



FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**NANOPARTÍCULAS DE SÍLICE
MESOPOROSA PARA APLICACIONES
BIOMÉDICAS**

Autor: Mora Raimundo, Patricia

DNI: 51503550H

Tutor: Cabañas Criado, M. Victoria

Convocatoria: Junio 2016

Resumen:

La nanotecnología aporta soluciones médicas en la administración de diversos fármacos mejorando su biodisponibilidad y reduciendo sus efectos adversos. Especialmente las nanopartículas de sílice mesoporosa han demostrado ser una gran promesa en este ámbito. Gracias a sus propiedades, su gran capacidad de carga y las posibles modificaciones que pueden sufrir, permiten un aumento de la vida media de fármacos y macromoléculas y una liberación dirigida de los mismos.

El propósito de este trabajo es documentar en qué consisten las nanopartículas de sílice mesoporosa, centrándonos en su proceso de síntesis y las modificaciones que podemos llevar a cabo para conseguir nanopartículas con unas propiedades determinadas. Qué características las hacen ser unos materiales tan interesantes, destacando sus principales aplicaciones biomédicas y valorando que beneficios pueden aportar, tanto a la eficacia del tratamiento, como al paciente.

Palabras clave: Nanopartículas de sílice mesoporosas, liberación de fármacos, síntesis, aplicaciones biomédicas, biocompatibilidad, cáncer, agentes de contraste, adyuvante de vacunas, regeneración ósea.

Introducción y Antecedentes

La nanomedicina ofrece soluciones médicas basadas en la nanotecnología con la finalidad de mejorar la biodisponibilidad de los fármacos y reducir sus efectos adversos.¹ Así mismo va a tratar de conseguir tratamientos más eficaces y llevaderos para el paciente, disminuyendo tanto la dosis como la frecuencia de dosificación. Además, la nanotecnología permite una administración más sencilla mejorando la seguridad del tratamiento.²

Entre todos los nanomateriales disponibles destacan las nanopartículas de sílice mesoporosa (MSNs, del inglés “mesoporous silica nanoparticles”). Estos materiales tienen una estructura única ya que presentan un orden a nivel del mesoporo (2-50 nm), y desorden a nivel atómico, hecho apreciable en la Figura 1. Están compuestos de una serie de canales ordenados de manera periódica separados por paredes de sílice (SiO₂) amorfa, formando una estructura similar a la de una reja.³ Estas nanopartículas presentan una gran superficie específica (500–1500 m² g⁻¹) y volumen de poro (~1 cm³ g⁻¹), un tamaño de poro regular y

modificable, una estructura estable, una morfología y tamaño de partícula controlable y una elevada densidad de grupos silanol (Si-OH).²

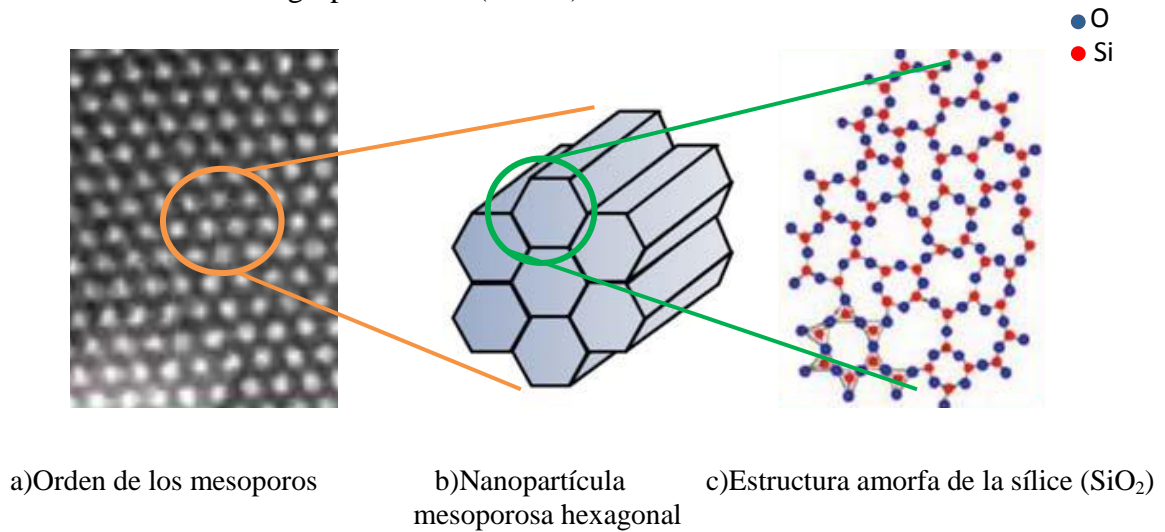


Figura 1: Estructura de las nanopartículas de sílice mesoporosa.⁴

Desde el primer estudio en el que aparecen las MSNs como sistema de liberación en 2001, hasta el día de hoy, la búsqueda de sus posibles aplicaciones biomédicas ha aumentado de forma exponencial.⁵ Este hecho se debe principalmente a su capacidad de carga⁵, pudiendo proteger gran cantidad biomoléculas como fármacos, ADN, ARN, partículas fluorescentes. Son capaces de aumentar su vida media y conseguir una liberación dirigida de éstos. Se podrán entonces aplicar de forma diagnóstica y terapéutica simultáneamente.⁶

Existe una gran diversidad de estructuras de estas MSNs, pudiendo diferenciar dos grupos, aquellas que presentan una estructura tridimensional, como por ejemplo MCM-48 (estructura cúbica), o bidimensional como por ejemplo las MCM-41, las cuales presentan una estructura hexagonal.³ En este trabajo nos centraremos en las aplicaciones de estas últimas. En la Figura 2 podemos apreciar las diferencias entre las distintas estructuras.

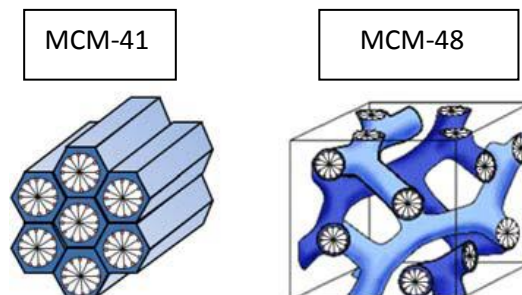


Figura 2. Estructura de las Nanopartículas de sílice mesoporosa MCM41 (bidimensional hexagonal) MCM-48 (tridimensional cúbica).

Las MSNs presentan grandes ventajas como su biocompatibilidad, su bajo grado de toxicidad, su adaptabilidad sintética, siendo capaces de controlar el tamaño de partícula, su porosidad, y su forma.⁷ Además se puede modificar la superficie de las nanopartículas con restos moleculares como cadenas de ADN o antígenos con una elevada selectividad y sensibilidad.⁶ Esto permite modular la carga de fármacos, la dispersión de las nanopartículas, su circulación en sangre y vehicularlas al lugar de interés aumentando así la eficacia terapéutica y disminuyendo la toxicidad de la biomolécula transportada.⁸

En este trabajo se presentan las características que hacen de este material un sistema único, su método de síntesis y se destacan algunas de sus aplicaciones biomédicas.

Objetivos

Debido a los grandes avances realizados en el ámbito de los nanomateriales y, en especial en las nanopartículas de sílice mesoporosa, este trabajo tiene como objetivo:

- Describir las propiedades que posee este tipo de material que lo hace ventajoso para la biomedicina.
- Determinar cómo poder ajustar o conseguir las características específicas mediante el proceso de síntesis, y valorar como pueden afectar a la biocompatibilidad en el organismo.
- Destacar las principales aplicaciones de MSNs existentes hasta la actualidad, haciendo hincapié en qué beneficios pueden aportar.

Material y Métodos

Se realizó una revisión bibliográfica con el fin de analizar el material publicado sobre las aplicaciones biomédicas de las nanopartículas de sílice mesoporosa, utilizando revisiones y artículos encontrados en las principales revistas internacionales de investigación, como Small, Pharmaceutical Research, Journal of Inorganic Biochemistry, entre otras, al igual que el uso de bases de datos como Web of Science, Pub Med. De todos los artículos encontrados se hizo una selección de los considerados más recientes, utilizando revisiones a partir del año 2000 en adelante.

Resultados y Discusión

Cuando el uso de las MSNs se focalizó en la biomedicina, fue necesario optimizar sus características para poder cumplir los requerimientos de la aplicación para la cual estaban destinadas y evitar cambios no específicos nocivos para el cuerpo.⁹ Aunque la sílice es considerada no tóxica a dosis bajas, los efectos a largo plazo de las MSNs deben de ser evaluados.¹⁰ Su biocompatibilidad depende del tamaño de partícula, de su morfología, de su estructura, de las características de la superficie y de la dosis.¹⁰ Debido a la importancia de estos factores, hay que tenerlos muy en cuenta a la hora de sintetizar las MSNs para conseguir una toxicidad nula.

La síntesis de sílice mesoporosa se basa en la formación de una mesofase líquido-cristalina de moléculas anfifílicas (surfactante) que servirán de molde para la polimerización *in situ* de ácido ortosilícico.⁶

Las nanopartículas con una estructura tipo MCM-41 son el tipo de MSN más ampliamente investigado para aplicaciones biomédicas; por ello, en esta revisión vamos a centrarnos en este tipo de nanopartícula. El proceso de síntesis se encuentra esquematizado en la Figura 3. Para su obtención se utilizan como reactivos: el agente tensioactivo bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) como agente director de la estructura, y el tetraetilortosilicato (TEOS) o el metasilicato de sodio (Na_2SiO_3) como precursor de sílice.⁵ Cuando la concentración de tensioactivo supera la concentración micelar crítica, el CTAB se autoagrega formando micelas. La fuente de sílice, tetraetilortosilicato (TEOS), se añade sobre esta solución acuosa de CTAB a pH de 11 y por condensación sol-gel alrededor de las micelas se formarán las nanopartículas. Tras esto el surfactante se elimina de los poros, paso clave para la obtención de las nanopartículas.⁵ Para ello existen 2 procesos, la calcinación y la extracción con solventes. La calcinación es el proceso más ampliamente utilizado debido a su rapidez y eficacia a la hora de eliminar el surfactante. Consiste en un tratamiento térmico que provoca la eliminación del surfactante. La utilización de un solvente consigue una eliminación eficaz sin afectar a la estructura de la sílice. Uno de los solventes que se puede utilizar es una mezcla de EtOH y HCl, la cual disminuye las interacciones entre el agente tensioactivo y la pared de sílice, eliminando el surfactante de esta manera.¹¹

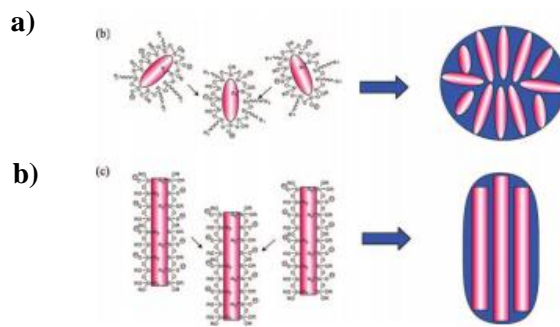


Figura 4. Diferente morfología de las MSNs en función del agente de funcionalización.

En los últimos años, la forma de las partículas ha ganado cada vez más importancia, ya que se encontró que las partículas no esféricas reducían la fagocitosis por los macrófagos y permanecían más tiempo en la circulación.¹² Sin embargo, es difícil considerar la forma como una única variable y establecer la relación entre la forma de las partículas y su biocompatibilidad, ya que las técnicas de fabricación para producir partículas con diferentes formas, utilizando materiales biocompatibles, son limitadas.¹³

Como se ha mencionado anteriormente, el grado de hidrofobicidad del precursor del organoalcoxilano en la solución básica con el CTAB no solo influye en la morfología de nuestras nanopartículas sino también en el tamaño de poro y partícula.

El tamaño de partícula se considera una de las propiedades más importantes de los nanomateriales. Su tamaño es muy determinante a la hora de administrar estas MSNs vía sistémica en organismos vivos.⁸ En un estudio de Shi *et al.*¹⁴ se examinó la biodistribución y la excreción urinaria de MSNs esféricas con un tamaño de entre 80-360 nm administradas por vía intravenosa. Se demostró que el tamaño de partícula es uno de los factores determinantes para su distribución, la vida media en circulación sanguínea y su excreción. En una investigación sobre la citotoxicidad de las MSNs, con tamaños de entre 190-1220 nm, se encontró que la citotoxicidad está altamente correlacionada con el tamaño de partícula.¹⁵ Las MSNs de 190 nm y 420 nm mostraron citotoxicidad significativa a concentraciones superiores a 25 mg/mL, mientras que las partículas de 1220 nm mostraron una citotoxicidad mucho menor debido a la disminución de endocitosis de las partículas de este tamaño.

Junto al tamaño, la superficie se considera uno de los aspectos más importantes que pueden influir en la biocompatibilidad de las nanopartículas. Las nanopartículas con una carga catiónica inducen una mayor respuesta inmune, siendo más citotóxicas que sus homólogos

neutros y aniónicos, aunque presentan más ventajas para el transporte transvascular en tumores. Por el contrario, las partículas con un espectro de carga neutro favorecen largos tiempos de circulación y el transporte intersticial en los tumores.¹⁶

Las MSNs presentan un potencial zeta negativo debido a que presentan grupos Si-OH en su superficie, siendo opsonizadas rápidamente y posteriormente eliminadas de la circulación por los macrófagos en el sistema retículo endotelial (RES del inglés “Reticulo endotelial system”). Las modificaciones de la superficie de las MSNs juegan un papel fundamental en la alteración de la reactividad de la superficie, mejorando así la biocompatibilidad y aumentando la vida media de éstas. La estrategia de modificación de la superficie más eficiente es la “PEGilación”. Los polietilenglicoles (PEG) pueden formar una capa hidrófila alrededor de las partículas, retrasando la opsonización y de esta forma, aumentar en gran medida la vida media.¹⁷ Actúan como una capa de protección para enmascarar el grupo reactivo silanol, situado en la superficie, responsable de provocar el colapso de los poros.¹⁸ Sin embargo, a pesar de la creencia común de que la PEGilación puede impedir el reconocimiento inmune, presenta algunas limitaciones. Estudios recientes han sugerido que las nanopartículas pegiladas podrían inducir la producción de anticuerpos específicos anti-IgM-PEG, responsables del desencadenamiento de la respuesta inmunológica tras una inyección repetida de nanopartículas. También da lugar a una reacción de hipersensibilidad por activación de la cascada del sistema de complemento.¹⁹

Estudios más recientes han sugerido que la absorción y la citotoxicidad celular,¹⁸ o la biodistribución y la excreción de las MSNs²⁰, pueden ser reguladas por diferentes funcionalizaciones de la superficie a través de grupos amino (-NH₂), carboxilo (-COOH), fenilo (Ph), y fosfonato (-PO₃), modificando de esta manera el potencial zeta de la superficie.

Todas estas características hacen de estos materiales potentes candidatos para una gran diversidad de aplicaciones. En este trabajo destacaremos su papel como sistemas de liberación, como agentes de contraste, como adyuvantes de vacunas y sus aportaciones en regeneración ósea.

1. SISTEMAS DE LIBERACIÓN:

Las nanopartículas pueden ser transportadores muy efectivos de biomoléculas como DNA, RNA, proteínas, fármacos, protegiéndolos de la degradación y transportándolos a través de la membrana celular.²¹ Los sistemas de liberación pueden mejorar propiedades cruciales de las biomoléculas transportadas, como su solubilidad, su estabilidad, su farmacocinética y su biodistribución, aumentando así su eficacia.²² A la hora de sintetizar MSNs para la liberación de fármacos hay que tener en cuenta una serie de parámetros que influyen en la capacidad de adsorción y posterior liberación de las biomoléculas. Entre éstos podemos destacar:

a) Tamaño de partícula y morfología: Se sabe que las MSNs deben de presentar, como mínimo, un tamaño de 50 nm para poder mantener su estructura mesoporosa y evitar el aclaramiento renal, pero además tendrán que ser de un tamaño inferior a 300 nm para que una cantidad suficiente pueda difundir por los capilares.³

Manzano *et al.*²³ estudiaron el efecto del tamaño de partícula en la carga y posterior liberación de ibuprofeno. Concluyeron que el control de la liberación de fármaco se conseguía con partículas de menor tamaño. Además, mostraron que las partículas esféricas eran mejores candidatas para una liberación controlada de fármaco a diferencia de las que presentan formas irregulares.

b) Tamaño de poro: El tamaño de poro es uno de los factores más importantes que afecta a la absorción y liberación selectiva de moléculas (proteínas, DNA, RNA, antibióticos), ya que es el factor limitante para la adsorción de moléculas en el interior de los poros. Solo moléculas de tamaño inferior al diámetro de poro podrán penetrar en el interior; si por el contrario, las moléculas superan el diámetro del poro se podrá adsorber únicamente en la superficie de la nanopartícula.³

Existen diferentes maneras de conseguir un aumento en el diámetro del poro, como por ejemplo, la adición de agentes de hinchamiento como el triisopropilbenceno que puede engrosar las micelas hasta un 30% de su tamaño durante el proceso de síntesis (de 2 nm a 2,6 nm).²⁴ Este hecho se resume en la Figura 5.

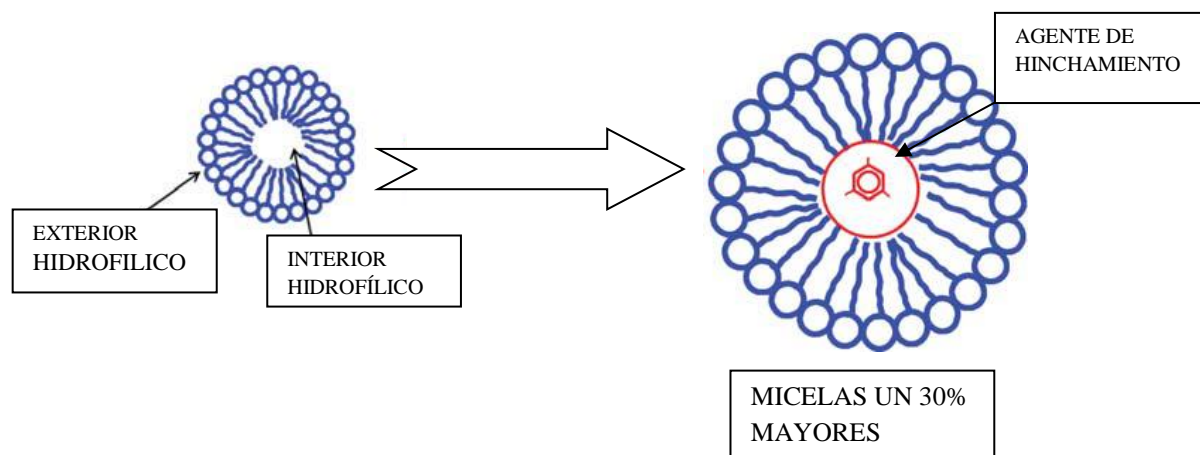


Figura 5. Aumento del tamaño de las micelas por la adición de agentes de hinchamiento.

c) Funcionalización de la superficie: Mediante la funcionalización de la superficie, tanto en las paredes internas de los poros como en la superficie externa de la partícula, podremos controlar la cantidad de carga y la interacción de las nanopartículas con el organismo.⁶ La superficie de las nanopartículas de sílice mesoporosa presenta una gran cantidad de grupos Si-OH los cuales son responsables de las interacciones con las biomoléculas de carga y/o con los grupos utilizados para la funcionalización.³

La funcionalización no es únicamente importante para mejorar la estabilidad de las nanopartículas o su biocompatibilidad, como hemos mencionado anteriormente, sino que es determinante para la carga y liberación de fármacos. La funcionalización de los canales mesoporosos de las MSNs es uno de los factores más importantes en el control de la adsorción y liberación de biomoléculas. Diversos estudios han demostrado que la funcionalización de los canales mejora la capacidad de adsorción introduciendo uniones electrostáticas. El uso de grupos amino (R-NH₂), puentes disulfuro (-S-S-) o la introducción de tioles (R-SH), han mejorado de forma significativa la capacidad de adsorción de muchos fármacos.²⁵ La funcionalización con grupos amino por ejemplo, muestra una relación directa entre el grado de carga y liberación de Rodamina B, y la cantidad de aminas presentes.²⁶ La diversidad de moléculas que pueden ser cargadas en las MSNs se encuentran resumidas en la Figura 6.

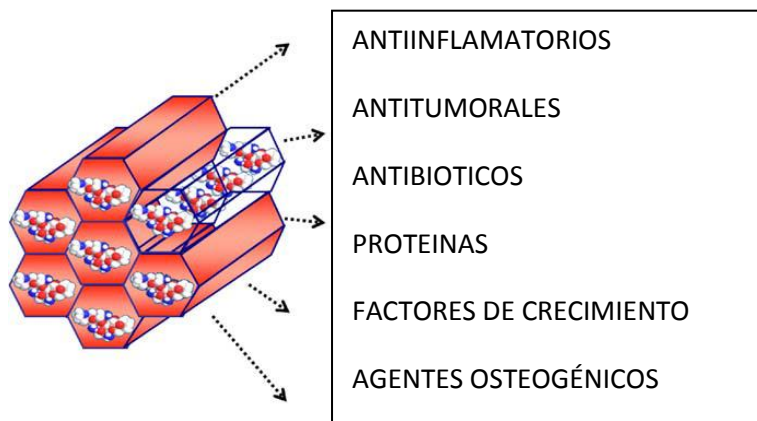


Figura 6. Distintas biomoléculas que se utilizan como molécula de carga con interés biomédico.

Además de la funcionalización de los poros de la nanopartículas, podremos funcionalizar la superficie externa, con la finalidad de mejorar su biocompatibilidad, como se ha explicado previamente, conseguir una vectorización de las nanopartículas y también evitar una liberación precoz de la carga.

Uno de los puntos clave de un sistema de liberación es conseguir liberar el fármaco en el tejido deseado. Este proceso es conocido como vectorización o vehiculización dirigida. El uso de estas MSNs funcionalizadas en la superficie externa con ligandos como el ácido fólico, anticuerpos, materiales magnéticos, reconocidos por determinados receptores permite solventar la falta de selectividad de determinados fármacos, guiándolos de forma selectiva a su órgano diana. Este hecho es necesario para poder disminuir los efectos adversos de la medicación, al igual que aumentar su eficacia, ya que consigue disminuir la dosis administrada. Hay que tener en cuenta que todas estas modificaciones afectarán a la farmacocinética y biodistribución de las nanopartículas,²⁷ afectando directamente tanto a su estabilidad, como a su tiempo de circulación, captación celular y eficacia terapéutica.⁸

La funcionalización de la superficie externa de la nanopartícula, se puede aprovechar para fabricar “compuertas”, permitiendo así cerrar los poros y evitar de esta manera la liberación precoz de la carga una vez que las nanopartículas sean inyectadas en el torrente sanguíneo. Cuando el fármaco a transportar es altamente citotóxico, como pueda ser el caso de antitumorales, la ausencia de control en la apertura de los poros y liberación del fármaco supone un gran problema. El grado de liberación dependerá principalmente del grado de solubilidad del fármaco en el disolvente. Si el fármaco es altamente soluble en agua, es liberado en el momento en el que las nanopartículas son suspendidas en el medio

biológico.¹¹ Para solventar este problema, se han desarrollado sistemas de liberación controlada. La biomolécula se dispone en el interior de los mesoporos de las MSNs y se bloquea la salida del poro mediante una serie de polímeros o moléculas evitando de esta manera la liberación prematura. La liberación solo tendrá lugar cuando la MSN sea expuesta a un estímulo, el cual provoca la apertura de la compuerta consiguiendo así un control de la liberación. Podemos discernir entre estímulos internos (pH, enzimas, red-ox,..) y estímulos externos (ultrasonidos, luz, temperatura,..). El proceso de liberación del fármaco se encuentra esquematizado en la Figura 7.

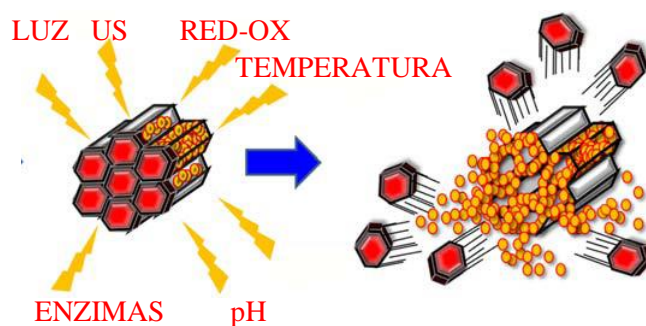


Figura 7. Liberación de la carga por aplicación de gran diversidad de estímulos.

- Estímulos internos:

- *pH*: El pH es uno de los estímulos más ampliamente utilizado, ya que tumores y tejidos inflamados presentan un pH más ácido que los tejidos normales o la sangre. Gracias a este hecho se han creado sistemas de liberación modificados, por ejemplo, usando polielectrolitos que responden a modificaciones en el pH, polímeros sensibles a pH como poli (4-vinilpiridina), poli (2-dietilaminoetil metacrilato) o uniones sensibles a pH como acetales, hidrazona,.. *etc.*⁹

-*Enzimas*: El interior de las células contiene una gran variedad de enzimas, las cuales son altamente selectivas, biológicamente estables y con una gran capacidad catalítica. Esto justifica la construcción de MSNs sensibles a la acción de estas enzimas ya que se aprovechan de esta elevada selectividad para conseguir la eficacia apropiada.⁹ Zink y col. desarrollaron un sistema específico para esterasas hepáticas que permite la liberación del fármaco del interior de las MSNs una vez que éstas eran expuestas a las enzimas, consiguiendo de esta manera la liberación de la carga únicamente en hepatocitos.²⁶

Recientemente se ha estudiado la posibilidad de incorporar enzimas sobre las MSNs para poder superar una de las limitaciones más comunes vistas en estos casos, la insuficiente concentración de enzima en la zona diana para provocar la respuesta.⁹

-Red-ox: Otro método interesante es aprovechar las diferentes concentraciones de agentes reductores, como el glutatión (GSH), entre el medio intracelular y extracelular (o incluso entre tejidos sanos y tejidos tumorales). El GSH es capaz de romper puentes disulfuro, por ello, una vez la MSN se funcionaliza con puentes disulfuro y es internalizada en la célula alcanzando el espacio intracelular, la elevada concentración de GSH permite la ruptura de estos enlaces permitiendo la liberación del fármaco. Lin y col.²⁸ desarrollaron varios sistemas basados en MSNs del tipo MCM-41 que presentaban una liberación prematura del fármaco nula. Demostraron que una cubierta de CdS en las nanopartículas actuaba como compuerta. La adición de moléculas reductoras como DTT a una suspensión de MSNs-CdS provocó una rápida liberación de la vancomicina previamente cargada. En 24h se alcanzó una liberación del 85% por la adición de 18.5 mM de DTT.

Estímulos externos:

-Temperatura: Aprovechando que es posible aumentar la temperatura de manera artificial mediante fuentes de calor externas, fluidos calefactores, o mediante un campo magnético, podremos utilizar moléculas sensibles a la temperatura como compuertas de los poros de las MSNs.⁹

En este sentido, los polímeros sensibles a la temperatura han sido utilizados en una gran variedad de sistemas de liberación debido a su capacidad de cambiar de conformación expandida a condensada (o globular) cuando se alcanza la temperatura crítica de transición (LCST, del inglés “lower critical solution temperature”). El Poli-N-isopropilacrilamida es uno de los polímeros sensibles a la temperatura más ampliamente utilizado, cuya LCST es de 32 C°. Esta temperatura puede variarse gracias a modificaciones en la composición de las cadenas del polímero, consiguiendo co-polímeros con una temperatura de transición entorno a valores de hipertermia (42-45 C°). Aprovechando este hecho, el polímero se dispone en la superficie del poro, cuando se encuentra en conformación expandida impide la liberación, y una vez se induce la hipertermia, pasa a conformación condensada, disminuye su tamaño y permite la salida del fármaco.³

Chung *et al.*²⁹ fabricaron nanopartículas de sílice mesoporosa funcionalizadas con poly-N-isopropilacrilamida, consiguiendo que fármacos, como el ibuprofeno, pudieran ser cargados en el interior de los poros y liberados a una determinada temperatura.

-Ultra Sonidos (US): Es una técnica no invasiva, de bajo coste, y con fácil regulación de la penetración de los tejidos en función de la frecuencia y/o potencia utilizada y el tiempo de exposición. En este sentido, la posibilidad de funcionalizar las MSNs con alguna molécula que respondiera a la acción del US resulta de gran interés. Este es el caso del 2-tetrahidropiranyl metacrilato, un monómero hidrofóbico que posee un grupo acetal sensible a US, y que tras la exposición a US genera ácido metacrílico, hidrofílico. Este paso de fase hidrofóbica a hidrofílica ha sido utilizado para el desarrollo de compuertas para los poros de las nanopartículas de sílice. De esta manera, una vez las nanopartículas son inyectadas en circulación sistémica, el polímero se encuentra en conformación hidrofóbica evitando la salida del fármaco, el cual se libera únicamente cuando se aplique una radiación US, que provoque el cambio del polímero a fase hidrofílica, abriéndose las “compuertas” del poro, permitiendo la salida del fármaco.³⁰

-Luz: El uso de la luz como estímulo para la liberación de fármacos presenta una gran cantidad de ventajas, entre las cuales podemos destacar que, es un método no invasivo, puede ser altamente controlado, tiene una baja toxicidad, y gracias a que produce una respuesta a distancia evitamos que afecte a las zonas cercanas. Los cambios debidos a la aplicación de la luz suelen ser por fotoisomerización, fotodimerización, y fotólisis. Una de las técnicas más utilizadas es recubrir las MSNs con moléculas fotosensibles capaces de responder a cambios fisicoquímicos o romperse por irradiación de la luz.⁹

MSNs en el tratamiento contra el cáncer:

La baja solubilidad, la inestabilidad del fármaco y su baja captación por las células hace de los antitumorales, fármacos idóneos para ser vehiculizados por las MSNs. Además, debido al elevado grado de efectos secundarios de estos tratamientos, la ventana terapéutica es muy estrecha.¹ Por ello, ha aumentado el estudio y el desarrollo de sistemas de liberación capaces de transportar una carga elevada de medicamento, de protegerlo de la degradación, facilitando la captación celular y consiguiendo una acumulación específica en tumores.³¹ Las MSNs han demostrado ser grandes promesas para esta finalidad, solventando así el grave problema que resulta un tratamiento con antitumorales. En las terapias anticancerígenas, en las cuales no se utilice un sistema de liberación controlada del

fármaco, no solo se requiere mucha más cantidad de fármaco para poder alcanzar el mismo efecto terapéutico, sino que provoca muchos más problemas en los tejidos sanos.

En el caso del cáncer debido al rápido crecimiento de las células, existe una elevada demanda de nutrientes y oxígeno. Este hecho provoca que ciertos tumores adquieran la capacidad de generar nuevos vasos sanguíneos, proceso conocido como angiogénesis. Este proceso es muy rápido e incontrolado. Por ello, los vasos formados son irregulares y presentan un epitelio discontinuo y con fenestraciones que pueden alcanzar tamaños de entre 200-2000 nm. Debido a este hecho, cuando los componentes de la sangre alcanzan estos vasos sanguíneos se extravasan a través de estas fenestraciones hacia el tumor. Además, el rápido crecimiento de las células tumorales también compromete el drenaje linfático, por lo que debido a un mayor paso de MSNs en estas zonas, por la elevada permeabilidad y un bajo drenaje por la ineficacia linfática en estas zonas, se puede concluir que existe una acumulación pasiva de fármaco en estas zonas. Esto se conoce como efecto de permeabilidad y retención aumentado (EPR).⁹

A pesar de esto, normalmente los tumores están compuestos de una mezcla de células sanas y células tumorales, por ello será necesario crear MSNs capaces de discernir entre unas y otras. Debido a que un tumor sufre un crecimiento incontrolable, presenta una elevada demanda metabólica por lo que va a sobreexpresar una serie de receptores, lo cual podemos aprovechar para utilizar los ligandos de estos receptores como agentes de vectorización. Este es el caso de moléculas como la manosa, pequeños péptidos o el ácido fólico. La funcionalización de la superficie externa de las MSNs con estas moléculas supondrá una acumulación preferencial en las zonas tumorales.

Otra estrategia más novedosa es la utilización de células madre mesenquimales de placenta que poseen propiedades migratorias hacia los tumores. Estas células podrán ser utilizadas como transportadores de MSNs permitiendo el alcance del tumor.³⁰

Además de todas las ventajas citadas anteriormente el uso de MSNs en la terapia anticancerígena permite realizar una terapia polimedicamentosa. Este tipo de terapia proporciona ventajas frente a uno de los principales problemas de los antitumorales que es la aparición de resistencias. Al realizar una terapia con varios fármacos a la vez disminuimos la probabilidad de que se produzca resistencia por parte del tumor frente al antitumoral.³²

2. AGENTES DE CONTRASTE.

La medicina moderna invierte mucho esfuerzo en mejorar las tecnologías de imagen, lo cual permite un diagnóstico precoz y más preciso así como una evaluación de la eficacia de tratamientos o de la gravedad de la enfermedad. Se han diseñado y adaptado las MSNs para poder utilizarlas como agentes de contraste. En estas técnicas de imagen, las MSNs actúan como transportadores de agentes de contraste como fluoróforos, o materiales magnéticos entre otros.

2.1 Agentes en técnicas de imagen óptica

Las técnicas de imagen óptica no se utilizan mucho para diagnóstico debido a la penetración limitada de la luz a través de los tejidos. Existe la posibilidad de mejorar esta penetración tisular con el uso de longitudes de onda mayores. Normalmente se encapsulan moléculas que presentan un núcleo luminiscente/fluorescente, como por ejemplo el isocianato de fluoresceína (FITC), o se funcionaliza la superficie de las nanopartículas con fluoróforos. De esta manera, estas partículas emitirán una señal que es detectada consiguiendo el objetivo de contraste. Esta clase de nanopartículas ha sido principalmente utilizada para poder entender las interacciones de las MSNs, su transcurso a lo largo del organismo, su captación por las células,

2.2 Agentes en imagen por resonancia magnética (IRM)

IRM es una de las modalidades más prometedoras dentro de las técnicas de imagen diagnóstica. Permite la obtención de una imagen tridimensional mediante una técnica no invasiva, la cual ha sido ampliamente utilizada en casos como el cáncer. Ofrece una gran variedad de ventajas frente a otros tipos de técnicas, como puede ser su elevada resolución espacial, un elevado grado de contraste, ausencia de ionización...³³ La técnica de IRM, o tomografía por resonancia magnética, se basa en la excitación, mediante un campo magnético, de núcleos de hidrógeno procedentes de moléculas de agua. Tras la aplicación de descargas de radiofrecuencia, el proceso de relajación por el cual el núcleo del hidrógeno vuelve a su estado normal puede ser detectado y producir una imagen.

Existen tres métodos diseñados para permitir una IRM con nanopartículas de sílice mesoporosa, los tres basados en la incorporación en el interior de los canales mesoporosos, de quelatos de metales paramagnéticos con un gran número de electrones desapareados, como por ejemplo manganeso (Mn^{2+}), gadolinio (Gd^{3+}) u óxido de hierro (Fe_3O_4). Estos

últimos son agentes de contraste negativos, lo cuales generan imágenes oscuras, a diferencia de los de manganeso o gadolinio que son agentes positivos y generan imágenes más claras. Ambos tipos de agentes han sido utilizados ampliamente para imagen diagnóstica. Por ejemplo, Feridex®, que se trata de MSNs-Fe₃O₄, ha sido ampliamente utilizado como agente de contraste en IRM para el diagnóstico de cáncer, más específicamente para tumor de hígado.³⁴

3. ADYUVANTE DE VACUNAS

Las vacunas tradicionales se tratan de patógenos atenuados o inactivados, que pueden provocar una fuerte respuesta inmune. Son generalmente difíciles de asimilar, pueden tener efectos secundarios como por ejemplo inflamación en el lugar de vacunación. Requieren múltiples dosis para una inmunización efectiva, y son normalmente caras. Por otra parte, las vacunas que están compuestas de antígenos recombinantes altamente purificados, tales como proteínas o péptidos, son más estables y tienen mejores perfiles de seguridad en comparación con las convencionales. Sin embargo, estas últimas pueden tener escasa inmunogenicidad y son incapaces de cruzar los tejidos de las mucosas intestinales debido a la rápida degradación por enzimas metabólicas.

Los adyuvantes se añaden a las vacunas para obtener el nivel deseado de inmunogenicidad frente a los antígenos. Las ventajas de los adyuvantes son las siguientes: (1) aumentan el título de anticuerpos total, (2) reducen el número de dosis requeridas para lograr la inmunización completa, (3) mejoran la respuesta inmune, y (4) potencian la inmunidad celular, la inmunidad de la mucosa y proporcionan protección cruzada.³⁵ Como alternativa a los adyuvantes actualmente disponibles, se han desarrollado nuevas técnicas como la encapsulación de los antígenos, la inmovilización o la adsorción de proteínas en nanopartículas. En los últimos años, la aplicación de la nanotecnología ha experimentado un gran desarrollo para proporcionar una nueva generación de vacunas mejoradas.³⁵ Cuando un antígeno es asociado a las nanopartículas, se consigue una liberación controlada de estos antígenos y se genera una respuesta inmune más fuerte en comparación con el antígeno soluble solo.³⁶

El potencial de la sílice mesoporosa como un adyuvante de vacunas se observó primeramente por Mercuri *et al.*³⁷ que utilizaron MSNs como vehículo y adyuvante para la proteína recombinante bacteriana Int1b. Demostraron un aumento de respuesta inmune en ratones. La capacidad de las MSNs para inducir una respuesta tanto celular como humoral

es beneficiosa con respecto a los adyuvantes convencionales los cuales son capaces de inducir un único tipo de respuesta, dando así un paso más hacia el desarrollo de vacunas más eficaces y seguras.³⁵

4. REGENERACIÓN ÓSEA

Las MSNs debido a sus excelentes propiedades han mostrado ser altamente atractivas como biomateriales para la regeneración ósea. Los grupos silanol de la superficie reaccionan con los fluidos corporales generando una capa de hidroxicarbonato apatita, constituida por cristales nanométricos, que podrá unirse al hueso natural, favoreciendo la integración del material al hueso. Esto es lo que se conoce como comportamiento bioactivo de las nanopartículas. Además, un estudio sugiere que las nanopartículas de sílice inhiben de manera efectiva la diferenciación de los osteoclastos (responsables de la degradación ósea) estimulando a su vez la diferenciación de los osteoblastos (responsables de la regeneración ósea) incrementando de esta manera la densidad mineral del hueso.²

Las propiedades de las MSNs son factores determinantes en su comportamiento bioactivo. Además, la cinética de formación de la capa tipo apatita podrá ser regulada y mejorada combinando sílice mesoporosa con óxido de fósforo, o incluso añadiendo ciertas cantidades de vidrio bioactivo u otro componente bioactivo.³⁸

Las MSNs funcionalizadas con diferentes grupos como tioles o aminos, pueden unirse a proteínas específicas como péptidos osteogénicos y factores de crecimiento que aceleren la regeneración tisular. Además las MSNs podrán ser vehículos de algún tipo de agente osteogénico como el alendronato que favorezca la formación de nuevo hueso.³⁸

En la Figura 8. se esquematizan las diferentes vías de actuación de las MSNs para la regeneración ósea.

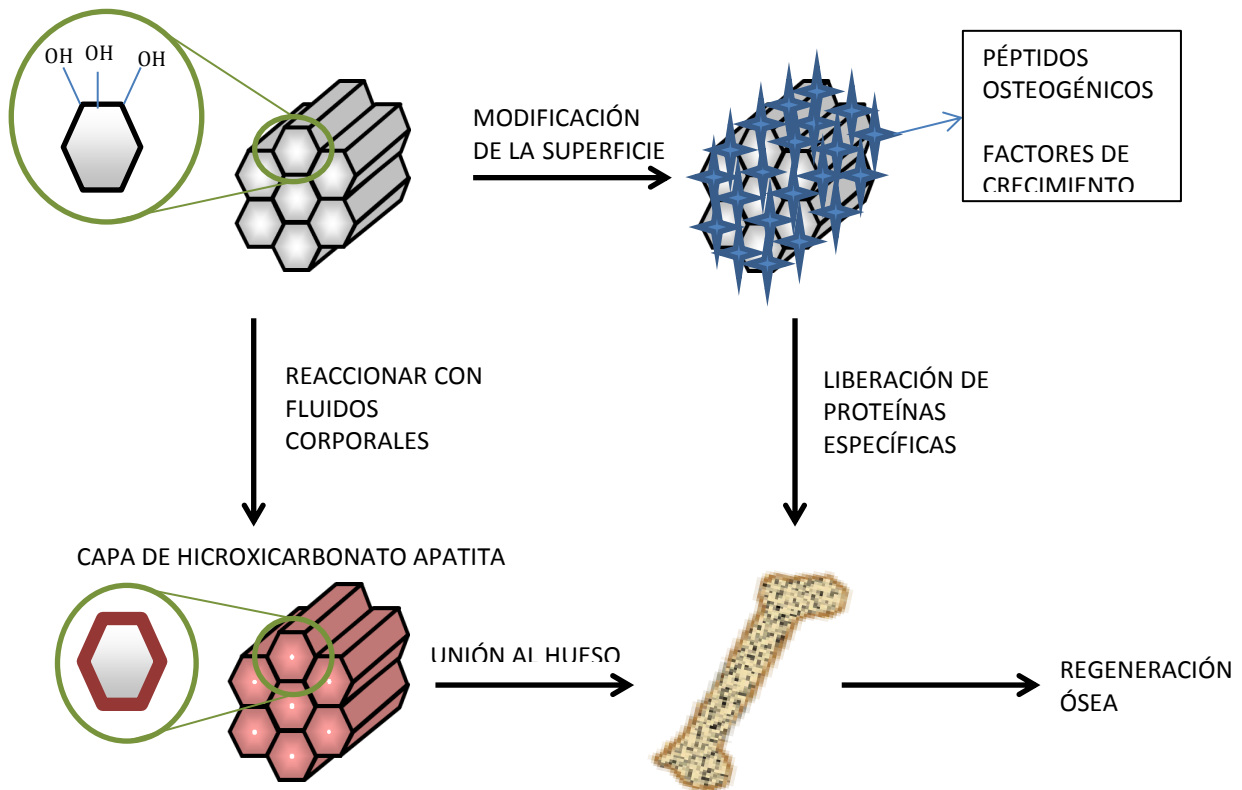


Figura 8. MSNs y la regeneración ósea. Diferentes vías de actuación.

Conclusiones

Las nanopartículas de sílice mesoporosa han demostrado ser muy prometedoras en el ámbito biomédico, aportando grandes ventajas a nivel de (1) tratamiento, consiguiendo mayor eficacia con menos reacciones adversas, (2) diagnóstico, obteniendo imágenes de contraste más definidas mediante técnicas poco invasivas, consiguiendo así un diagnóstico precoz que permita tratar las enfermedades en sus primeras etapas, disminuyendo así el grado de morbilidad y mortalidad de éstas, (3) prevención, por una mejora de la efectividad de las vacunas con su utilidad como adyuvantes. Principalmente se ha visto su gran papel en el tratamiento de la llamada “enfermedad del siglo XXI”, el cáncer, consiguiendo un tratamiento dirigido específicamente a las células tumorales, disminuyendo así la afectación de tejidos sanos, principal problema de los tratamientos actuales como la quimioterapia. Todo esto genera un gran interés en la investigación de estos materiales, permaneciendo activa la búsqueda de nuevas aplicaciones y la optimización de las ya existentes.

Bibliografía

1. Mamaeva, V.; Sahlgren, C.; Linden, M., Mesoporous silica nanoparticles in medicine-Recent advances. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2013**, *65* (5), 689-702.
2. Wang, Y.; Zhao, Q. F.; Han, N.; Bai, L.; Li, J.; Liu, J.; Che, E. X.; Hu, L.; Zhang, Q.; Jiang, T. Y.; Wang, S. L., Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications. *Nanomed.-Nanotechnol. Biol. Med.* **2015**, *11* (2), 313-327.
3. Vallet-Regi, M., *Bio-ceramics with clinical applications*. John Wiley & Sons: 2014.
4. Vallet-Regi, M.; Izquierdo-Barba, I.; Colilla, M., Structure and functionalization of mesoporous bioceramics for bone tissue regeneration and local drug delivery. *Philos.T. R. Soc. A.* **2012**, *370* (1963), 1400-1421.
5. Tang, F. Q.; Li, L. L.; Chen, D., Mesoporous Silica Nanoparticles: Synthesis, Biocompatibility and Drug Delivery. *Adv. Mater.* **2012**, *24* (12), 1504-1534.
6. Liberman, A.; Mendez, N.; Trogler, W. C.; Kummel, A. C., Synthesis and surface functionalization of silica nanoparticles for nanomedicine. *Surf. Sci. Rep.* **2014**, *69* (2003), 132-158.
7. Wu, S.-H.; Hung, Y.; Mou, C.-Y., Mesoporous silica nanoparticles as nanocarriers. *Chem. Commun.* **2011**, *47* (36), 9972-9985.
8. Lee, J. E.; Lee, N.; Kim, T.; Kim, J.; Hyeon, T., Multifunctional Mesoporous Silica Nanocomposite Nanoparticles for Theranostic Applications. *Accounts Chem. Res.* **2011**, *44* (10), 893-902.
9. Martínez-Carmona, M.; Colilla, M.; Vallet-Regí, M., Smart Mesoporous Nanomaterials for Antitumor Therapy. *Nanomaterials* **2015**, *5* (4), 1906.
10. Lu, J.; Liong, M.; Li, Z.; Zink, J. I.; Tamanoi, F., Biocompatibility, Biodistribution, and Drug-Delivery Efficiency of Mesoporous Silica Nanoparticles for Cancer Therapy in Animals. *Small* **2010**, *6* (16), 1794-1805.
11. Li, Z. X.; Barnes, J. C.; Bosoy, A.; Stoddart, J. F.; Zink, J. I., Mesoporous silica nanoparticles in biomedical applications. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (7), 2590-2605.
12. Geng, Y.; Dalhaimer, P.; Cai, S.; Tsai, R.; Tewari, M.; Minko, T.; Discher, D. E., Shape effects of filaments versus spherical particles in flow and drug delivery. *Nat Nano* **2007**, *2* (4), 249-255.
13. Mitragotri, S., In Drug Delivery, Shape Does Matter. *Pharmaceut. Res.* **2008**, *26* (1), 232-234.
14. He, Q.; Zhang, Z.; Gao, F.; Li, Y.; Shi, J., In vivo Biodistribution and Urinary Excretion of Mesoporous Silica Nanoparticles: Effects of Particle Size and PEGylation. *Small* **2010**, *7* (2), 271-280.
15. He, Q.; Zhang, Z.; Gao, Y.; Shi, J.; Li, Y., Intracellular Localization and Cytotoxicity of Spherical Mesoporous Silica Nano- and Microparticles. *Small* **2009**, *5* (23), 2722-2729.
16. Verma, A.; Stellacci, F., Effect of Surface Properties on Nanoparticle-Cell Interactions. *Small* **2009**, *6* (1), 12-21.
17. Veronese, F. M.; Pasut, G., PEGylation, successful approach to drug delivery. *Drug Discov. Today* **2005**, *10* (21), 1451-1458.
18. Lin, Y.-S.; Haynes, C. L., Impacts of Mesoporous Silica Nanoparticle Size, Pore Ordering, and Pore Integrity on Hemolytic Activity. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (13), 4834-4842.
19. Moghimi, S. M.; Hamad, I., Liposome-Mediated Triggering of Complement Cascade. *J. Liposome Res.* **2008**, *18* (3), 195-209.
20. Souris, J. S.; Lee, C.-H.; Cheng, S.-H.; Chen, C.-T.; Yang, C.-S.; Ho, J.-a. A.; Mou, C.-Y.; Lo, L.-W., Surface charge-mediated rapid hepatobiliary excretion of mesoporous silica nanoparticles. *Biomaterials* **2010**, *31* (21), 5564-5574.
21. De, M.; Ghosh, P. S.; Rotello, V. M., Applications of Nanoparticles in Biology. *Adv. Mater.* **2008**, *20* (22), 4225-4241.
22. Doane, T. L.; Burda, C., The unique role of nanoparticles in nanomedicine: imaging, drug delivery and therapy. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (7), 2885-2911.

23. Manzano, M.; Aina, V.; Areán, C. O.; Balas, F.; Cauda, V.; Colilla, M.; Delgado, M. R.; Vallet-Regí, M., Studies on MCM-41 mesoporous silica for drug delivery: Effect of particle morphology and amine functionalization. *J. Chem. Eng.* **2008**, *137* (1), 30-37.
24. Sayari, A., Unprecedented Expansion of the Pore Size and Volume of Periodic Mesoporous Silica. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2000**, *39* (16), 2920-2922.
25. Doadrio, J. C.; Sousa, E. M. B.; Izquierdo-Barba, I.; Doadrio, A. L.; Perez-Pariente, J.; Vallet-Regí, M., Functionalization of mesoporous materials with long alkyl chains as a strategy for controlling drug delivery pattern. *J. Mater. Chem.* **2006**, *16* (5), 462-466.
26. Patel, K.; Angelos, S.; Dichtel, W. R.; Coskun, A.; Yang, Y.-W.; Zink, J. I.; Stoddart, J. F., Enzyme-Responsive Snap-Top Covered Silica Nanocontainers. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (8), 2382-2383.
27. Essa, H.; Magner, E.; Cooney, J.; Hodnett, B. K., Influence of pH and ionic strength on the adsorption, leaching and activity of myoglobin immobilized onto ordered mesoporous silicates. *J. Mol. Catal. B.* **2007**, *49* (1004), 61-68.
28. Lai, C.-Y.; Trewyn, B. G.; Jeftinija, D. M.; Jeftinija, K.; Xu, S.; Jeftinija, S.; Lin, V. S. Y., A Mesoporous Silica Nanosphere-Based Carrier System with Chemically Removable CdS Nanoparticle Caps for Stimuli-Responsive Controlled Release of Neurotransmitters and Drug Molecules. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (15), 4451-4459.
29. Chung, P.-W.; Kumar, R.; Pruski, M.; Lin, V. S. Y., Temperature Responsive Solution Partition of Organic-Inorganic Hybrid Poly(N-isopropylacrylamide)-Coated Mesoporous Silica Nanospheres. *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18* (9), 1390-1398.
30. Baeza, A.; Manzano, M.; Colilla, M.; Vallet-Regí, M., Recent advances in mesoporous silica nanoparticles for antitumor therapy: our contribution. *Biomaterials Science* **2016**, *4* (5), 803-813.
31. Gary-Bobo, M.; Hocine, O.; Brevet, D.; Maynadier, M.; Raehm, L.; Richeter, S.; Charasson, V.; Loock, B.; Morere, A.; Maillard, P.; Garcia, M.; Durand, J. O., Cancer therapy improvement with mesoporous silica nanoparticles combining targeting, drug delivery and PDT. *Int. J. Pharm.* **2012**, *423* (2), 509-515.
32. Shi, X.; Wang, Y.; Varshney, R. R.; Ren, L.; Zhang, F.; Wang, D.-A., In-vitro osteogenesis of synovium stem cells induced by controlled release of bisphosphate additives from microspherical mesoporous silica composite. *Biomaterials* **2009**, *30* (23024), 3996-4005.
33. Lanza, G. M.; Winter, P. M.; Caruthers, S. D.; Hughes, M. S.; Hu, G.; Schmieder, A. H.; Wickline, S. A., Theragnostics for tumor and plaque angiogenesis with perfluorocarbon nanoemulsions. *Angiogenesis* **2010**, *13* (2), 189-202.
34. Sun, C.; Lee, J. S. H.; Zhang, M., Magnetic Nanoparticles in MR Imaging and Drug Delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2008**, *60* (11), 1252-1265.
35. Mody, K. T.; Popat, A.; Mahony, D.; Cavallaro, A. S.; Yu, C. Z.; Mitter, N., Mesoporous silica nanoparticles as antigen carriers and adjuvants for vaccine delivery. *Nanoscale* **2013**, *5* (12), 5167-5179.
36. Peer, D., Immunotoxicity derived from manipulating leukocytes with lipid-based nanoparticles. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, *64* (15), 1738-1748.
37. Mercuri, L. P.; Carvalho, L. V.; Lima, F. A.; Quayle, C.; Fantini, M. C. A.; Tanaka, G. S.; Cabrera, W. H.; Furtado, M. F. D.; Tambourgi, D. V.; Matos, J. d. R.; Jaroniec, M.; Sant'Anna, O. A., Ordered Mesoporous Silica SBA-15: A New Effective Adjuvant to Induce Antibody Response. *Small* **2006**, *2* (2), 254-256.
38. Izquierdo-Barba, I.; Ruiz-González, L.; Doadrio, J. C.; González-Calbet, J. M.; Vallet-Regí, M., Tissue regeneration: A new property of mesoporous materials. *Solid State Sci.* **2005**, *7* (8), 983-989.