



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO:
“ NANOMATERIALES DOPADOS CON
METALES PARA TRATAMIENTO DE
INFECCIONES ÓSEAS ”**

Autor: Esther de la Hoz Sereno

Tutor: Ana García Fontecha

Convocatoria: Febrero 2019

ÍNDICE

Resumen	3
Introducción y antecedentes:	4
1. Infecciones óseas	4
○ Osteomielitis	4
○ Etiología	5
○ Sintomatología	6
○ Diagnóstico	6
○ Tratamiento	7
2. Materiales mesoporosos	9
○ Vidrios mesoporosos bioactivos	9
○ Nanopartículas	10
Objetivos	12
Metodología	12
Resultados y discusión:	12
Metales y óxidos de metales con actividad antimicrobiana	15
○ Plata	15
○ Óxido de cobre	16
○ Titanio	16
○ Óxido de zinc	17
Conclusiones	17
Bibliografía	18

RESUMEN

La población está envejeciendo como consecuencia de un incremento en la esperanza de vida y esto genera una problemática en cuanto a patologías óseas se refiere, debido al deterioro progresivo que se produce.

La nanomedicina, y en especial los nanomateriales mesoporosos cuyas líneas de investigación no paran de crecer, son una alternativa a los métodos convencionales. Es en este área donde se han desarrollado estrategias como son las nanopartículas de sílice mesoporosas y los vidrios mesoporosos bioactivos, dotados con capacidad diagnóstica y terapéutica simultáneamente y que por tanto son idóneos en el ámbito de las infecciones óseas. Estos materiales pueden llevar incluidos en su estructura fármacos, metales y óxidos de metales, fluoróforos, agentes de contraste, sensores... lo que los hace ser eficaces y muy versátiles.

Llegados a este punto, solo cabe esperar que se consiga la automatización en su fabricación para así beneficiar al mayor número de pacientes.

Palabras Clave : Infección ósea, nanopartículas, nanomateriales mesoporosos de sílice, vidrios mesoporosos bioactivos, metales antimicrobianos.

ABSTRACT

The population is aging. As a result, there has been an increase in life expectancy which in turn has generated infections within the bones due to the progressive deterioration.

Nanomedicine, and especially the mesoporous nanomaterials whose lines of research are constantly growing, are an alternative to conventional methods. It is in this area where they have developed strategies such as mesoporous silica nanoparticles and mesoporous bioactive glasses, which are equipped with diagnostic and therapeutic capacity and are therefore ideal in the field of bone infections. These differing types of medicine can consist of drugs, metals, fluorochromes, contrast agents, and sensors which make them effective and very versatile.

At this point, we can only hope that automation is achieved within their manufacture to benefit the greatest number of patients.

Keywords: *Bone infection, nanoparticles, mesoporous silica nanomaterials, mesoporous bioactive glasses, antimicrobial metals.*

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

1. INFECCIONES ÓSEAS

○ 1.1 OSTEOMIELITIS

La osteomielitis es una infección ósea que puede causar daño en cualquier parte del cuerpo, dado que se trata de una destrucción del hueso acompañada de una inflamación.

Según el curso de su evolución se puede clasificar en aguda si la duración es menor de 2 semanas, subaguda si abarca de 15 a 20 días o crónica en casos donde se supere dicha cifra.

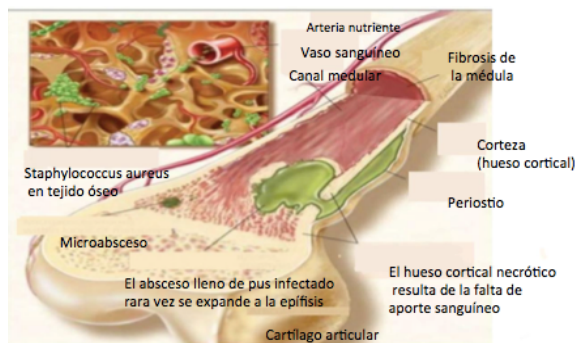


Figura 1.- Representación del interior de un hueso con osteomielitis.

Lo más frecuente es su aparición en las vértebras, los miembros de las extremidades inferiores de pacientes diabéticos (pie diabético por insuficiencia vascular), o en otras áreas como consecuencia de heridas abiertas o punzantes, traumatismos y cirugías, provocando con ello diversos síntomas y signos en función del hueso infectado⁽¹⁾.

En niños es más frecuente su aparición en zonas con un alto grado de vascularización, o en la metáfisis de los huesos más largos como son el fémur y la tibia antes de que la epifisis se cierre. Sin embargo, el problema en la población adulta es la mayor facilidad a sufrir osteoporosis y fracturas como consecuencia de una disminución progresiva de la masa ósea, que se empieza a notar justo antes de la menopausia en las mujeres y algo más tarde en los hombres. En este momento es cuando empieza a ganar importancia la resorción frente a la formación de hueso que hasta entonces se mantenían en equilibrio.

La esperanza de vida cada vez es más alta, y la edad es un factor fundamental en la mayor parte de las enfermedades óseas debido a que el líquido intraarticular se ve disminuido y el desgaste óseo se incrementa, lo que genera una combinación de factores que deriva en un elevado número de pacientes que necesitan implantes.

En la actualidad, es importante tener en cuenta que un elevado porcentaje de pacientes que requieren un implante, suelen cursar posteriormente con una infección del mismo, lo cual es un hándicap a superar ya que es un grave problema que disminuye la calidad de vida de la población. Por ello este trabajo se centra en el estudio de algunas de las nuevas medidas de prevención y tratamiento que se pueden adoptar frente a las infecciones óseas que puedan aparecer en este tipo de situaciones.

o 1.2 ETIOLOGÍA

Este tipo de patología se denomina osteomielitis y puede estar causada por isquemia, por la diseminación directa y local de microorganismos (posterior a una intervención quirúrgica o a un traumatismo), o indirecta de bacterias por el torrente sanguíneo desde el foco infectado, es decir, hematógena. Si se produce un absceso de la infección, éste podría extenderse al canal medular generando con ello aún más daño.

Los agentes causales son principalmente Gram positivos como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* (típico de las prótesis articulares y en el material de osteosíntesis), *Streptococcus agalactiae* (en niños, ancianos e inmunodeprimidos generalmente) o *Streptococcus pyogenes* (mayoritariamente del grupo A), aunque también puede estar causada por Gram negativos como *Pseudomonas aeruginosa* (más común en diabéticos y por heridas abiertas), *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae* tipo B, *Brucella* spp. y *Salmonella* spp., con una mayor predisposición de estos últimos, en casos de abuso de drogas vía parenteral, en pacientes inmunodeprimidos, en los debilitados por cáncer, en aquellos con hemodiálisis o en los que presenten anemia de células falciformes^(2,3).

En menor medida la etiología puede provenir de hongos (*Candida* spp. y *Mucor* spp.) y micobacterias ácido-alcohol resistentes (*Mycobacterium tuberculosis*) que tienden a desarrollar infecciones silentes que cursan de forma crónica.

La etiología en la implantación de biomateriales en un individuo, es la mayor parte de las veces bacteriana, y por ello será a la que nos refiramos en el resto del trabajo.

o 1.3. SINTOMATOLOGÍA

Se trata de un dolor agudo, localizado en los huesos y mantenido en el tiempo. Signos característicos de esta patología son la tumefacción y el eritema debido a un aumento de líquido en la zona por estasis sanguíneo e incremento de la presión en la zona que puede llegar a causar trombosis, isquemia y necrosis; acompañado de calor en el área afectada como consecuencia de lo anterior. Se puede presentar un drenaje de pus intermitente y, de manera ocasional: fiebre, sudoración y escalofríos; así como malestar general e irritabilidad con pérdida del apetito y disminución de peso.⁽¹⁾

o 1.4. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico resulta mucho más sencillo en la osteomielitis crónica o directa dado que ambas tienen una clínica más clara.

Un comienzo podría ser la toma de muestras sanguíneas para detectar un aumento en los marcadores inflamatorios como los leucocitos mediante un recuento leucocitario, la proteína C reactiva (máximo alcanzado a las 48h) o la velocidad de sedimentación globular (VSG) cuyo pico se alcanza en los primeros 3-5 días, dado que al principio las radiografías no muestran signos de destrucción ósea⁽²⁾ y por ello deben hacerse a partir de la primera semana de infección donde ya sí se mostrarían signos característicos como la osteoporosis, el desprendimiento del periostio, la afectación osteolítica, el engrosamiento cortical e incluso los sequestros.

El siguiente paso a seguir serían las gammagrafías con radioisótopos (tecnecio-99) que son unas de las pruebas más útiles en el diagnóstico no microbiológico al ser capaces de detectar daño en las partes blandas, a pesar de tener un 73% de especificidad (posibles falsos positivos), porque cuentan con un 90% de sensibilidad y además son muy rápidas⁽⁴⁾.

Pruebas como la tomografía axial computarizada (TAC) y la resonancia magnética nuclear (RMN) son más sensibles y específicas, capaces incluso de detectar el foco y la extensión de la alteración ósea en las partes blandas, mostrando edemas, destrucción cortical, medular y articular. La RMN ha resultado ser la técnica de elección en casos donde la patología afecte a la columna vertebral, pero no debe ser utilizada en pacientes con prótesis metálicas, y en niños es necesario el uso de anestesia. Por otro lado en el TAC también se emplea anestesia para realizar la prueba, pero en este caso el mayor inconveniente son las radiaciones que recibe el paciente.

Para confirmar el diagnóstico, también pueden realizarse estudios histopatológicos a partir de una biopsia ósea y ecografías ⁽⁴⁾.

Un punto clave a la hora de establecer un tratamiento adecuado, es realizar un diagnóstico microbiológico en el que se toman muestras, previas a la antibioterapia, como: hemocultivo, aspirado del absceso óseo donde se intentan visualizar los agentes patógenos al microscopio o por toma de muestras mediante biopsia ósea que facilita la realización tanto del cultivo como del antibiograma. Cabe destacar que cuando es necesaria una limpieza quirúrgica se obtienen mejores resultados al realizar una biopsia abierta en lugar de una percutánea ⁽²⁾.

Es importante tener en cuenta la necesidad de un diagnóstico rápido y eficaz, con el fin de establecer un tratamiento adecuado y así evitar posibles complicaciones y la evolución hacia una osteomielitis crónica.

○ 1.5. TRATAMIENTO

Los antibióticos forman parte del tratamiento frente a las infecciones óseas, siendo necesaria así mismo una intervención quirúrgica en el área afectada para realizar un drenaje, especialmente cuando hay pus e infección alrededor. Esta cirugía puede realizarse bien por punción o de forma abierta dependiendo del caso.

En un primer momento, será necesario seleccionar antibióticos de amplio espectro con el fin de cubrir el mayor número de microorganismos posibles hasta conocer los resultados tanto del cultivo como del antibiograma, es decir, se pauta una antibioticoterapia empírica según las enfermedades concomitantes y la edad del paciente. Una vez se obtienen los resultados de las pruebas, se modifica la indicación terapéutica según la sensibilidad del agente causal (Tabla 1), con excepción de un resultado negativo en el cultivo, donde se continúa con el tratamiento inicial hasta darlo por finalizado ⁽⁵⁾.

En cualquier caso, se debe establecer un tratamiento adecuado a la mayor brevedad posible para evitar complicaciones tales como la artritis séptica (infección articular) o los abscesos óseos.

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. aureus</i> resistente a la metilina (SARM)	Bacilos Gram negativos	Anaerobios
- Penicilinas Isoxazólicas (Cloxaciclina)	- Glucopéptidos	- Cefalosporinas 3 ^a (Cefotaxima, Ceftriaxona)	- Amoxicilina + Ácido clavulánico o
- Cefalosporinas 1 ^a y 2 ^a generación (Cefazolina, Cefuroxima)		- Fluorquinolonas (Ciprofloxacino)	Ampicilina + Sulbactam o Piperaciclina + Tazobactam - Carbapenémicos
ALTERNATIVAS	ALTERNATIVAS	ALTERNATIVAS	ALTERNATIVAS
- Penicilina + Inhibidor betalactamasas	- Cotrimoxazol	- Cefalosporinas 4 ^a	- Clindamicina
- Cotrimoxazol	- Fluorquinolonas	- Penicilina + Inhibidor betalactamasas	- Cefamicinas
- Fosfomicina	- Rifampicina	- Aztreonam	- Metronidazol
- Ácido fusídico		- Carbapenémicos (Imipenem, Meropenem)	
- Clindamicina			
- Fluorquinolonas			
- Rifampicina			
- Glucopéptidos (Vancomicina)			

Tabla 1.- Tratamiento antimicrobiano (Adaptada de la referencia 4).

En el resto de patógenos, la indicación sería: tetraciclinas (Doxiciclina) para *Brucella* spp., las micobacterias se tratarían con una asociación específica de antibióticos por las características de su pared y las infecciones micóticas con los antifúngicos que se emplean de forma habitual.

Generalmente, el tratamiento debe ser administrado por un periodo de 3-7 semanas y al principio vía intravenosa; si no se muestra una mejoría clínica pasadas 48-72 h es conveniente realizar un drenaje quirúrgico debido a que la antibioterapia no ha sido suficiente para tratar la infección⁽⁶⁾. La posología dependerá de la gravedad del caso clínico así como de la respuesta farmacológica aunque por lo general las dosis son altas con el fin de que el antibiótico obtenga concentraciones por encima de la CMI, dadas las características propias del medio que se generan como consecuencia de la infección (pH ácido, potencial “redox” disminuido e isquemia)⁽⁴⁾, sin olvidar que hay que tener en cuenta la tolerancia que presente el individuo al tratamiento.

Si la respuesta clínica es favorable, desaparece la fiebre y los marcadores inflamatorios (proteína C reactiva) bajan sus niveles al menos en un 30%, se plantea una conversión de manera secuencial a la vía oral, ya que ésta presenta una serie de ventajas: se reduce el coste y el tiempo tanto de preparación como de administración, los efectos secundarios y las complicaciones

relacionadas con la vía intravenosa, y se reduce el tiempo de hospitalización, mejorando con todo ello la calidad de vida del paciente.⁽⁷⁾

Sin embargo, a medida que se desarrolla el *biofilm* bacteriano sobre la superficie de un implante, la infección evoluciona de aguda a crónica, siendo éste un momento crítico donde los antibióticos vía sistémica resultan ineficaces y es necesario buscar otras alternativas terapéuticas como es la sustitución del implante, lo que hace que aumente el riesgo de una segunda infección. Para resolver este problema se han desarrollado implantes cuyo objetivo es conseguir una liberación dirigida y controlada del antibiótico a nivel local, lo cual, constituye un gran avance científico dado que a su vez se reducen las dosis de fármaco administradas y con ello las resistencias que podrían generarse como consecuencia del uso de antibióticos. Estos implantes están fabricados con diferentes materiales mesoporosos, en cuyo estudio nos centraremos a continuación, debido a la particularidad de sus características, que los hacen ser un foco de investigación para el desarrollo de nuevas terapias relacionadas con las patologías óseas al ser capaces de transportar desde antibióticos y metales con propiedades antibacterianas hasta inhibidores osteoclásticos y estimuladores osteoblásticos⁽⁹⁾.

2. MATERIALES MESOPOROSOS

○ 2.1 VIDRIOS MESOPOROSOS BIOACTIVOS (VMB)

Se trata de un biomaterial cerámico de 3ª generación dado que lo que se busca es reparar y regenerar los tejidos dañados como consecuencia de la infección⁽⁸⁾. Son los denominados *scaffolds* o andamios de células o sustancias biológicamente activas (Ej. péptidos, hormonas...), materiales mesoporosos con una estructura ordenada, que servirán de guía en la formación del hueso puesto que poseen capacidad osteogénica. Debido a la bioactividad que presentan, tienen un gran potencial como recurso en el área de la implantología y aunque se sigue investigando en ellos, su elevado coste está dificultando su aplicación clínica.

La composición general de los VMB se basa en redes formadas por $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ estando el Ca y P dispersos de manera homogénea en sílice, esta homogeneidad facilita el control en cuanto a la liberación de fármacos que podrían llevar absorbidos en los poros. Presentan una serie de propiedades que los diferencian del resto de generaciones, motivo por el cual, son objeto de este estudio: cuentan con un alto grado de superficie específica ($200\text{-}450\text{ m}^2/\text{g}$) que contiene

gran densidad de grupos silanol, y una porosidad de 0,45-0,65 cm³/g en cuanto al volumen y con un tamaño de poro que va de los 2 a los 50 nm. Estas características son el resultado de las variaciones del método sol-gel empleado para su síntesis que se explica más adelante. Es esta porosidad precisamente, la que permite albergar una gran variedad de moléculas y favorecer así el proceso de regeneración ósea, esencial en procesos degenerativos⁽⁹⁾.

Este tipo de vidrios mesoporosos interactúan con los tejidos, forman un enlace (en ausencia de una interfase de tejido fibroso conectivo) y crean una capa de apatita bioactiva sobre la superficie del implante, que resulta biocompatible y se ve favorecida por la existencia de Ca₃(PO₄)₂. La formación de esta capa refuerza a su vez las propiedades mecánicas del material, aunque no suele ser suficiente cuando la finalidad es su empleo como andamios óseos⁽¹⁰⁾. Los VMB podrían combinarse con polímeros biocompatibles cuando sea necesario aumentar la bioactividad, y en este caso los antibióticos transportados podrían ir dispersos bien en la propia matriz polimérica, o bien en los poros del vidrio mesoporoso bioactivo⁽⁹⁾. Otro punto clave es la velocidad con la que se produce la regeneración ósea, que depende en parte de la actividad osteogénica que posea el hueso con anterioridad en el propio organismo, dado que el intercambio de materia entre hueso e implante se da de forma activa. Todo ello puede resultar muy eficaz en la ingeniería de tejidos tan empleada hoy en día.

○ 2.2 NANOPARTÍCULAS (NP's)

Las NP's abarcan a los denominados dendrímeros, liposomas, sistemas poliméricos, micelas, virus, puntos cuánticos, nanotubos de carbono y nanopartículas metálicas y de sílice.

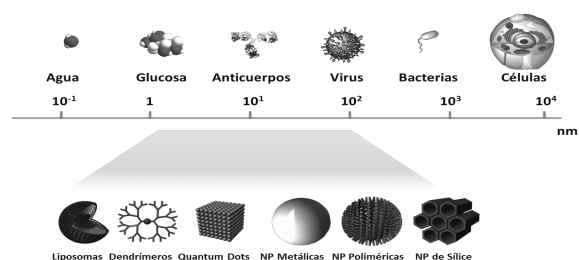


Fig. 2.- Comparativa de tamaños (adaptada de la referencia 11).

Se caracterizan por tener diversas formas, diámetros que oscilan entre los 50 y 300 nm y un tamaño de poro que va de 3 a 9 nm, medidas modificables según las necesidades clínicas⁽¹¹⁾. Además, cuentan con ciertas propiedades que las hacen ser uno de los principales focos de estudio e investigación en la nanomedicina de hoy en día.

Este trabajo está enfocado en el estudio de las nanopartículas de sílice mesoporosas que tienen un gran potencial dado que son inertes, estables química y térmicamente, presentan buena biocompatibilidad, biodegradabilidad y gran superficie específica ($>1000 \text{ m}^2/\text{g}$) que se puede funcionalizar tanto por la cara externa como por la cara interna gracias a la cantidad de grupos silanol (Si-OH) que presentan, a su vez la matriz también puede funcionalizarse. Este proceso puede ser llevado a cabo mediante oclusión, injerto o co-condensación y la finalidad es que puedan actuar en consecuencia como vehículo de transporte de fármacos y metales para el tratamiento de infecciones óseas por su elevada capacidad de carga ($>1 \text{ cm}^3/\text{g}$) y porosidad^(11,12).

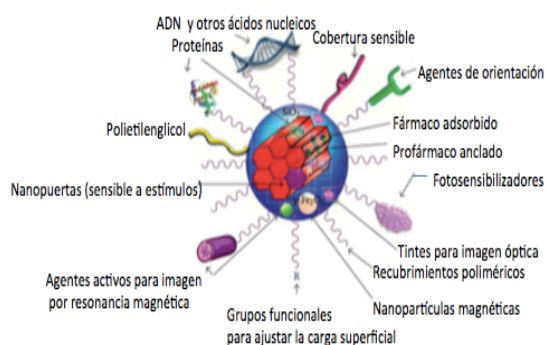


Fig.3.- Multifuncionalidad y posibilidad de carga de MSNP's (adaptada de la referencia 13).

En una MSNP (del inglés *Mesoporous Silica Nanoparticles*) el fármaco puede ir adherido a los grupos funcionales del interior en forma de profármaco o bien en los poros externos por adsorción. En la cara externa también pueden estar asociadas proteínas, ácidos nucleicos, polímeros (polietilenglicol) y agentes para la liberación dirigida.

Estas nanopartículas mesoporosas de sílice, presentan a nivel mesoscópico, una estructura altamente ordenada, a diferencia del desorden que presentan a escala atómica⁽¹⁴⁾.

Es importante tener en cuenta factores como el tamaño y la carga para la biodisponibilidad de las nanopartículas, ya que dimensiones por encima de los rangos citados supone que las NP's pasarían a ser eliminadas sin ejercer la función para la que se diseñaron, y del mismo modo, si su tamaño resulta menor de 50 nm podrían provocar daños en órganos como los pulmones al quedar retenidas. En busca de una solución para este problema, se han diseñado MSNP's con CaO en su estructura, que promueve la degradación de las NP's y evita el daño potencial que puedan generar⁽⁹⁾.

Por otro lado, la carga superficial puede regularse en función de los grupos funcionales orgánicos que se utilicen, que además están implicados en la velocidad de degradación de las nanopartículas, un ejemplo de ello son los grupos amino, que promueven una degradación más rápida, a los que les siguen los grupos carboxilo y por último, las NP's que carecen de grupos funcionales.

OBJETIVOS

El objetivo del presente estudio es profundizar en el conocimiento de los nanomateriales más empleados o estudiados, que son capaces de transportar sustancias antibacterianas como pueden ser ciertos metales para el tratamiento de infecciones óseas. Abordando con ello la problemática que existe a nivel mundial en relación a las resistencias bacterianas que no paran de aumentar de manera exponencial ya que mediante estos sistemas de administración controlada lo que se busca es una alternativa al uso de los antibióticos.

METODOLOGÍA

Este trabajo se fundamenta en una revisión bibliográfica que ha permitido adoptar una visión global sobre el tema expuesto, centrándose especialmente en las nanopartículas mesoporosas de sílice y los vidrios mesoporosos bioactivos, dopados con ciertos metales por su actividad antimicrobiana.

Los recursos utilizados han sido las siguientes bases de datos y bibliotecas científicas: Scopus, PubMed, Medline, E-prints Complutense, Google Scholar, Scielo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Es interesante conocer el método de formación de este tipo de materiales mesoporosos para entender de donde vienen las características que los hace ser un punto clave en el ámbito sanitario.

Las nanopartículas de sílice mesoporosas y los vidrios mesoporosos bioactivos, al ser materiales de sílice, forman parte del grupo denominado MCM (del inglés *Mobil Composition of Matter*). Dentro de este grupo, nos centraremos más concretamente en el MCM-41 (hexagonal y por tanto, bidimensional) y MCM-48 (con estructura cúbica tridimensional que se obtiene mediante una transición de fases desde su precursor, el MCM-41)⁽¹⁵⁾, y por otro lado SBA-15 (*Santa Barbara Amorphous*, que posee un tamaño de poro mayor que ronda los 30 nm)⁽¹⁴⁾ dado que en la investigación del equipo de Vallet-Regí *et al.* son un punto de partida con evidencia científica en el ámbito sanitario por sus múltiples aplicaciones clínicas, pudiendo llegar a tener una exitosa repercusión a nivel de las infecciones óseas, objeto de nuestro estudio^(11,16).

Las nanopartículas mesoporosas de sílice han tenido un gran impacto al ser extremadamente versátiles, resistentes y biocompatibles. Tampoco hemos de olvidar las propiedades que caracterizan a estas estructuras, que se deben fundamentalmente al método de síntesis empleado en su fabricación. Es novedoso en cuanto a que en el proceso, la química supramolecular se coordina junto con la química sol-gel tan utilizada hasta el momento para obtener mejores resultados. Las MSNP's han sido diseñadas en base a una matriz de sílice amorfa formada por silicato sódico, tetraetilortosilicato (TEOS) o silicato de tetrametilamonio a la que se adicionan surfactantes catiónicos (como el bromuro de cetiltrimetilamonio) que actúan dirigiendo la estructura en un medio básico⁽⁹⁾.

En términos generales, la síntesis puede dividirse en dos fases^(11,12): En primer lugar, el alcóxido sufre un ataque nucleofílico por moléculas de agua (hidrólisis) generando con ello grupos silanol que se condensan posteriormente formando enlaces siloxano (Si-O-Si). Si la condensación es incompleta, se mantienen parte de los grupos silanol en las paredes que conforman los poros, útiles al funcionalizar los grupos hidroxilo⁽¹⁷⁾. En este momento, pasamos de tener una suspensión coloidal a la obtención de un gel.

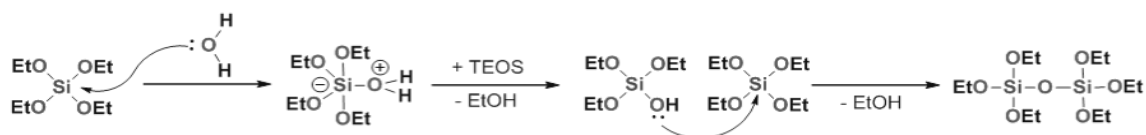


Fig.4.- Mecanismo de las etapas de hidrólisis y condensación (adaptada de la referencia 11).

La presencia del tensioactivo (molécula con carácter anfifílico), permite la generación de micelas que se asocian inicialmente en cilindros y posteriormente adoptan una disposición, hexagonal en el caso del MCM-41 que es el más destacado del grupo. A continuación, las micelas se intercalan con la matriz de sílice (fase inorgánica) y de esta forma se consigue una estructura ordenada.

La porosidad propia de estos materiales se genera bien por pirólisis o bien por disolución de la parte orgánica de la mezcla, es decir, de los surfactantes; en este paso se deshacen las fuerzas electrostáticas que se habían formado constituyendo la etapa final del proceso. Es importante tener en cuenta que en función del surfactante utilizado, la concentración de los reactivos, el pH y la temperatura de reacción, etc., el tamaño de poro que se forma puede variar.

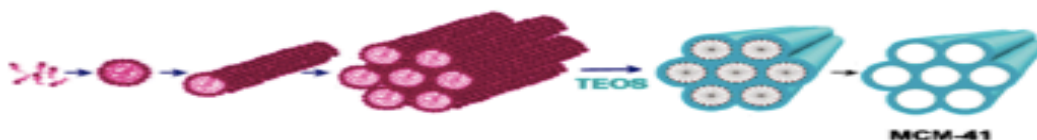


Fig. 4.- Modelo de cristal líquido para la síntesis de los MCM (adaptada de las referencias 17 y 18).

El método sol-gel es relativamente sencillo y tiene la ventaja de que por inmersión, estos materiales pueden recubrirse, dando lugar a una capa bioactiva en ciertos dispositivos como pueden ser los implantes metálicos⁽¹⁵⁾.

El fundamento para la síntesis de los VMB es básicamente el mismo, con la peculiaridad de que debe utilizarse la técnica del autoensamblaje inducido por evaporación (EISA en inglés, *evaporation induced self-assembly*) donde se parte de una disolución bastante diluida formada por todos los reactivos iniciales, incluido el surfactante. Así, una vez comienza la evaporación del disolvente volátil, se van formando micelas que se organizan al llegar a la concentración micelar crítica (CMC). Un punto clave en este proceso es la cantidad de CaO presente, dado que en elevada proporción se obtendría una estructura hexagonal, mientras que si la concentración es menor se sintetizaría una estructura cúbica. Lo mismo pasa con un aumento de temperatura, donde la fase que ve favorecida su formación es la cúbica.^(9,19)

Una vez sintetizados los materiales, se puede funcionalizar su superficie con polietilenglicol o polímeros catiónicos para aumentar la biodisponibilidad del fármaco integrado, con anticuerpos que aportan selectividad o con agentes de contraste, fluoróforos, sensores de iones o de pH cuando se quiera monitorizar el sistema en el organismo. En este último caso, se utiliza la técnica de oclusión para funcionalizar la superficie directamente, de forma que el agente queda distribuido de manera homogénea en la matriz. Otros métodos de funcionalización son el injerto, donde los grupos funcionales que se fijan por silanización quedan repartidos heterogéneamente y la co-condensación que mantiene un orden al incorporar el siloxano funcionalizado con TEOS desde el principio. Resulta muy provechosa la posibilidad de dirigir la funcionalización ya que la superficie externa tiende a funcionalizarse con mayor facilidad en comparación con la interior; aunque lo más práctico es realizar este proceso en presencia y en ausencia de tensioactivo de manera consecutiva.⁽¹¹⁾

En relación a los sistemas de liberación controlada de fármacos, estos tienen que ser capaces de vectorizar la carga hasta el foco de infección y conseguir una dosificación eficaz al abrir y cerrar los poros, para ello se emplean nanopuertas inteligentes estímulo-respuesta que reaccionan por un lado a variaciones de pH, medios con carácter reductor y enzimas o bien de forma más controlada a la luz, los ultrasonidos y los campos magnéticos, liberando en cualquiera de los casos el contenido del sistema a modo de terapia focalizada.

METALES Y ÓXIDOS DE METALES CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

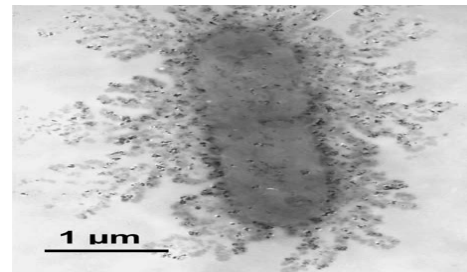
Ciertos metales de la tabla periódica pertenecientes a la serie química de los metales de transición, así como sus óxidos, son agentes antibacterianos inorgánicos de amplio espectro que han resultado ser una prometedora alternativa a los antibióticos. Afectan a bacterias, hongos e incluso virus, siendo especialmente eficaces contra *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) y *E. coli*. Esa actividad antimicrobiana es consecuencia en parte a los iones metálicos liberados, así como por el tamaño de las propias nanopartículas que dañan las membranas bacterianas volviéndose más permeables y generando con ello la lisis celular⁽²⁰⁾.

Según múltiples estudios, la capacidad biocida de estas nanopartículas metálicas, depende de: la concentración de las mismas, del método por el que han sido sintetizadas (síntesis química o biológica) o del patógeno al que van dirigidas⁽²¹⁾.

De todos estos metales con actividad antimicrobiana nos centraremos en el estudio de aquellos que han resultado tener ciertas ventajas frente al resto y que por ello presentan mayor potencial en el tratamiento de infecciones óseas⁽¹⁹⁾:

- **PLATA (Ag):** elemento químico cuyo número atómico es el 47.

Fig. 5.- Imagen por microscopía electrónica de transmisión (TEM) de *E. Coli* tratada con NP's de plata en medio LB (Luria-Bertani) (adaptada de la referencia 22).



A pesar de que el mecanismo de acción mediante el cual actúa dicho metal no se conoce a ciencia cierta, diferentes estudios han demostrado que interviene en diferentes niveles como antibacteriano^(22,23):

- Al perforar la pared celular de peptidoglicano y la membrana, la fuerza motriz del protón se ve alterada y es capaz de inhibir la síntesis de ATP. Además, impide que el ADN se replique, lo que desencadena la muerte celular.
- El siguiente punto a tener en cuenta es el daño que se genera en las membranas cuando las nanopartículas se adhieren a los grupos tiol (-SH) de las proteínas de la pared celular bacteriana, lo que provoca la desnaturalización de las proteínas permitiendo el paso de iones de plata al interior.

- Por último, se generan ROS (especies reactivas de oxígeno, del inglés *reactive oxygen species*) que promueven el estrés oxidativo dentro de la célula al verse afectadas las enzimas de la cadena de transporte de electrones.

Se ha estudiado el empleo de este metal en las nanopartículas, obteniéndose resultados muy beneficiosos para el individuo dado que a su vez, también mejora la calcificación, la mineralización y la diferenciación ósea, esta última debido al incremento de los niveles de fosfatasa alcalina⁽²⁴⁾. A su vez, promueve la osteosíntesis al inducir la diferenciación de los osteoblastos.

- **ÓXIDO DE COBRE (Cu₂O):** Las nanopartículas que llevan este óxido en su composición, cuentan con iones Cu²⁺ que son liberados en el organismo, al igual que los de Ag⁺ y son los responsables de provocar un cambio de pH y de conductividad que afectan a virus como el influenza A, causante de la gripe o al virus responsable del síndrome respiratorio agudo grave (SARS, en inglés *Severe acute respiratory syndrome*)⁽²⁵⁾. Estos iones también desestructuran las hélices de ADN induciendo la lisis celular.

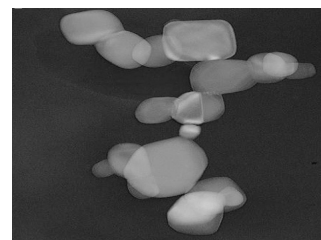


Fig.6.- Nanopartículas de CuO vistas por TEM (adaptada de la referencia 25).

La solubilidad en agua de un compuesto, nos permite conocer como será la liberación de sus iones y por lo tanto, al tratarse de un material poco soluble, la liberación de los Cu²⁺ será sostenida en el tiempo y por consiguiente deberá tenerse muy en cuenta la estabilidad de las NP's. Otras características que pueden resultar útiles a la hora de elegir este material son su carácter semiconductor y la elevada biodisponibilidad que presenta⁽²⁶⁾.

Sin embargo, el uso de este metal resulta ser menos eficiente y con una síntesis más compleja ya que se debe evitar la formación de nanopartículas de CuO y de Cu que resultarían tóxicas para el organismo⁽²⁶⁾.

- **TITANIO (Ti):** Se trata de metal de transición con número atómico 22.

El TiO₂ es la forma que se encuentra fundamentalmente en la superficie de los implantes; cuenta con actividad fotocatalítica que le hace ser útil como antibacteriano en combinación con

la luz visible⁽²⁷⁾. Generalmente, para potenciar este efecto se utiliza el co-dopaje como por ejemplo con Zn-SO₄, Zn-Cs, Sn-Mn, B-glicerol o N-Cu. A modo de explicación, en este último lo que ocurre es que parte de los átomos de Ti son reemplazados por Cu y a su vez el N ocupa el lugar del O, lo que compensa la carga y genera un sinergismo en cuanto a la actividad. La acción biocida también se ve potenciada en el caso de B-glicerol, donde la formación de grupos -OH ejerce su tendencia a romper las membranas bacterianas.

Otras características favorables para la fabricación de implantes con este metal son: su resistencia a la corrosión y estabilidad, es decir, al oxidarse se forma una capa de dióxido de titanio (TiO₂) que es inerte en el organismo, y su módulo elástico similar al del hueso. La dureza y la ligereza que presenta, el alto grado de resistencia a la fatiga y a la corrosión, y su alto grado de biocompatibilidad que facilita la osteointegración, también forman parte de sus propiedades. La desventaja que presenta el titanio es que no cuenta con bioactividad y por consiguiente, la formación de interacciones entre el organismo y el implante se ve perjudicada.

➤ **ÓXIDO DE ZINC (ZnO):** Se trata de un compuesto bactericida, fungicida y con actividad antivírica como consecuencia de la producción de iones Zn²⁺ y de ROS al reaccionar con la luz, ya que se generan especies altamente reactivas como H₂O₂, radicales hidroxilo y radicales superóxido, que fragmentan la membrana celular ejerciendo con ello un efecto biocida por su actividad fotocatalítica⁽²⁸⁾.

Resulta muy útil en diversas aplicaciones, siendo una de las más destacadas su efecto antibacteriano. Para potenciar esta actividad, puede combinarse con óxido de cobre en su superficie con el fin de obtener un efecto sinérgico y favorecer la actividad fotocatalítica del compuesto^(21,28). Estas nanopartículas de ZnO además tienen la ventaja de que se eliminan fácilmente, lo que reduce los posibles niveles de toxicidad que se puedan producir.

CONCLUSIONES

Cabe destacar que las resistencias que se están generando con el mal uso de los antibióticos no paran de crecer y a día de hoy esto se ha convertido en uno de los mayores problemas de la salud pública. Tanto, que la OMS ha puesto en marcha un plan de acción a nivel mundial contra la resistencia a los antimicrobianos. Sin embargo, según una gran variedad de

estudios, los metales son una especie de nanoantibióticos que no generan resistencias, lo cual es una ventaja a tener en cuenta a la hora de tratar las infecciones óseas.

A día de hoy, el área de I + D (Investigación y Desarrollo) se enfoca en mejorar la biocompatibilidad de estos materiales mesoporosos en los que van incorporados tanto antibióticos como metales con propiedades antibacterianas, haciendo que sean más reabsorbibles y fáciles de eliminar; para ello se están llevando a cabo estudios de toxicidad a largo plazo principalmente en relación a las nanopartículas. Por otro lado, es necesario mejorar la eficacia en cuanto al anclaje de moléculas en su superficie y al transporte de los fármacos. Una herramienta de gran utilidad para afrontar todo esto, es la tecnología 3D que permite observar el comportamiento de los materiales en cuestión.

La investigación que se está desarrollando en este ámbito necesita llegar aún a la industria para que su beneficio se vea reflejado en la sociedad, pero para ello aún queda un largo camino que recorrer dado que las autoridades regulatorias y administrativas son las encargadas de aprobar su uso en humanos⁽²⁹⁾.

Para terminar, la falta de recursos también es un punto crítico en el desarrollo de esta tecnología cuyo objetivo es incrementar la salud de los pacientes y por ello es necesario la automatización con el fin de disminuir los costes de fabricación que implican estos materiales.

Con todo esto, se puede afirmar que las nanopartículas de sílice mesoporosas junto con los vidrios mesoporosos bioactivos, poseen un futuro prometedor y de lo más provechoso.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- Porter, R. S.; Kaplan, J. L. El Manual Merck. 19th ed. Editorial Médica Panamericana; 2014.
- 2- Esteban, J.; Marín, M.; Meseguer, M.A.; Sánchez Somolinos, M. Diagnóstico microbiológico de las infecciones osteoarticulares. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2009; 34, 8-9.
- 3- Ugalde Ovarés, C.E; Morales Castro, D. Osteomielitis. Medicina legal Costa Rica. 2014;31(1).
- 4- Ariza, J.; Gomis, M.; Barberont, J.; Sánchez, C.; Barros, C. Infecciones osteoarticulares y de partes blandas. Protocolos clínicos SEIMC; 6:17-20.
- 5- Hernández Sampelayo Matos, T.; Zarzoso Fernández, S.; Navarro Gómez, M.L.; Santos Sebastián, M. M.; González Martínez, F.; Saavedra Lozano, J. Osteomielitis y artritis séptica. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica; 20: 205-220.

- 6- Saavedra-Lozano, J.; Calvo, C.; Huguet Carol, R.; Rodrigo, C.; Núñez, E.; Obando, I *et al.* Documento de consenso SEIP-SERPE-SEOP sobre el tratamiento de la osteomielitis aguda y artritis séptica no complicadas. Asociación española de pediatría. 2014; 82(4).
- 7- Martínez Vázquez, M. J. Terapia secuencial con medicamentos. Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria. 2002; 1-30.
- 8- Salinas, A. J.; Vallet-Regí, M. *Evolution of Ceramics with Medical Applications. Zeitschrift Für Anorganische Und Allgemeine Chemie.* 2007; 633(11-12): 1762-1773.
- 9- Arcos Navarrete, D. Vidrios mesoporosos bioactivos: implantes y sistemas de liberación de fármacos al servicio de las terapias regenerativas óseas. Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia. 2012; 78(2): 192-211.
- 10- Sri, Q.; Wang, J.; Zhang, J.; Fan, J.; Stucky, G. D. *Rapid-Setting, Mesoporous, Bioactive Glass Cements that Induce Accelerated In Vitro Apatite Formation. Advanced Materials.* 2006; 18(8):1038-1042.
- 11- Llinàs, M. C.; Sánchez-García, D. Nanopartículas de sílice: preparación y aplicaciones en biomedicina. Afinidad LXXI. 2014; 565.
- 12- Mai, WX.; Meng, H. *Mesoporous silica nanoparticles: A multifunctional nano therapeutic system. The Royal Society of Chemistry.* 2013; 5(1), 19-28.
- 13- Vallet-Regí, M. *Mesoporous Silica Nanoparticles: Their Projection in Nanomedicine.* 2012. *International Scholarly Research Notices*; 2012: 1-20.
- 14- Martínez Carmona, M.; Colilla Nieto, M (dir). Nanomateriales de sílice mesoestructurada: aplicación en infección y cáncer [tesis doctoral].Madrid:Universidad Complutense 2017.244 p.
- 15- Muniesa Lajara, C.; Botella Asunción, P (dir). Materiales nanoestructurados biocompatibles basados en sílice. Preparación y aplicaciones en terapia anticancerígena [tesis doctoral] Valencia: Universitat Politècnica de València 2013; 268 p.
- 16- Vallet-Regí, M.; Balas, F.; Arcos, D. *Mesoporous Materials for Drug Delivery. Angewandte Chemie International ed.* 2007; 46(40): 7548-7558.
- 17- Nieto Peña, A.; Valler-Regí, M (dir). Aplicaciones biomédicas de materiales mesoporosos de sílice y de carbón [tesis doctoral] Madrid: Universidad Complutense 2011; 285 p.
- 18- Corma, A. *From Microporous to Mesoporous Molecular Sieve Materials and Their Use in Catalysis. Chemical Reviews.* 1997; 97(6):2373–2420.

- 19- Vallet-Regí, M.; Salinas, A. J.; Arcos, D. *Tailoring the structure of bioactive glasses: from the nanoscale to macroporous scaffolds. International Journal of Applied Glass Science.* 2016; 7 (2):195-205.
- 20- Betancur Henao, C.P.; Hernández Montes, V.; Buitrago Sierra, R. Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas.* 2016; 35(4).
- 21- Gunalana, S.; Sivaraja, R.; Rajendranb, V. *Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. Progress in Natural Science: Materials International.* 2012; 22(6): 693–700.
- 22- Sondi, I.; Salopek-Sondi, B. *Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. Journal of Colloid and Interface Science.* 2004; 275(1): 177-182.
- 23- Chaloupka, K.; Malam, Y.; Seifalian, A. M. *Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications. Trends in Biotechnology.* 2010; 28(11): 580-588.
- 24- Qing, T.; Mahmood, M.; Zheng, Y.; Biris, A. S.; Shi, L.; Casciano, D. A. *A genomic characterization of the influence of silver nanoparticles on bone differentiation in MC3T3-E1 cells. Journal of Applied Toxicology.* 2017; 38 (2): 172-179.
- 25- Ren, G.; Hu, D.; Cheng, E.W.C.; Vargas-Reus, M. A.; Reip, P.; Allaker, R. P. *Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. International Journal of Antimicrobial Agents.* 2009; 33(6): 587-590.
- 26- De, B.; Gupta, K.; Mandal, M.; Karak, N. *Biocide immobilized OMMT-carbon dot reduced Cu₂O nanohybrid/hyperbranched epoxy nanocomposites: Mechanical, thermal, antimicrobial and optical properties. Materials Science and Engineering: C.* 2015; 56: 74-83.
- 27- Stoimenov, P. K.; Klinger, R. L.; Marchin, G. L.; Klabunde, K. J. *Metal Oxide Nanoparticles as Bactericidal Agents. Langmuir.* 2002; 18(17): 6679-6686.
- 28- Ma, G.; Liang, X.; Li, L.; Qiao, R.; Jiang, D.; Ding, Y.; Chen, H. *Cu-doped zinc oxide and its polythiophene composites: Preparation and antibacterial properties. Chemosphere.* 2014; 100: 146-151.
- 29- Colilla, M.; González, B.; Vallet-Regí, M. *Mesoporous silica nanoparticles for the design of smart delivery nanodevices. Biomaterials Science.* 2013; 1(2):114-134.