomaterials* 32 (2011) 2757e2774. <doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.004>.