



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: ADMINISTRACIÓN DE
ANTIOSTEOPORÓTICOS DESDE IMPLANTES

Autor: María Kaiser Varela

Fecha: Julio 2020

Tutor: Daniel Arcos Navarrete

Contenido

1. Resumen	3
2. Abstract	3
3. Objetivos	3
4. Metodología	3
5. Introducción	4
5.1. Estructura y composición del hueso	4
5.2. Remodelado óseo.....	5
5.3. Osteoporosis.....	6
5.4. Tratamiento Farmacológico	6
6. Resultados y discusión	8
6.1. Biocerámicas	8
6.2. Biopolímeros	11
6.3. Metales.....	14
6.4. Nanopartículas	14
7. Conclusiones	16
8. Bibliografía	17

1. Resumen

La osteoporosis es una enfermedad metabólica que afecta una gran proporción de la población mundial, principalmente personas mayores. Se estima que una de cada tres mujeres y uno de cada cinco hombres en el mundo padecen osteoporosis. Es una enfermedad silenciosa, ya que no se diagnostica hasta que no se sufre una fractura. Muchos son los investigadores que han tratado de encontrar el tratamiento óptimo para esta enfermedad, hoy en día se sigue investigando en ello. Los fármacos más usados por excelencia son los bifosfonatos, administrados tanto por vía oral como intravenosa (IV). Sin embargo, sus reacciones adversas a nivel sistémico y su baja biodisponibilidad han llevado a buscar otras alternativas para su administración, como es la liberación de fármacos desde el propio implante. La idea es que a través de esta técnica el fármaco actúe a nivel de la fractura y así se reduzcan los efectos secundarios derivados de la administración oral o IV, al mismo tiempo que se permita la regeneración de tejido óseo.

2. Abstract

Osteoporosis is a metabolic disease that affects a large proportion of the world's population, mainly older people. It is estimated that one in three women and one in five men worldwide have osteoporosis. It is a silent disease, since it is not diagnosed until a fracture is suffered. Many are the researchers who have tried to find the optimal treatment for this disease, today it is still being researched. The most widely used drugs are bisphosphonates, administered both orally and intravenously (IV). However, their adverse reactions at a systemic level and their low bioavailability have led to the search for other alternatives for their administration, such as the release of drugs from the implant itself. The idea is that through this technique the drug acts at the fracture level and thus reduces the side effects derived from oral or IV administration, while allowing the regeneration of bone tissue.

3. Objetivos

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica que permita establecer cuáles son las nuevas estrategias que se han desarrollado y están actualmente en investigación durante los últimos años, en el campo de los biomateriales, para tratar la osteoporosis. La búsqueda se organizará buscando implantes o biomateriales que puedan ser aplicables como sistemas de liberación de fármacos para el tratamiento de la osteoporosis.

4. Metodología

Para el correcto desarrollo del trabajo, se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica y para ello se ha consultado en las siguientes bases de datos: PubMed, Science Direct, Google Scholar y Medline. Además, las páginas web utilizadas fueron sacadas de fuentes oficiales. Algunas de las palabras clave empleadas fueron: osteoporosis, bisphosphonates, biomaterials, nanoparticles, drug delivery system, tanto en inglés como en español. La mayor parte de los artículos encontrados están escritos en inglés. Se incluyen revisiones bibliográficas de los últimos 15 años, haciendo mayor hincapié en los últimos 5 años. La mayoría de los artículos se han citado más de 20 veces, excepto aquellos que son muy recientes. Se excluyen aquellos artículos que no sean revisiones bibliográficas o que tengan más de 15 años. Con los artículos obtenidos se ha elaborado una base de datos de elaboración propia para el análisis del trabajo.

5. Introducción

5.1. Estructura y composición del hueso

El hueso es una estructura rígida y metabólicamente activa compuesta por varias fases, una mineralizada, formada principalmente por hidroxapatita; otra orgánica, formada por colágeno tipo I, proteínas no colágenas, lípidos; y agua [1]. El tejido óseo es uno de los mayores sistemas del organismo. Entre sus funciones destacan las siguientes: sirve como soporte estructural del cuerpo y protector de los órganos vitales; permiten el movimiento voluntario gracias a los músculos que se fijan a los huesos a través de los tendones; la medula ósea roja forma los eritrocitos en un proceso denominado hematopoyesis; acumulan minerales, calcio y fósforo principalmente; sirven como reserva energética gracias a los lípidos que forman la medula ósea amarilla.

Dependiendo de la densidad de tejido óseo del hueso, este se divide en varias partes:

- Hueso compacto: es aquel que está situado en la periferia del hueso. Es un tejido denso que se dispone en forma de láminas o anillos concéntricos formando las osteonas o sistemas de Havers, las unidades funcionales del tejido compacto que rodean un canal central denominado conducto de Havers. A través de este conducto circulan los vasos sanguíneos y nervios; los vasos se unen unos con otros a través de los canalículos de Volkman. Cada lámina se dispone en una dirección, de manera que puedan resistir mejor a los distintos tipos de fuerzas que son aplicadas sobre el hueso [2].

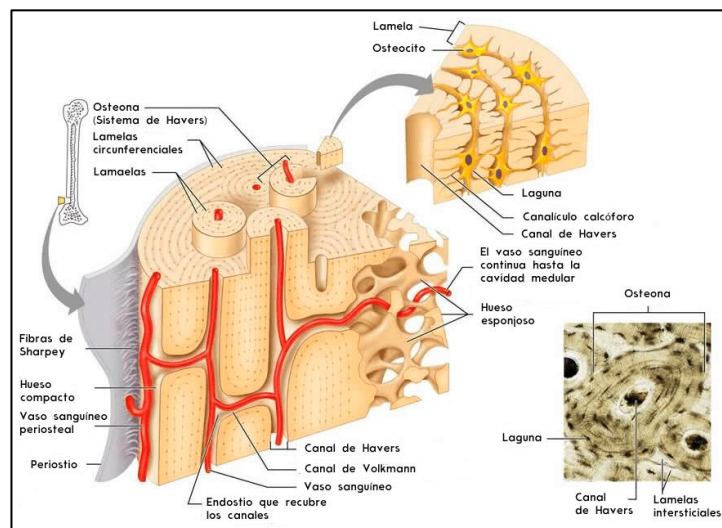


Figura 1. Estructura del hueso

- Hueso esponjoso: también llamado hueso trabecular. Constituye la parte interna de los huesos, se encuentra en la epífisis de los huesos largos; este tejido forma una red de trabéculas óseas, dejando unos espacios que son ocupados por la médula ósea. Se trata de un hueso más poroso que el compacto y es muy activo metabólicamente, ya que está muy vascularizado. En estas cavidades tiene lugar la hematopoyesis, proceso por el que se forman las células sanguíneas y células del sistema inmune [2].

El tejido óseo está compuesto por una serie de células:

- Osteoblastos: son células mononucleadas que derivan de las células madre pluripotenciales mesenquimales del periostio y la médula ósea. Los osteoblastos

sintetizan la matriz ósea y expresan una enzima denominada fosfatasa alcalina (ALP), que es la enzima que va a permitir la mineralización del hueso. Además de formar hueso, estas células median la reabsorción del hueso por parte de los osteoclastos a través de ciertas citoquinas y sintetizan factores de crecimiento [3, 26].

- Osteocitos: son osteoblastos que quedan incluidos en el hueso mineralizado. Los osteocitos y los osteoblastos están conectados entre sí por medio de proteínas transmembrana e integrinas, que permiten el paso de mensajeros como calcio, citoquinas y prostaglandinas. Forman un verdadero sincitio [3, 26].
- Osteoclastos: son células grandes, multinucleadas que derivan de células madre hematopoyéticas medulares denominadas “Unidades Formadoras de Colonias de Granulocitos y Macrófagos” (CFC-GM). Su función principal es la reabsorción del hueso, es decir, degradar la matriz ósea. Los osteoclastos tienen dos especializaciones en la membrana: una tiene forma de cepillo, a través de la cual se va a producir la resorción ósea, y otra con integrinas para adherirse a la matriz [3, 26].

5.2. Remodelado óseo

Como ya hemos dicho anteriormente, el hueso es un tejido que está continuamente remodelándose, esto quiere decir que el hueso viejo se cambia por hueso nuevo, con el objetivo de sanar las zonas dañadas; además influye en la homeostasis mineral y sobre todo en el balance del calcio y del fósforo. El remodelado se ve influido por varios factores como pueden ser las hormonas, el envejecimiento, daños causados por fracturas o factores mecánicos.

Este proceso comienza como respuesta a un estímulo (fractura, hormonas...), se secreta RANKL (ligando de RANK), una proteína encargada de unirse y activar a RANK (receptor activador del factor nuclear kappa). Gracias a unas sustancias quimiotácticas se reclutan preosteoclastos, que se fusionan dando lugar a osteoclastos activos. Estos se adhieren a la matriz y mediante unas prolongaciones digieren la matriz orgánica. Cuando terminan su trabajo, entran en apoptosis. A medida que los osteoclastos desaparecen, empiezan a aparecer células mononucleares y preosteoblastos, lo que permite que el balance entre osteoclastos y osteoblastos esté en equilibrio. Los osteoblastos empiezan a sintetizar nueva matriz, llenando las cavidades formadas por los osteoclastos, y pasados unos 11 días se empieza a mineralizar. Los osteoblastos que han participado en el proceso siguen varias vías, unos quedan embebidos en la matriz como osteocitos, otros se quedan en la superficie como células de revestimiento y otros mueren por apoptosis [4, 5].

	Estímulo de la resorción	Inhibición de la resorción	Masa ósea
Ejercicio			+
Edad			-
Carga mecánica			+
PTH	+		
Calcitonina		+	
Vitamina D	+		
Estrógenos		+	+
Andrógenos		+	+
IGF-1			+
IL-1, 3, 6, 11	+		
IL-4, 13, 10, 12, 18		+	
TGF-β			+
INF-γ		+	+
BMP's			+
NO			+
Leptina		+	
GM-CSF, M-CSF	+		

Figura 2. Reguladores del remodelado óseo

5.3. Osteoporosis

La osteoporosis es una enfermedad crónica esquelética que se caracteriza por una pérdida de masa ósea, con la correspondiente disminución de la resistencia ósea frente a los traumatismos, y un aumento de la fragilidad del hueso debido al deterioro de la microarquitectura del tejido óseo. Esta enfermedad da lugar a múltiples fracturas, siendo las más características las de cadera, columna vertebral y muñeca. La aparición surge bien por una falta de formación de hueso o por un exceso en la resorción del mismo, perdiendo el equilibrio de ambos procesos [7, 8, 9].

Para diagnosticar la osteoporosis, la OMS en 1994 estableció una serie de criterios basándose en las medidas de densidad mineral ósea o DMO en cadera, columna y antebrazo de mujeres caucásicas posmenopáusicas. Actualmente, el método por el cual se realizan las medidas es el densitómetro de doble haz (DXA) y se comparan en base a dos referencias. El T-Score, valor que por lo general se emplea con pacientes mayores de 50 años, y compara la DMO del paciente con respecto a la máxima densidad ósea alcanzada de una persona adulta y sana, esta suele alcanzarse entre los 20 y 40 años. El Z-Score es un valor que se utiliza en mujeres premenopáusicas, niños y adultos jóvenes. Este compara la DMO del paciente con respecto a la densidad ósea de una persona de su misma edad, raza y sexo [6, 7, 8, 10].

DMO	Estado
T-score: +2,5 a -1,0	Normal
T-score: entre -1,0 y -2,5	Osteopenia
T-score < 2,5	Osteoporosis
T-score < 2,5 y fractura por fragilidad	Osteoporosis severa

Figura 3. Clasificación de la OMS de la osteoporosis en función de la DMO

La osteoporosis se trata de una enfermedad multifactorial, por lo que no solo interviene en su desarrollo un agente, sino el conjunto de varios. Por un lado, están aquellos que no se podrían modificar, como son el envejecimiento, a partir de los 30 años empieza a disminuir la masa ósea; el sexo, las mujeres poseen mayor riesgo debido a que su pico de masa ósea es menor, y con la menopausia, se reduce el número de estrógenos e incrementa la pérdida de tejido óseo. La genética y la raza caucásica son otros dos factores pertenecientes a este grupo. Por otro lado, están los no modificables, entre los que destacan los hábitos de vida, ciertas enfermedades y el tratamiento crónico con glucocorticoides [6, 7, 9, 11].

5.4. Tratamiento Farmacológico

En la actualidad, la mayoría de los medicamentos que se emplean para el tratamiento de la osteoporosis son de administración oral, o en otros casos, vía subcutánea, intravenosa, y local. Según el mecanismo de acción se pueden clasificar en:

Antirresortivos

Los bifosfonatos son unos compuestos análogos a la molécula de pirofosfato, cuya estructura química P-O-P, se ha sustituido por P-C-P. Se dividen en nitrogenados (alendronato, pamidronato, risedronato, ibandronato, zoledronato), más nuevos y potentes, y no nitrogenados (clodronato, etidronato, tiludronato), menos potentes.

Los bifosfonatos simples (no nitrogenados), cuando son captados por los osteoclastos, dan lugar a un análogo no hidrolizable de ATP, que se acumula, siendo citotóxico e induciendo la apoptosis de los osteoclastos [7, 19, 24].

Los bifosfonatos nitrogenados, no se metabolizan dentro de la célula, sino que inhiben la actividad de la farnesilpírofosfato (FPP) sintasa, una enzima de la vía del mevalonato, por la cual se sintetizan el colesterol y los isoprenoides. Esta inhibición lleva a la apoptosis de los osteoclastos [7, 19, 24].

Todos ellos han demostrado una clara eficacia en el aumento de la DMO y la reducción del riesgo de fracturas osteoporóticas. Se caracterizan por tener una baja absorción intestinal (biodisponibilidad del 1 al 3%). No solo eso, sino que se ha visto que pueden inducir osteonecrosis maxilar y fracturas atípicas de fémur al administrarlos por vía intravenosa o durante un largo periodo de tiempo respectivamente. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) ha advertido de estos efectos adversos y recomienda realizar controles en estos lugares antes y durante el tratamiento con bifosfonatos [7, 18, 19, 24]. A pesar de ello, los bifosfonatos presentan una elevada fijación ósea. De la dosis que se administra, un 80% es eliminado por vía renal, y el 20% restante es captado por los huesos; aquí, se situarán en las zonas donde se va a producir la resorción, para impedirla. La vida media de estos fármacos en plasma es muy baja, pero una vez se adhieren al hueso pueden llegar a durar hasta 10 años [18, 20].

El *raloxifeno* es un modulador selectivo de los receptores estrogénicos. Se une con gran afinidad a los receptores α y β . Se absorbe bien por vía oral, pero muestra un intenso efecto de primer paso por glucuronidación hepática. Tiene un efecto agonista sobre el hueso, en el cual inhibe la resorción. Este medicamento se emplea para reducir el riesgo de fracturas osteoporóticas vertebrales en mujeres posmenopáusicas [7, 17, 18].

El *denosumab* es un anticuerpo monoclonal que interacciona con RANKL, no pudiendo unirse este último a su receptor RANK, por lo que disminuye el número de osteoclastos y su función se ve inhibida. Está indicado para el tratamiento de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas, en las cuales, se ha visto una clara reducción del riesgo de fracturas vertebrales, no vertebrales y de cadera. También se emplea en el tratamiento de la pérdida ósea asociada a la terapia con glucocorticoides o asociada a la supresión hormonal en varones con cáncer de próstata con alto riesgo de fracturas. Se administra por vía subcutánea. Tiene una serie de reacciones adversas, entre las que destacan la osteonecrosis mandibular o del conducto auditivo externo y fracturas atípicas de fémur [7, 12, 16, 18].

La *calcitonina* es un péptido sintetizado por las células C del tiroides; esta síntesis depende de la concentración de calcio en plasma. Este medicamento, de administración por vía subcutánea o intramuscular, se emplea para la prevención de la pérdida de masa ósea tras una fractura, ya que, además de inhibir la resorción ósea, tiene propiedades analgésicas para el dolor causado por la propia rotura del hueso [7, 13, 18].

Osteoformadores

La *PTH* completa o la *teriparatida*, fragmento comercializado de esta hormona, se administran por vía subcutánea. Están indicadas en el tratamiento de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas y en varones con un aumento del riesgo de fractura. También se emplean para el tratamiento de la osteoporosis asociada a la terapia con glucocorticoides en hombres y mujeres con incremento del riesgo de fractura [7, 14, 18].

Doble acción

El *ranelato de estroncio* está compuesto por dos átomos de estroncio libre y ácido ranélico. Tras su administración por vía oral, los átomos de estroncio se adsorben a los cristales de hidroxiapatita y posteriormente se intercambian con los de calcio, pudiendo permanecer en el esqueleto durante años. Este medicamento disminuye las fracturas osteoporóticas; está indicado para osteoporosis severa en mujeres posmenopáusicas, en las cuales se reduce el riesgo de fracturas vertebrales y de cadera; y en hombres con alto riesgo de fracturas para los que otros medicamentos están contraindicados [7, 15].

Recientemente, la FDA ha aprobado un nuevo medicamento denominado *Evenity (romosozumab-aqqg)* para tratar la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas con un alto riesgo de fractura. Se trata de un anticuerpo monoclonal cuyo mecanismo de acción se basa en el bloqueo de la proteína esclerostina, la cual juega un papel importante en la regulación del remodelado óseo. Inhibiendo esta proteína se consigue un incremento de la formación de hueso y, en menor medida, un descenso de la pérdida ósea, lo que conlleva una reducción drástica del riesgo de fracturas [21, 22].

Como ya hemos visto, la administración de los fármacos antiosteoporóticos por vía oral o intravenosa tiene una serie de inconvenientes, como son las reacciones adversas o el metabolismo hepático, entre otros. Ello ha creado la necesidad de investigar y realizar implantes con el fármaco en su interior, de tal manera que se vaya liberando este poco a poco y se reduzcan los efectos adversos sistémicos, al ser de administración local. Por ello, se está estudiando mucho el injerto sintético, en el cual se emplea un material o combinación de varios que sean biocompatibles con el organismo. El biomaterial ideal debería tener una serie de características, como son la **osteointegración**, que es la unión sólida entre el hueso vivo y la superficie del implante; la **osteoinducción**, es el reclutamiento de las células óseas mesenquimales para su diferenciación hacia condroblastos y osteoblastos; la **osteokonducción**, el material hace de soporte para que el hueso se apoye en él. Se produce un crecimiento tridimensional de capilares y tejido vascularizado desde el hueso hacia el injerto. Y la **osteogénesis**, que es la formación de tejido óseo nuevo gracias a células procedentes del implante o del huésped [23, 25].

6. Resultados y discusión

6.1. Biocerámicas

Las cerámicas llevan usándose a modo de cemento de huesos desde 1892 por sus buenas características en cuanto a compatibilidad con el organismo, osteokonducción y moldeabilidad. Gracias a estas propiedades se utilizan mucho en ortopedia, cirugía maxilofacial y vertebral, implantología dental, y más recientemente, en sistemas de liberación de fármacos e ingeniería tisular. Siguiendo su evolución nos encontramos con 3 generaciones de cerámicas, la primera de ellas se utilizaba solo como sustituto de tejidos dañados, la segunda se centraba en la reparación de estos tejidos, y la tercera, que es la que está actualmente en auge, pretende la reconstrucción natural de los tejidos [25, 26].

Entre las cerámicas de segunda generación destacan los fosfatos y los silicatos de calcio, ambos bioactivos y no producen toxicidad ni inflamación tras implantarse [27]. Una de las ventajas de los **fosfatos cálcicos** es que tienen una composición química y estructura similar a la fase inorgánica del hueso humano, por lo que tienen buena biocompatibilidad. Hasta ahora, los sistemas de fosfato cálcico más utilizados han sido, y son, la hidroxiapatita (HA), el beta-fosfato tricálcico (β -TCP) y los fosfatos cálcicos bifásicos (BCP). La hidroxiapatita se degrada muy lentamente, mientras que el β -TCP lo hace muy rápido. Es por eso por lo que varios

investigadores han centrado su atención en conseguir un BCP con el ratio HA/ β -TCP óptimo para controlar la tasa de degradación y al mismo tiempo controlar la liberación de los iones de calcio en los alrededores de las células óseas [28]. A pesar de su elevado uso en implantes, una desventaja de estos materiales es que son poco resistentes a la fractura, esto quiere decir que no pueden aplicarse en defectos de gran tamaño [29]. Por ello, uno de los retos actualmente es el de incrementar su resistencia.

Una de las estrategias se basa en mimetizar la estructura del hueso, es decir, construir biomateriales con una morfología similar a este, caracterizados por la micro y nano topografía. Zhao *et al.* [30] quisieron comprobar el efecto que tendría modificar la estructura superficial de la hidroxiapatita en la diferenciación de las células madre mesenquimales. Para ello, fabricaron varias muestras, una control (S0), una muestra con estructura nanométrica (S1), otra con estructura micrométrica (S2), y la última se trataba de un híbrido entre micro y nano hidroxiapatita (S3). Se observó que S3 activaba en mayor medida a las integrinas, lo cual inducía la vía de las BMP's y daba lugar a una mayor osteogénesis que el resto de las muestras. Los investigadores sugieren que la combinación de ambas estructuras permite que cada una de ellas, por separado, active de diferente manera las integrinas, pero al final tengan un efecto sinérgico, potenciando así la osteogénesis.

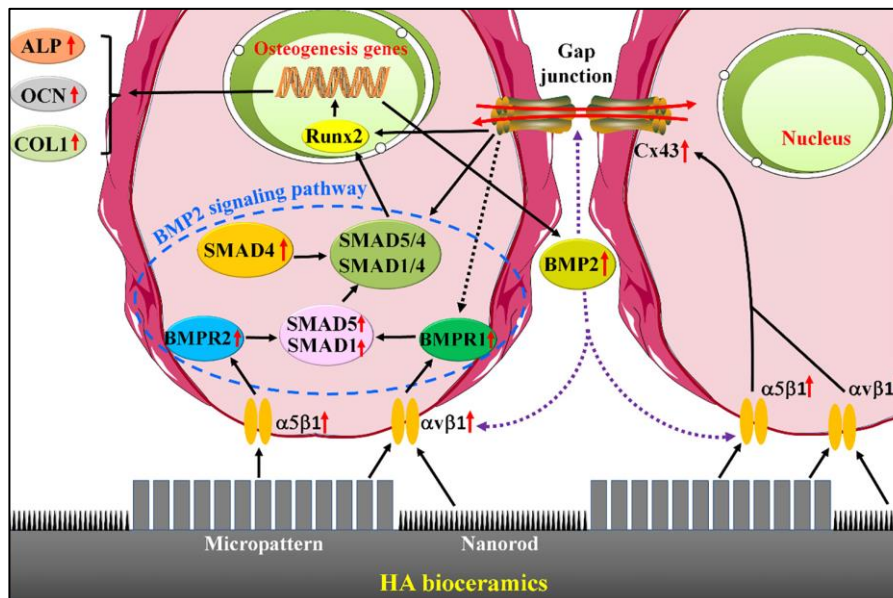


Figura 4. Resumen del posible mecanismo sinérgico de la micro/nano estructura en la diferenciación osteogénica

Estos scaffolds biomiméticos tienen la posibilidad de incorporar sustancias en su interior, ya sean fármacos o factores de crecimiento. Un equipo italiano desarrolló un cemento de fosfato cálcico, compuesto por α -TCP, HAp y $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, al cual le añadieron diferentes concentraciones de alendronato y pamidronato. La presencia de estos fármacos hacía que el α -TCP no se transformase en hidroxiapatita calcio-deficiente (CDHA), la responsable de que el cemento se haga más duro, lo que empeoraba las propiedades mecánicas. Por lo tanto, tenían que incorporar muy bajas concentraciones de sustancia activa [31]. Dos años más tarde, este mismo grupo vio la posibilidad de aumentar las concentraciones de alendronato añadiéndole gelatina al compuesto, la cual es un biopolímero natural que acelera la transformación del α -TCP en CDHA. Los resultados fueron positivos, se promovía la diferenciación de los osteoblastos mientras que la de los osteoclastos se veía inhibida [32].

Más tarde, Boanini *et al.* [33] realizaron un estudio *in vitro* en el que combinaron la incorporación de estroncio y zoledronato en unos scaffolds de HAp, obteniendo resultados satisfactorios. El zoledronato inhibía en mayor medida la osteoclastogénesis mientras que el estroncio tenía un mayor efecto en promover la diferenciación y proliferación de los osteoblastos. En esta misma línea, L. Forte *et al.* [34] desarrollaron un scaffold de fosfato octacálcico (OCP) al cual añadieron diferentes concentraciones de alendronato y zoledronato. Los fármacos, además de tener las propiedades terapéuticas propias de un bifosfonato, mejoraban la estabilidad de la cerámica impidiendo su hidrólisis a HAp. Se promovía la producción de OPG, osteocalcina y colágeno tipo I por parte de osteoblastos, la diferenciación de los monocitos en osteoclastos se inhibía, y también lo hacía la liberación de VEGF en presencia de altas concentraciones de bifosfonatos. Los datos sugieren el empleo de estos implantes en aquellos casos en los que la resorción ósea está anormalmente aumentada.

Otro tipo de cerámicas son los **silicatos cálcicos**, previamente mencionados, muy utilizados por sus buenas propiedades bioactivas y regenerativas. Además, tienen la capacidad de formar una capa de hidroxiapatita carbonatada en la superficie del biomaterial después de ser implantado [36]. Wang *et al.* [35] en su estudio combinaron el uso del sulfato cálcico hemihidratado con silicato de calcio y estroncio (Sr-CSi). La adición de Sr-CSi mejoró la bioactividad del cemento promoviendo la mineralización en fluidos corporales simulados. A pesar de que se observó una reducción en la velocidad de degradación, se vio que la adición de este compuesto mejoraba la viabilidad y proliferación de las células. Huang *et al.* [36] confirmaron estos resultados al fabricar un cemento de silicato cálcico al que incorporaron estroncio. Además, vieron que a medida que se aumentaba la concentración de estroncio aumentaba la tasa de degradación del cemento, liberando más cantidad de iones estroncio y silicio. Otro estudio con silicato dicálcico y estroncio afirmó un incremento en la proliferación de las células madre mesenquimales, así como una mayor actividad de la enzima fosfatasa alcalina (ALP). De estos estudios se deduce que el empleo de estos materiales es una buena alternativa para su aplicación en medicina ósea regenerativa [37].

El **sulfato de calcio** tiene la ventaja de que se degrada completamente por disolución en un periodo de tiempo relativamente corto. Tras implantarse, este se disuelve en iones de calcio y sulfato, los iones de calcio se juntan con los iones fosfato de los fluidos biológicos, generando una capa de apatita que promueve el crecimiento óseo en la zona dañada. La nueva capa formada es hidroxiapatita carbonatada, similar a la que tiene el hueso. Sin embargo, sus malas propiedades mecánicas le hacen imposible servir de andamio en defectos óseos grandes, ya que no podría sostener mucha carga. Varios estudios han llevado a afirmar que el sulfato de calcio tiene propiedades regenerativas. Uno de ellos es un grupo de investigadores que combinaron el uso de sulfato cálcico con hidroxiapatita e incorporaron zoledronato y rhBMP-2. La formación de tejido óseo nuevo aumentó, así como su mineralización. Demostró ser un buen material para la liberación coordinada de estas sustancias, y estas mostraron un efecto sinérgico [38]. Más tarde, otro grupo probó este mismo material (CaS/HAp) para la administración local de zoledronato, con o sin rhBMP-2. Para el estudio se usaron ratas osteoporóticas ovariectomizadas y se investigó la regeneración ósea en el cuello femoral de estas, lo cual fue muy positivo, tanto con rhBMP-2 como sin ellas [39]. Liu *et al.* [40] crearon defectos en el hueso de varias ratas y las trataron con estroncio recubierto por sulfato cálcico. La cerámica promovió la activación de genes con actividad osteogénica, así como la reparación de los daños en el hueso. De este estudio se concluye que aquellos scaffolds con un 5 o 10% de estroncio poseían mayor capacidad curativa.

Los **vidrios bioactivos** (BG) son un tipo de cerámicas caracterizadas por ser bioactivas y biocompatibles, al mismo tiempo que osteoconductoras. Esto quiere decir que, una vez implantados, se disuelven, y los iones disociados forman una capa de hidroxiapatita que se deposita sobre el hueso y atrae células que promueven la angiogénesis y la regeneración del tejido dañado. Sin embargo, tienen poca resistencia a la fractura. Por otro lado, están los **vidrios mesoporosos bioactivos** (MBG), que poseen mejores propiedades mecánicas que los tradicionales [41]. Laura Casarrubios *et al.* [42] realizaron un estudio *in vitro* con nanosferas de SiO₂-CaO mesoporosas y rellenas de ipriflavona para determinar su impacto en osteoblastos y osteoclastos. La ipriflavona es una isoflavona sintetizada a partir de una sustancia que se encuentra en la soja, y sirve para inhibir la resorción ósea, mantener la DMO y prevenir la osteoporosis. El resultado fue que en un co-cultivo de osteoblastos y osteoclastos, las NanoMBG-IPs inhibían la acción y reducían el número de osteoclastos sin afectar a la actividad osteoblástica. Además, presentaban buena respuesta inmunitaria sin inducir inflamación. Aún se tienen que realizar estudios *in vivo*, pero parece que estas nanosferas pueden ser un potencial sistema de liberación local de fármacos en pacientes con osteoporosis. Otro estudio realizado por N. Gómez-Cerezo *et al.* [43] pretendía evaluar los efectos de un scaffold mesoporoso de SiO₂-CaO-P₂O₅ (MBG) y policaprolactona (PCL). Tanto *in vitro* como *in vivo* este scaffold dio buenos resultados en cuanto a regeneración de tejidos, formación de hueso, vascularización y presencia de células óseas. Por lo tanto, se decidió incorporar zoledronato al andamio para comprobar su liberación local *in vivo* en una oveja osteoporótica. Los resultados obtenidos no fueron tan buenos, puesto que inducía la apoptosis de las células Saos 2, inhibía la formación de nuevo hueso y además presentó una elevada respuesta inflamatoria. Otros estudios se han centrado en utilizar las nanosferas de vidrio bioactivo previamente descritas como vector de iones activos terapéuticamente. Un ejemplo, es el estudio que han llevado a cabo F. Westhauser *et al.* [44], en el cual comparan MBGN (composición en mol%: 50 SiO₂, 40 CaO, 10 P₂O₅) y su derivado recubierto con manganeso 5Mn-MBGN (composición en mol%: 50 SiO₂, 35 CaO, 10 P₂O₅, 5 MnO). El resultado fue que el derivado presentaba peores propiedades de citotoxicidad, dejando al MBGN como el óptimo vector para iones activos. Como vemos, las nanoMBG están siendo muy usadas actualmente gracias a sus propiedades pro-angiogénicas y osteogénicas. Por ello, Zheng *et al.* [45] han hecho un estudio con estas nanopartículas impregnándolas con Cerio (Ce-MBGN) para conocer sus efectos. Los resultados han sido positivos, actúa como antioxidante, antiinflamatorio y posee mejoradas propiedades osteogénicas. Es un buen scaffold para usarse en defectos relacionado con el hueso y sobre todo en reparación y regeneración de tejidos.

6.2. Biopolímeros

Son macromoléculas compuestas por monómeros unidos covalentemente. Si se repite un único monómero a lo largo de la secuencia, se denominan homopolímeros; si, por el contrario, se trata de una cadena heterogénea constituida por dos o más monómeros diferentes, se denominan copolímeros.

Los polímeros naturales más conocidos son el quitosano, fibrina, derivados del ácido hialurónico, colágeno, entre otros. Tienen buena bioactividad, pero sus propiedades mecánicas son muy pobres y se desconoce su tasa de degradación. Por ello, se utilizan en mayor medida los polímeros sintéticos, los cuales tienen mejores propiedades que los naturales, sin embargo, no se utilizan solos, sino que se acompañan de biocerámicas u otros materiales para mejorar la resistencia a la fractura.

Entre los polímeros sintéticos están el ácido poliglicólico (PGA), que posee elevada cristalinidad, baja solubilidad y una elevada tasa de degradación que hace disminuir su fuerza

mecánica. El ácido poliláctico (PLA) presenta dos estereoisómeros, uno de ellos es el ácido poli-L-láctico (PLLA) y el otro es el ácido poli-D-láctico (PDLA). El PLLA es el más utilizado, es más fuerte, tiene buena biocompatibilidad, pero produce inflamación por su elevada cristalinidad. Tanto el PLA como el PGA se utilizan en forma de copolímeros, ya que puros causan reacciones adversas [29, 46, 47]. La policaprolactona (PCL) se utiliza ampliamente en implantes médicos de larga duración y como sistema de liberación local de fármacos debido a su cristalinidad y permeabilidad, respectivamente. Además, es bastante flexible, lo que le permite adaptarse al lugar en el que sea implantado. El polihidroxibutirato (PHB) se suele emplear como modelo de algunas de sus propiedades, pero tiene una elevada fragilidad [29].

En resumidas cuentas, los polímeros no son materiales osteoconductivos ni osteoinductivos, dos requisitos necesarios para producir los scaffolds. Por lo tanto, se tienen que usar combinaciones de polímeros y cerámicas u otros materiales de interés para que tengan la capacidad de regenerar tejidos [47].

En 2014, Gasparotto *et al.* [48] estudiaron la posibilidad de crear un scaffold a base de un sellante de fibrina extraído del veneno de serpiente. El material interactuaba bien con las células madre mesenquimales (MSC) de rata, y al ser un material derivado de un animal, no transmite las enfermedades infecciosas humanas. Años más tarde, este mismo material fue evaluado para ver sus efectos como scaffold biológico de MSC para reparar daños en el fémur de ratas osteoporóticas. A los 14 días se habían formado células óseas y las MSC se habían diferenciado, lo que sugiere que sirva como potencial scaffold para el tratamiento de fracturas osteoporóticas [49]. Además, un estudio *in vitro* realizado por Masako *et al.* [50] demostró que un sellante de fibrina, denominado TISSEEL, podía servir como un portador de factores de crecimiento para promover la creación de hueso nuevo mediante la liberación lenta y controlada de rhBMP-9.

Por otro lado, varios estudios muestran el uso del colágeno en implantes. En concreto, un equipo desarrolló un scaffold de colágeno mineralizado substituido con estroncio. Gracias a la estabilidad y flexibilidad de la estructura es posible albergar iones divalentes como el estroncio, permitiendo que este realice su función en el hueso dañado [51]. Zhang *et al.* [52] fabricaron unas membranas asimétricas de colágeno y quitosano que contenían nanopartículas de quitosano con aspirina en su interior. Se hizo el estudio con ratas y se vio que la aspirina se liberaba de manera controlada y que las membranas, además de tener buena biocompatibilidad, incrementaban la formación de tejido óseo, por lo que consiguieron los objetivos deseados. Con relación al quitosano, se sabe que tiene propiedades antibacterianas, lo cual es beneficioso, ya que a la hora de implantar los andamios cursamos con la apertura del tejido mediante una cirugía. En este sentido, un grupo de investigadores han desarrollado con éxito un scaffold de ácido poli-L-láctico que contiene nanopartículas de sílice recubiertas con quitosano y cargadas con dexametasona. Las nanopartículas se liberan de manera controlada, y mientras tanto, la dexametasona promueve la diferenciación de las células osteoblásticas y la osteogénesis. Se tienen que realizar estudios *in vivo*, pero parece ser un prometedor avance en ingeniería tisular [53].

El ácido hialurónico tiene un uso muy extendido a la hora de complementar otro tipo de materiales en los implantes, ya que incrementa la biodisponibilidad y biocompatibilidad de estos, al estar presente de manera natural en la matriz extracelular de los huesos. De este modo, Zhang *et al.* [54] fabricaron, mediante interacciones electrostáticas, un nanocompuesto de alendronato recubierto por ácido hialurónico (HA-Aln) y BMP-2. Los estudios *in vitro* demuestran que el compuesto promueve la diferenciación osteoblástica, así como un aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina, capacidad de mineralización y expresión de ciertos genes

osteoblasto-reguladores, mientras que tiene la capacidad de inhibir la diferenciación osteoclástica. Se deben hacer más estudios *in vitro* e *in vivo* para saber si son efectivos depositándolos sobre implantes de titanio o cementos.

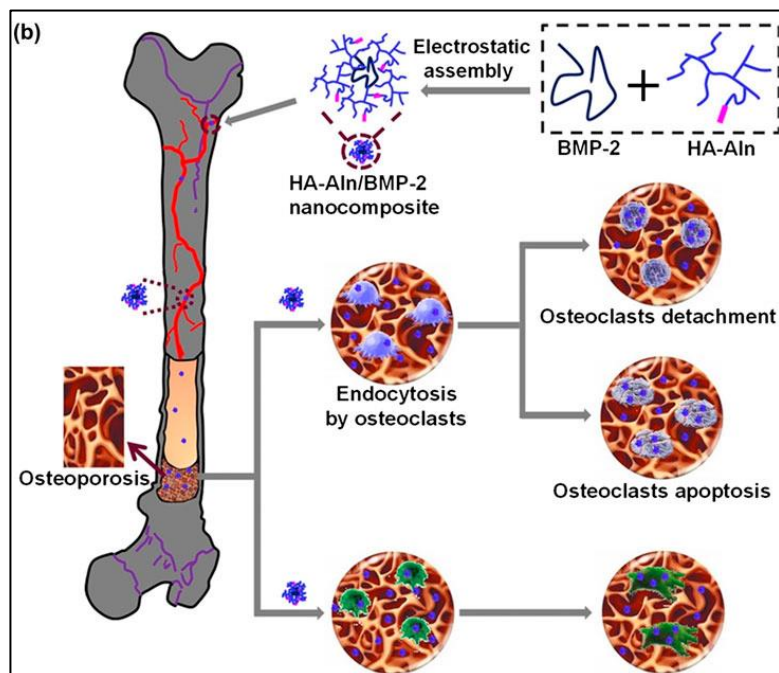


Figura 5. Esquema de la fabricación y el efecto del implante en las células óseas

Siguiendo por esta línea, Bahari Javan *et al.* [55] consiguieron desarrollar un sistema de liberación prolongada para la teriparatida. Este sistema consiste en un gel de ácido hialurónico/jeffamine con nanopartículas de una combinación de los polímeros PHBV/PLGA. Los análisis demuestran que la teriparatida mantiene su estabilidad y bioactividad, y que su perfil de liberación es de un 63% en un periodo de 50 días. Además, los estudios *in vivo* demuestran que el compuesto aumenta los niveles de calcio sérico después de la inyección. La combinación de polímeros biocompatibles, biodegradables, no tóxicos y no irritantes llevan a este estudio a estar un paso más cerca de su uso en estudios clínicos. Otro grupo de investigadores ha fabricado unos nanotubos de titanio para la co-liberación de raloxifeno y alendronato. El implante, además tenía varias capas de quitosano y ácido hialurónico. Las capas de quitosano previenen la rápida liberación del raloxifeno y mantiene su concentración estable después de 192h. Ha demostrado una clara diferenciación y proliferación de los osteoblastos, mayor mineralización y actividad de la enzima ALP, así como una reducción de la actividad de los osteoclastos. De este estudio se concluye que el sistema es un potencial tratamiento para pacientes osteoporóticos [56].

Como se ha descrito previamente, la policaprolactona (PCL) es un polímero sintético muy utilizado para la liberación controlada de fármacos. Por ello, Kim *et al.* [57] decidieron evaluar los efectos tanto *in vitro* como *in vivo* de un scaffold de PCL que contenía alendronato. Demostraron que el alendronato se liberaba de manera controlada y al mismo tiempo se producía la formación de hueso nuevo. Bose *et al.* [58] fueron un paso más allá, estudiando el poder que tenía la policaprolactona en la liberación de alendronato desde un implante de titanio. Este implante, al principio bioinerte, se recubrió con Mg-HAp para aumentar su bioactividad, se le añadió el fármaco y por último se recubrió con PCL. Los estudios *in vitro* muestran que la liberación inicial de alendronato fue de un 34% a un 26% (2% y 4% de PCL, respectivamente)

en un día, comparado con un 75% si el implante carecía de PCL. Se deduce que este método puede usarse en implantes dentales o de cadera para tratar y prevenir la osteoporosis.

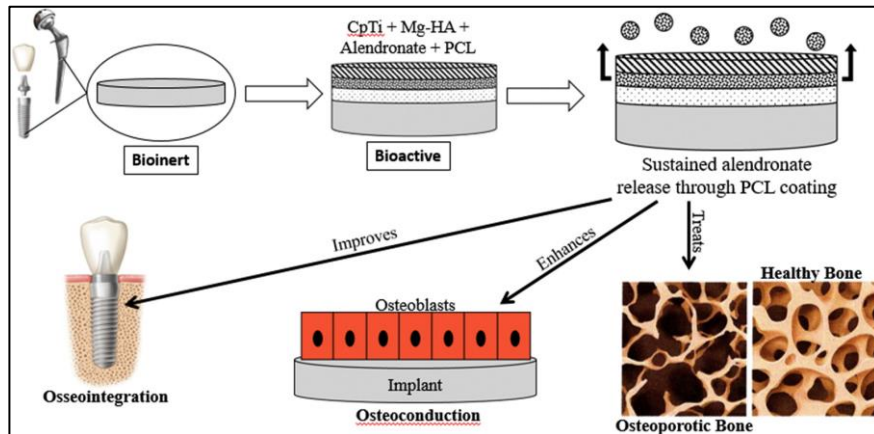


Figura 6. Esquema de la fabricación del implante y sus efectos en el tratamiento de la osteoporosis

6.3. Metales

Ti₆Al₄V es una de las aleaciones más utilizadas en ortopedia e implantología dental por sus buenas propiedades mecánicas, la biocompatibilidad y baja elasticidad, pero tiene los problemas de que a largo plazo se suelta del tejido en el que se implantó, además de que aumenta la corrosión con el paso del tiempo. Esto lleva a una segunda cirugía, con lo que le hace ser una técnica bastante invasiva. Por tanto, muchos investigadores han centrado su atención en mejorar las características de este tipo de implantes. Jia Lv *et al.* [59] fabricaron un implante de titanio mediante una técnica de fusión por haz de electrones (EBM). Por otra parte, añadieron dos factores de crecimiento, VEGF y BMP-2, a un pegamento de fibrina. Este conjunto se introdujo en el implante de titanio. Los resultados demostraron que el implante era biocompatible y liberaba gradualmente los factores de crecimiento. Se vio que tanto si se incorporaba uno como los dos factores se producían tanto angiogénesis como osteogénesis. Pero el efecto sinérgico de ambos factores solo se produjo en la angiogénesis. Este método de incorporar factores de crecimiento en un implante a través de un pegamento es muy prometedora para defectos de tamaño crítico. Otros investigadores, I. Izquierdo-Barba *et al.* [60] estudiaron el efecto que tenían unos scaffolds macroporosos de Ti₆Al₄V recubiertos por hidroxiapatita substituida con silicio y el VEGF integrado en este recubrimiento. Los estudios *in vitro* demuestran que el implante con el recubrimiento de SiHA estimula la proliferación y diferenciación de los preosteoblastos y que, por otro lado, el que tiene el recubrimiento de VEGF estimula la proliferación de las células endoteliales en la superficie del scaffold. Estudios *in vivo* de estos implantes por separado no muestran osteogénesis, mientras que si el VEGF se integra en la capa de SiHA se ve que ambos actúan sinérgicamente y dan lugar a la formación de nuevo tejido óseo y una angiogénesis incrementada.

6.4. Nanopartículas

La nanomedicina está siendo un campo muy investigado actualmente para el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas la osteoporosis. La nanomedicina se basa en la producción de nanopartículas que poseen unas características interesantes, una de ellas es que tienen mayor superficie específica. Los tamaños están comprendidos entre 1 y 100nm [25, 61]. Las nanopartículas magnéticas ofrecen la posibilidad de ir a la zona que deseamos tratar. Esto se consigue mediante la creación de un campo magnético que atrae las nanopartículas, las mantiene en dicho lugar hasta que se ha realizado su función y puedan ser extraídas. En el tratamiento de la osteoporosis, es muy interesante llenar estas partículas de bifosfonatos, que

tienen una elevada afinidad por el fosfato cálcico del hueso, por lo que ayudarían a la fijación de las nanopartículas a este. También sería interesante rellenarlas de inhibidores de osteoclastos y promotores de osteoblastos, para prevenir la enfermedad. Además, otro punto que se está estudiando mucho es el de poder introducir dos fármacos o factores de crecimiento diferentes, ya que hasta ahora solo se ha introducido uno. El problema que tiene meter dos fármacos o GF es la falta de efecto sinérgico entre ambos y la liberación controlada de cada uno, ya que si se liberan muy rápido pueden dar lugar a problemas de toxicidad. La introducción de nanopartículas en scaffolds puede ser una solución para la liberación múltiple de fármacos [25].

Un estudio realizado por P. Mora-Raimundo *et al.* [62, 63] demuestra que silenciando el gen SOST, encargado de inhibir una ruta para la diferenciación de los osteoblastos, se puede conseguir un tratamiento efectivo para la osteoporosis. Silencian el gen mediante un siRNA específico. Estos tienen una vida media corta y poca capacidad de transfección, por lo que los introducen en unas nanopartículas mesoporosas de sílice, a las cuales les inyectan osteostatina en los poros. Por último, las nanopartículas se recubren de una solución de polietilenamina, que ayuda a la liberación de los productos terapéuticos. Los resultados tanto *in vitro* como *in vivo* fueron buenos, pudiendo decir que este sistema fue capaz de transportar, almacenar y liberar de manera controlada las biomoléculas. La combinación de estas moléculas reveló efectos sinérgicos, promoviendo la diferenciación osteogénica en ratas overiectomizadas.

Kui Chen *et al.* [64] se basaron en el diseño de nanopartículas de fullereno (fNPs), un derivado de fullerenos, para tratar la osteoporosis. Se vio que las fNPs inhibían la actividad de los osteoclastos, y así, la resorción del hueso, y no tenían prácticamente efecto en los osteoblastos. Además, estas nanopartículas tenían buena biocompatibilidad y eran seguras, por lo que se puede decir que pueden ser un potencial tratamiento para la enfermedad.

En 2014, Skylar Tibbits, en el Instituto de Tecnología de Massachusetts, demostró que la tecnología de impresión en 4D podía dar lugar a materiales que, o bien tenían la capacidad de cambiar de una forma a otra en función de diferentes estímulos, o bien se transformaban a lo largo del tiempo. La tecnología de impresión en 4D será la nueva generación de materiales que se empleen para tratar enfermedades que cursen con defectos en el hueso, por ejemplo. Esta tecnología integra el concepto del tiempo a los materiales obtenidos mediante impresión 3D. Estos materiales tienen la capacidad de cambiar de forma en función de los estímulos que le lleguen, por ejemplo, un cambio de temperatura, o una alta concentración de alguna molécula; los estímulos también pueden ser externos. Una de las muchas aplicaciones se basa en la impresión de scaffolds biomiméticos que puedan inducir la formación de hueso nuevo y promover la osteogénesis de células madre favoreciendo la regeneración del tejido dañado [65].

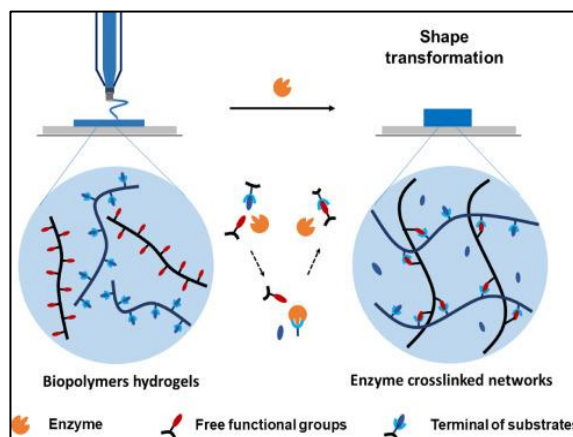


Figura 7. Proceso de entrecruzamiento enzimático

Las biocerámicas son unos materiales muy útiles debido a su semejanza con la composición del hueso, además, en mayor o menor medida son biodegradables, lo que les hace ser más ventajosas frente a otros materiales puesto que la técnica es menos invasiva y también es menor el tiempo de convalecencia. Uno de los problemas es que sus propiedades mecánicas son pobres, esto significa que no pueden emplearse en defectos de tamaño crítico ya que no soportarían la carga mecánica aplicada. Los biopolímeros a pesar de tener buena bioactividad tienen mayores problemas respecto a la carga mecánica soportable, la capacidad de reclutar osteoblastos para su diferenciación, y crecimiento y vascularización de tejidos. Por otro lado, los metales y sus aleaciones poseen buenas propiedades mecánicas, pero al no ser biodegradables necesitan de una segunda cirugía para retirar el implante, además de que algunos de ellos pueden llegar a ser corrosivos.

Es por esto por lo que el uso combinado de estos materiales mejora en gran medida las propiedades de unos y de otros. Además, el empleo de factores de crecimiento (BMP's o VEGF) en el recubrimiento de los implantes resulta muy beneficioso, ya que ayudan a que el implante se integre bien en el tejido dañado, inducen la formación ósea y promueven la vascularización del tejido óseo nuevo. La utilización de un polímero natural como el quitosano, con propiedades antibacterianas, puede resultar ventajoso en el caso de que existiese alguna infección local postoperatoria. También se ha visto que la policaprolactona es el material de interés cuando lo que se quiere es prolongar la liberación de un fármaco. Todo esto hace posible que el fármaco tenga el perfil de liberación que se desee, de manera que no se libere todo al principio, ni que tarde mucho, o que directamente no pueda liberarse. Además, el uso de estos materiales y factores de crecimiento favorece la regeneración ósea, lo cual potencia el efecto que tiene el fármaco por sí solo.

Uno de los campos más innovadores es el de la nanomedicina, ya que partículas tan pequeñas tienen mayor superficie específica, cosa que incrementa la degradación de la superficie de la partícula y la liberación del fármaco por parte de esta. Otro es el de la tecnología 4D, que se ha visto que se puede utilizar el tiempo y controlar el perfil de liberación del fármaco. Son dos técnicas potencialmente aplicables en un futuro muy próximo, pero aún requieren de muchos estudios, tanto *in vitro* como *in vivo*.

7. Conclusiones

- La elección de materiales biodegradables para la construcción de estos implantes resulta muy beneficiosa, puesto que al ir degradándose el implante se forma tejido óseo nuevo por encima de éste, y, además, se evita una segunda cirugía para retirar el implante, lo que disminuye en gran medida el tiempo de convalecencia.
- La composición del implante es un factor que se debe tener muy en cuenta, ya que influye en el perfil de liberación del fármaco. Sabiendo esto, podemos elegir unos materiales u otros, siendo, por ejemplo, la policaprolactona un polímero ideal para prolongar la liberación del fármaco, o, por el contrario, el PGA, un polímero con una alta tasa de degradación, por lo que la liberación del fármaco es rápida.
- En el tratamiento de la osteoporosis, además de prevenir fracturas y reducir la resorción ósea, lo que se busca es la posibilidad de formar nuevo tejido óseo. El empleo de factores de crecimiento asociados a otros materiales promueve la formación de hueso nuevo, por lo que resulta interesante incluirlos en los implantes.
- La nanomedicina está ganando terreno en el campo de los sistemas de liberación controlada de fármacos. El tamaño de las nanopartículas es muy similar al tamaño de la estructura del hueso, lo que le hace mimetizarse bien en el ambiente, y así resulta fácil integrarlas en los defectos óseos y que realicen su acción terapéutica a nivel local.

8. Bibliografía

1. Boskey, A. L. (2013). Bone composition: relationship to bone fragility and antiosteoporotic drug effects. *BoneKEy reports*, 2.
2. Raffino, M. E. (2019). *Huesos*. Recuperado 10 de mayo de 2020, de Concepto.de. <https://concepto.de/huesos/>.
3. Lorenzo Sellares, V. (s. f.). Patología óseo metabólica: Introducción al conocimiento e interpretación de las lesiones histológicas óseas. Recuperado 10 de mayo de 2020, de Sociedad Española de Nefrología https://www.senefro.org/modules.php?name=atlas&d_op=seeitem&iditem=15&idsection=3&idsubsection=.
4. Morales Piga, A. (2002). ¿Para qué sirve y cómo fracasa el remodelado óseo? *Revista Española de Reumatología*, 29(9), 449-454.
5. Mandalunis, P. (2006). Remodelación ósea. *Actualizaciones en Osteología*, 2(1), 16-18.
6. Esparza-Guerrero, Y., Nava-Valdivia, C. A., Saldaña-Cruz, A. M., Vásquez-Jiménez, J. C., Farías-Cuevas, K. P., Enríquez-Luna, A., ... & Corona-Sanchez, E. G. (2016). El sistema RANK/RANKL/OPG y sus implicaciones clínicas en la osteoporosis. *El Residente*, 11(3), 99-104.
7. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. (2018). *Osteoporosis*. Recuperado 27 de marzo de 2020 de Portalfarma <https://www.portalfarma.com/Profesionales/comunicacionesprofesionales/informes-tecnico-profesionales/Documents/Informe-Osteoporosis-PF1218.pdf>
8. Muñoz, M., Varsavsky, M., & Avilés, M. (2010). Osteoporosis. Definición. Epidemiología. *Revista de osteoporosis y metabolismo mineral*, 2(3), 5-7.
9. Johnell O, Hertzman P. (2006). What evidence is there for the prevention and screening of osteoporosis? Recuperado 28 de marzo de 2020 de World Health Organization WHO Regional Office for Europe http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0009/74475/E88668.pdf?ua=1.
10. Moro-Álvarez, M. J., & Díaz-Curiel, M. (2010). Diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis en mayores de 75 años. *Revista Española de Geriatría y Gerontología*, 45(3), 141-149.
11. Amigues, I. (2019). Osteoporosis. Recuperado 1 de abril de 2020, de American College of Rheumatology <https://www.rheumatology.org/I-Am-A/Patient-Caregiver/Diseases-Conditions/Osteoporosis>
12. AEMPS CIMA. (s. f.). FICHA TECNICA PROLIA 60 mg SOLUCION INYECTABLE EN JERINGA PRECARGADA. Recuperado 7 de abril de 2020, de https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/10618003/FT_10618003.html
13. AEMPS CIMA. (2013). FICHA TECNICA CALCITONINA ALMIRALL 100 UI/ml SOLUCION INYECTABLE. Recuperado 7 de abril de 2020, de https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/56996/FT_56996.pdf
14. AEMPS CIMA. (s. f.). FICHA TECNICA MOVYMIA 20 MICROGRAMOS/80 MICROLITROS SOLUCIÓN INYECTABLE. Recuperado 7 de abril de 2020, de https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1161161003/FT_1161161003.html
15. AEMPS CIMA. (2015). FICHA TECNICA RANELATO DE ESTRONCIO TECNIGEN 2G GRANULADOPARA SUSPENSION ORAL EFG. Recuperado 7 de abril de 2020, de https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/83344/FT_83344.pdf
16. VADEMECUM. (2019). Denosumab. Recuperado 7 de abril de 2020, de <https://www.vademecum.es/principios-activos-denosumab-m05bx04>
17. AEMPS CIMA. (2011). FICHA TECNICA RALOXIFENO STADA 60 MG COMPRIMIDOS RECUBIERTOS CON PELICULA EFG. Recuperado 7 de abril de 2020, de https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/75432/FT_75432.pdf

18. MedlinePlus. (2018). Medicamentos para la osteoporosis. Recuperado 7 de abril de 2020, de <https://medlineplus.gov/spanish/ency/patientinstructions/000502.htm>
19. Åkesson, K. (2003). New approaches to pharmacological treatment of osteoporosis. *Bulletin of the World Health Organization*, 81, 657-663.
20. Moro-Álvarez, M. J., & Díaz-Curiel, M. (2010). Tratamiento de la osteoporosis con bifosfonatos. Diferencias por mecanismo de acción. Datos de eficacia y seguridad a largo plazo. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 10(60), 4135-4143.
21. EMA. (2020). Evenity. Recuperado 8 de abril de 2020, de <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/evenity>
22. US Food and Drug Administration. (2019). FDA approves new treatment for osteoporosis in postmenopausal women at high risk of fracture.
23. Gupta, A., Kukkar, N., Sharif, K., Main, B. J., Albers, C. E., & El-Amin III, S. F. (2015). Bone graft substitutes for spine fusion: A brief review. *World journal of orthopedics*, 6(6), 449.
24. Qayoom, I., Raina, D. B., Širka, A., Tarasevičius, Š., Tägil, M., Kumar, A., & Lidgren, L. (2018). Anabolic and antiresorptive actions of locally delivered bisphosphonates for bone repair: A review. *Bone & joint research*, 7(10), 548-560.
25. Regí, M. V. (2011). Biocerámicas: evolución y aplicaciones. In *Anales de Química* (Vol. 107, No. 1).
26. Manzano, M., & Vallet-Regí, M. A. R. I. A. (2012). Revisiting bioceramics: bone regenerative and local drug delivery systems. *Progress in Solid State Chemistry*, 40(3), 17-30.
27. Arcos, D., & Vallet-Regí, M. (2013). Bioceramics for drug delivery. *Acta Materialia*, 61(3), 890-911.
28. Bouler, J. M., Pilet, P., Gauthier, O., & Verron, E. (2017). Biphasic calcium phosphate ceramics for bone reconstruction: A review of biological response. *Acta biomaterialia*, 53, 1-12.
29. Prakasam, M., Locs, J., Salma-Ancane, K., Loca, D., Largeteau, A., & Berzina-Cimdina, L. (2017). Biodegradable materials and metallic implants—a review. *Journal of functional biomaterials*, 8(4), 44.
30. Zhao, C., Wang, X., Gao, L., Jing, L., Zhou, Q., & Chang, J. (2018). The role of the micro-pattern and nano-topography of hydroxyapatite bioceramics on stimulating osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Acta biomaterialia*, 73, 509-521.
31. Panzavolta, S., Torricelli, P., Bracci, B., Fini, M., & Bigi, A. (2009). Alendronate and Pamidronate calcium phosphate bone cements: setting properties and in vitro response of osteoblast and osteoclast cells. *Journal of inorganic biochemistry*, 103(1), 101-106.
32. Panzavolta, S., Torricelli, P., Bracci, B., Fini, M., & Bigi, A. (2010). Functionalization of biomimetic calcium phosphate bone cements with alendronate. *Journal of inorganic biochemistry*, 104(10), 1099-1106.
33. Boanini, E., Torricelli, P., Gazzano, M., Della Bella, E., Fini, M., & Bigi, A. (2014). Combined effect of strontium and zoledronate on hydroxyapatite structure and bone cell responses. *Biomaterials*, 35(21), 5619-5626.
34. Forte, L., Torricelli, P., Boanini, E., Gazzano, M., Fini, M., & Bigi, A. (2017). Antiresorptive and anti-angiogenic octacalcium phosphate functionalized with bisphosphonates: an in vitro tri-culture study. *Acta biomaterialia*, 54, 419-428.
35. Wang, J., Zhang, L., Sun, X., Chen, X., Xie, K., Lin, M., ... & Gou, Z. (2014). Preparation and in vitro evaluation of strontium-doped calcium silicate/gypsum bioactive bone cement. *Biomedical Materials*, 9(4), 045002.
36. Huang, T. H., Kao, C. T., Shen, Y. F., Lin, Y. T., Liu, Y. T., Yen, S. Y., & Ho, C. C. (2019). Substitutions of strontium in bioactive calcium silicate bone cements stimulate osteogenic

- differentiation in human mesenchymal stem cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 30(6), 68.
37. Liu, W., Huan, Z., Xing, M., Tian, T., Xia, W., Wu, C., ... & Chang, J. (2019). Strontium-Substituted Dicalcium Silicate Bone Cements with Enhanced Osteogenesis Potential for Orthopaedic Applications. *Materials*, 12(14), 2276.
 38. Raina, D. B., Isaksson, H., Hettwer, W., Kumar, A., Lidgren, L., & Tägil, M. (2016). A biphasic calcium sulphate/hydroxyapatite carrier containing bone morphogenic protein-2 and zoledronic acid generates bone. *Scientific reports*, 6(1), 1-13.
 39. Širka, A., Raina, D. B., Isaksson, H., Tanner, K. E., Smailys, A., Kumar, A., ... & Lidgren, L. (2018). Calcium sulphate/hydroxyapatite carrier for bone formation in the femoral neck of osteoporotic rats. *Tissue Engineering Part A*, 24(23-24), 1753-1764.
 40. Liu, Z., Yu, Z., Chang, H., Wang, Y., Xiang, H., Zhang, X., & Yu, B. (2019). Strontium-containing α -calcium sulfate hemihydrate promotes bone repair via the TGF- β /Smad signaling pathway. *Molecular medicine reports*, 20(4), 3555-3564.
 41. Kaur, G., Kumar, V., Bairo, F., Mauro, J. C., Pickrell, G., Evans, I., & Bretcanu, O. (2019). Mechanical properties of bioactive glasses, ceramics, glass-ceramics and composites: State-of-the-art review and future challenges. *Materials Science and Engineering: C*, 109895.
 42. Casarrubios, L., Gómez-Cerezo, N., Feito, M. J., Vallet-Regí, M., Arcos, D., & Portolés, M. T. (2018). Incorporation and effects of mesoporous SiO₂-CaO nanospheres loaded with ipriflavone on osteoblast/osteoclast cocultures. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 133, 258-268.
 43. Gómez-Cerezo, N., Casarrubios, L., Saiz-Pardo, M., Ortega, L., De Pablo, D., Díaz-Güemes, I., ... & Arcos, D. (2019). Mesoporous bioactive glass/ ϵ -polycaprolactone scaffolds promote bone regeneration in osteoporotic sheep. *Acta biomaterialia*, 90, 393-402.
 44. Westhauser, F., Wilkesmann, S., Nawaz, Q., Schmitz, S. I., Moghaddam, A., & Boccaccini, A. R. (2020). Osteogenic properties of manganese-doped mesoporous bioactive glass nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*.
 45. Zheng, K., Torre, E., Bari, A., Taccardi, N., Cassinelli, C., Morra, M., ... & Boccaccini, A. R. (2020). Antioxidant mesoporous Ce-doped bioactive glass nanoparticles with anti-inflammatory and pro-osteogenic activities. *Materials Today Bio*, 100041.
 46. López, J. D. S., Calvo, M. V., & Martín, J. C. (2015). Sistemas biodegradables de fijación y reconstrucción craneofacial. *Panorama Actual del Medicamento*, 39(381), 237-240.
 47. Aslankoochi, N., Mondal, D., Rizkalla, A. S., & Mequanint, K. (2019). Bone Repair and Regenerative Biomaterials: Towards Recapitulating the Microenvironment. *Polymers*, 11(9), 1437.
 48. Gasparotto, V. P., Landim-Alvarenga, F. C., Oliveira, A. L., Simões, G. F., Lima-Neto, J. F., Barraviera, B., & Ferreira, R. S. (2014). A new fibrin sealant as a three-dimensional scaffold candidate for mesenchymal stem cells. *Stem cell research & therapy*, 5(3), 78.
 49. Orsi, P. R., Landim-Alvarenga, F. C., Justulin, L. A., Kaneno, R., de Assis Golim, M., Dos Santos, D. C., ... & Ferreira, R. S. (2017). A unique heterologous fibrin sealant (HFS) as a candidate biological scaffold for mesenchymal stem cells in osteoporotic rats. *Stem cell research & therapy*, 8(1), 205.
 50. Fujioka-Kobayashi, M., Mottini, M., Kobayashi, E., Zhang, Y., Schaller, B., & Miron, R. J. (2017). An in vitro study of fibrin sealant as a carrier system for recombinant human bone morphogenetic protein (rhBMP)-9 for bone tissue engineering. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 45(1), 27-32.
 51. Quade, M., Schumacher, M., Bernhardt, A., Lode, A., Kampschulte, M., Voß, A., ... & Gelinsky, M. (2018). Strontium-modification of porous scaffolds from mineralized collagen for potential use in bone defect therapy. *Materials Science and Engineering: C*, 84, 159-167.

52. Zhang, J., Ma, S., Liu, Z., Geng, H., Lu, X., Zhang, X., ... & Gao, P. (2017). Guided bone regeneration with asymmetric collagen-chitosan membranes containing aspirin-loaded chitosan nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 12, 8855.
53. Porgham Daryasari, M., Dusti Telgerd, M., Hossein Karami, M., Zandi-Karimi, A., Akbarijavar, H., Khoobi, M., ... & SadatMahdavi, F. (2019). Poly-l-lactic acid scaffold incorporated chitosan-coated mesoporous silica nanoparticles as pH-sensitive composite for enhanced osteogenic differentiation of human adipose tissue stem cells by dexamethasone delivery. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47(1), 4020-4029.
54. Zhang, Y., Hu, Y., Luo, Z., Shen, X., Mu, C., & Cai, K. (2015). Simultaneous delivery of BMP-2 factor and anti-osteoporotic drugs using hyaluronan-assembled nanocomposite for synergistic regulation on the behaviors of osteoblasts and osteoclasts in vitro. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 26(5), 290-310.
55. Javan, N. B., Montazeri, H., Shirmard, L. R., Omid, N. J., Barbari, G. R., Amini, M., ... & Dorkoosh, F. A. (2017). Preparation, characterization and in vivo evaluation of a combination delivery system based on hyaluronic acid/jeffamine hydrogel loaded with PHBV/PLGA blend nanoparticles for prolonged delivery of Teriparatide. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101, 167-181.
56. Mu, C., Hu, Y., Huang, L., Shen, X., Li, M., Li, L., ... & Cai, K. (2018). Sustained raloxifene release from hyaluronan-alendronate-functionalized titanium nanotube arrays capable of enhancing osseointegration in osteoporotic rabbits. *Materials Science and Engineering: C*, 82, 345-353.
57. Kim, S. E., Yun, Y. P., Shim, K. S., Kim, H. J., Park, K., & Song, H. R. (2016). 3D printed alendronate-releasing poly (caprolactone) porous scaffolds enhance osteogenic differentiation and bone formation in rat tibial defects. *Biomedical Materials*, 11(5), 055005.
58. Bose, S., Vu, A. A., Emshadi, K., & Bandyopadhyay, A. (2018). Effects of polycaprolactone on alendronate drug release from Mg-doped hydroxyapatite coating on titanium. *Materials Science and Engineering: C*, 88, 166-171.
59. Lv, J., Xiu, P., Tan, J., Jia, Z., Cai, H., & Liu, Z. (2015). Enhanced angiogenesis and osteogenesis in critical bone defects by the controlled release of BMP-2 and VEGF: implantation of electron beam melting-fabricated porous Ti6Al4V scaffolds incorporating growth factor-doped fibrin glue. *Biomedical Materials*, 10(3), 035013.
60. Izquierdo-Barba, I., Santos-Ruiz, L., Becerra, J., Feito, M. J., Fernández-Villa, D., Serrano, M. C., ... & Monopoli, D. (2019). Synergistic effect of Si-hydroxyapatite coating and VEGF adsorption on Ti6Al4V-ELI scaffolds for bone regeneration in an osteoporotic bone environment. *Acta biomaterialia*, 83, 456-466.
61. Roohani-Esfahani, S. I., & Zreiqat, H. (2017). Nanoparticles: a promising new therapeutic platform for bone regeneration?.
62. Mora-Raimundo, P., Lozano, D., Manzano, M., & Vallet-Regí, M. (2019). Nanoparticles to Knockdown osteoporosis-related gene and promote osteogenic marker expression for osteoporosis treatment. *ACS nano*, 13(5), 5451-5464.
63. Gisbert-Garzarán, M., Manzano, M., & Vallet-Regí, M. (2020). Mesoporous Silica Nanoparticles for the Treatment of Complex Bone Diseases: Bone Cancer, Bone Infection and Osteoporosis. *Pharmaceutics*, 12(1), 83.
64. Chen, K., Geng, H., Liang, W., Liang, H., Wang, Y., Kong, J., ... & Chang, Y. N. (2020). Modulated podosome patterning in osteoclasts by fullereneol nanoparticles disturbs the bone resorption for osteoporosis treatment. *Nanoscale*, 12(17), 9359-9365.
65. Wan, Z., Zhang, P., Liu, Y., Lv, L., & Zhou, Y. (2020). Four-dimensional bioprinting: Current developments and applications in bone tissue engineering. *Acta biomaterialia*, 101, 26-42.