Vidrios mesoporosos bioactivos: implantes y sistemas de liberación de fármacos al servicio de las terapias regenerativas óseas

Daniel Arcos Navarrete

Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Plaza Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid. España. Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN). Madrid. España.
Trabajo premiado con el Premio Abelló del Concurso Científico 2011 de la Real Academia Nacional de Farmacia.
e-mail: arcosd@farm.ucm.es

RESUMEN

El desarrollo de biocerámicas de tercera generación, diseñadas para la regeneración del tejido óseo, ha experimentado en los últimos diez años un importante avance con la irrupción de una nueva generación de materiales: los vidrios mesoporosos bioactivos. En este artículo se revisan y comentan críticamente sus métodos de preparación, sus aplicaciones como sistemas de liberación controlada de fármacos y el desarrollo de andamios para regeneración in situ del tejido óseo.

Palabras clave: Implantes óseos; Regeneración tisular; Liberación de fármacos; Andamios.

ABSTRACT

Mesoporous bioactive glasses: implants and drug delivery systems at the service of bone regenerative therapies

In the last decade, the development of third generation bioceramics designed for bone tissue regeneration, has undergone an outstanding enhancement with the appearance of a new generation of materials: mesoporous bioactive glasses. In this article, the preparation methods, drug delivery applications and the development of scaffolds for in situ bone regeneration are critically reviewed and commented.

Keywords: Bone implants; Tissue regeneration; Drug delivery; Scaffolds.

1. INTRODUCCIÓN

Las mejoras producidas en materia de salud pública en los últimos años han traído como consecuencia que, en la actualidad, tengamos un difícil reto ante la sociedad. El incremento en la esperanza de vida nos ha situado en el escenario de una población cada vez más envejecida, enfrentándonos al reto de aportar soluciones a decenas de millones de personas, con edades comprendidas entre 60 y 100 años, que desean una buena calidad de vida. Conseguirlo no es sencillo, teniendo en cuenta que a partir de los 30 años los tejidos inician un progresivo camino de deterioro hasta la muerte del individuo.

En el caso concreto de las patologías degenerativas del tejido óseo, el reto es si cabe aún mayor. El conjunto de desordenes músculo-esqueléticos debidos a fracturas (especialmente las de origen osteoporótico) o extirpación de tumores, traen como consecuencia que más de 2,2 millones de personas al año necesiten de implantes protésicos, para recuperar la estructura y función del hueso afectado (1). La sustitución de tejido óseo envejecido, enfermo o dañado se ha convertido en una actividad casi rutinaria como consecuencia del desarrollo y mejora de las técnicas quirúrgicas, de los biomateriales y de las estrategias de rehabilitación. Pero no es menos cierto que las limitaciones en el tiempo de vida útil de las prótesis continúa siendo un problema, cuya gravedad se incrementa en la medida que aumenta la esperanza de vida de los pacientes. Se estima que la tasa de fallo de las prótesis oscila entre el 15 el 50%, para aquellas con periodos de implantación transcurridos entre los 15 y los 30 años (2).

Esta situación ha impulsado un cambio de mentalidad en la comunidad científica sobre cómo afrontar la problemática de las enfermedades del tejido óseo. Las mejoras introducidas en los materiales diseñados para sustituir el hueso dañado no han conseguido solucionar el problema de la limitación del tiempo de vida útil. Es por ello por lo que, de un tiempo a esta parte, los esfuerzos se dirigen hacia materiales cuya actividad se enmarque en el terreno de las terapias regenerativas, en lugar de buscar soluciones de reemplazo del tejido natural por materiales artificiales permanentes (3). Se trata de desarrollar biomateriales que estimulen la respuesta osteogénica del organismo, iniciando y potenciando los mecanismos de autoreparación ósea. Este cambio de concepto se plasma en el desarrollo de materiales denominados biomateriales de 3ª generación, que son diseñados, sintetizados y procesados para estimular la regeneración del tejido óseo (4). Es en este marco, en el que se encuadran los vidrios mesoporosos bioactivos (VMB), objeto de estudio en este artículo de revisión.

Desde el descubrimiento por parte del Prof. L. L. Hench de la capacidad de ciertos vidrios basados en SiO_2 para unirse a los tejidos duros a través de un enlace mecánicamente fuerte (5), el desarrollo y aplicación clínica de los vidrios

bioactivos no ha dejado de crecer en los últimos 40 años. Compuestos como Bioglass 45S5, comercializado como diferentes productos sanitarios (Novamin Tech., Perioglass™, Novabone™, etc.) se emplean en la actualidad en cirugía ortopédica y periodontal, así como agentes regeneradores de dentina incluidos en pastas dentífricas. En 1991, la incorporación de la química sol-gel al terreno de las biocerámicas (6) dio lugar a una nueva generación de vidrios bioactivos, los cuales presentaban un enorme potencial para desarrollar mejores implantes con capacidades osteogénicas. Este hecho se basaba en las mejores propiedades de superficie y porosidad que lleva implícito el proceso sol-gel, respecto de la técnica de fusión y enfriamiento rápido con la que se preparan los vidrios convencionales. Desde entonces, los avances en esta línea de investigación han sido numerosos y de importante calado científico, como se recoge en numerosos trabajos de revisión publicados desde entones (7-11). Sin embargo, veinte años después la incorporación a la práctica clínica de estos vidrios no se ha producido, lo que de alguna manera puede explicarse porque su valor añadido no compensa el alto coste que implica incorporar el producto al mercado.

Muy recientemente, se ha desarrollado una nueva generación de vidrios mesoporosos bioactivos (VMB), que presentan características texturales y bioactivas no observadas en las generaciones anteriores. Estos materiales surgen gracias a la incorporación de la química supramolecular a los procesos sol-gel, dando como resultado materiales porosos altamente ordenados y con magnitudes de superficie y porosidad hasta cinco veces superiores a las obtenidas por el método sol-gel convencional (Figura 1).

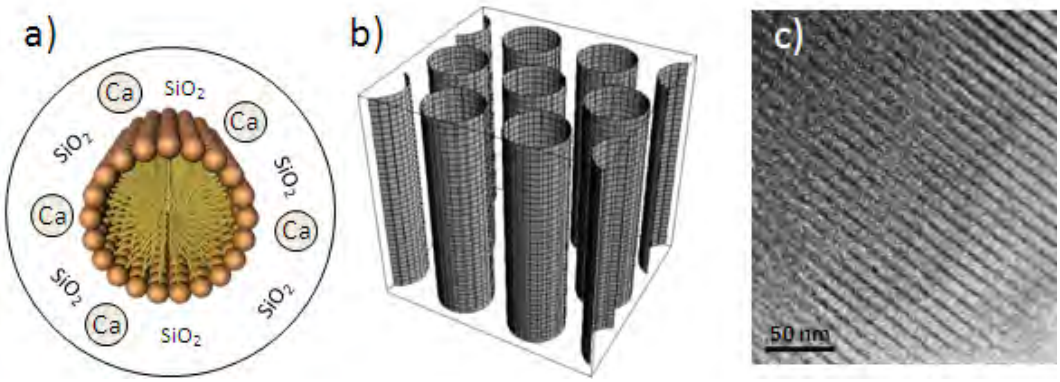

Figura 1.- (a) Representación esquemática, (b) reconstrucción estructural y (c) imagen de microscopia electrónica de transmisión de un VMB.

Como consecuencia de ello, nos encontramos ante materiales que presentan la mayor cinética de bioactividad *in vitro* observada hasta el momento. Sin embargo, el verdadero alcance clínico de estos materiales es aún desconocido, puesto que su estructura mesoporosa ordenada permite la incorporación de agentes osteogénicos, inhibidores osteoclásticos, etc. que dotan al sistema de un enorme potencial en el tratamiento de procesos degenerativos del tejido óseo.

En el presente artículo, se abordan los principios que rigen la preparación de estos materiales, así como los diferentes sistemas químicos y estructuras desarrolladas hasta el momento. Así mismo, los avances en la funcionalización de sus superficies y la incorporación de agentes terapéuticos para su liberación local también se detallan y discuten. Finalmente, se hace especial énfasis en la preparación de andamios tridimensionales con VMBs mediante técnicas de prototipado rápido. La preparación de implantes basados en estos materiales está llamada a jugar un papel fundamental en la nuevas técnicas de ingeniería tisular y terapias regenerativas del hueso.

2. MATERIALES MESOPOROSOS EN EL ÁMBITO BIOMÉDICO

En el año 2001, el grupo de investigación de la profesora Vallet-Regí (12) tuvo la idea de proponer el material mesoporoso MCM-41 para su aplicación en el ámbito biomédico, concretamente como sistema de liberación controlada de fármacos. MCM-41 forma parte de la familia de materiales M41S, que son el resultado de incorporar un agente director de estructura (en este caso bromuro de cetiltrimetilamonio) durante la síntesis vía sol-gel de SiO_2 (13). Las moléculas de surfactante, se auto organizan en micelas que co-ensamblan con los precursores solubles de SiO_2, dando lugar a estructuras ordenadas de SiO_2-surfactante. Al eliminar el surfactante por calcinación o extracción, se obtiene una estructura porosa de SiO_2 con excelentes propiedades texturales (14) que pueden resumirse en:

a) Red de mesoporos ordenados, con tamaños muy homogéneos que permiten un estrecho control de la cinética de liberación de los fármacos contenidos.

b) Elevada superficie específica y volumen de poro para adsorber las dosis necesarias de principio activo

c) Superficies densas en grupos silanol que pueden ser funcionalizados permitiendo un mejor control de la carga y liberación del fármaco.

En la actualidad, el desarrollo de esta línea ha conducido a la preparación de sofisticados sistemas estímulo-respuesta, también denominados sistemas inteligentes, que permiten la liberación del fármaco una vez alcanzado la célula o tejido diana (15-17), o bien por medio de un estímulo externo controlado a voluntad (18-21).

Fue el mismo grupo de Vallet-Regí el que pocos años más tarde planteó la hipótesis de que los materiales mesoporosos de SiO_2 podrían presentar comportamiento bioactivo (22, 23). Con el precedente de los trabajos del Prof. Kokubo (24, 25) y del Prof. Hench (26) sobre la posible bioactividad de geles de

SiO_2, llevaron a cabo ensayos de bioactividad *in vitro* en SBF de tres materiales mesoporosos de SiO_2: MCM-41, SBA-15 (ambos con estructura 2D-hexagonal) y MCM-48 (con estructura 3D-cúbica). Los resultados indicaron que las propiedades texturales de estos materiales permitían la nucleación de una fase apatita en superficie, a partir de los iones disueltos en la solución fisiológica simulada (SBF), según se muestra en la Figura 2. Sin embargo, el proceso se reducía a la formación de una pequeña fracción de hidroxiapatita tras más de 30 días de inmersión en SBF. Si bien estos resultados indicaban que la implantación in vivo de SiO_2 mesoporosa conducirían a la formación de una capa fibrosa antes que a la osteointegración, estos trabajos marcaron el camino para lo que sería un gran impulso en el terreno de las biocerámicas para regeneración ósea.

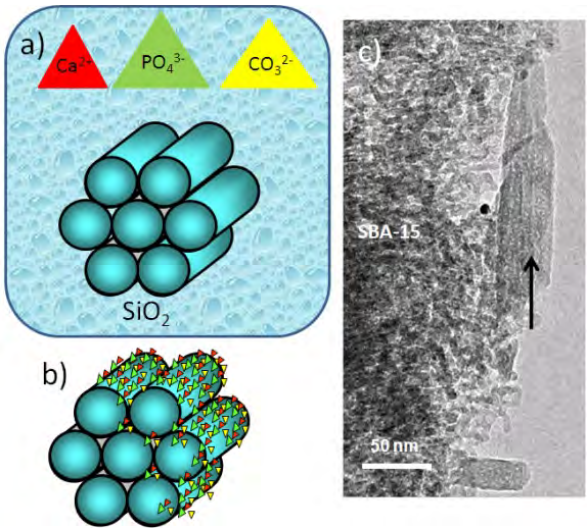

Figura 2.- (a y b) Precipitación de hidroxicarbonatoapatita sobre un material mesoporoso. (c) Imagen de MET de la fase apatita sobre un VMB (cortesía de la Dra Luisa Ruiz).

3. VIDRIOS MESOPOROSOSOS BIOACTIVOS

En el año 2004, el equipo de investigación del Prof. D.Y. Zhao (27) sintetizó los primeros vidrios mesoporosos bioactivos. Este grupo fue capaz de combinar la química sol-gel de sistemas multicomponente SiO_2-CaO-P_2O_5 con las bases de la química supramolecular de surfactantes. Como consecuencia, obtuvo por vez primera materiales mesoporosos con composiciones químicas análogas a los vidrios convencionales sol-gel de SiO_2-CaO-P_2O_5 (28-30), pero con las propiedades de porosidad y superficie propias de los materiales mesoporosos de SiO_2 conocidos hasta el momento. El mérito de este logro va más allá de añadir un surfactante como agente director de estructura a la síntesis sol-gel de un vidrio

bioactivo. Durante la síntesis de vidrios sol-gel SiO_2-CaO-P_2O_5, las etapas de envejecimiento y secado de los geles implican temperaturas de alrededor de 100ºC (31, 32). El grupo de Zhao entendió que estas etapas serían incompatibles con el establecimiento de una fase micelar ordenada. También comprendió que la clásica síntesis hidrotermal para la preparación de mesoporosos, sería incompatible con un sistema multicomponente donde la presencia de CaO dificultaría las interacciones entre la sílice y el surfactante. Por ello, recurrió a una estrategia propuesta años atrás por el Prof. C. J. Brinker, conocida como autoensamblaje inducido por evaporación (EISA en inglés) (33). Este método se basa en obtener disoluciones muy diluidas de los precursores y del surfactante en un medio volátil. A medida que se evapora el disolvente a temperatura ambiente se alcanza paulatinamente la concentración micelar crítica, dando lugar al autoensamblaje de las micelas en fases ordenadas más robustas desde el punto de vista de la estabilidad estructural.

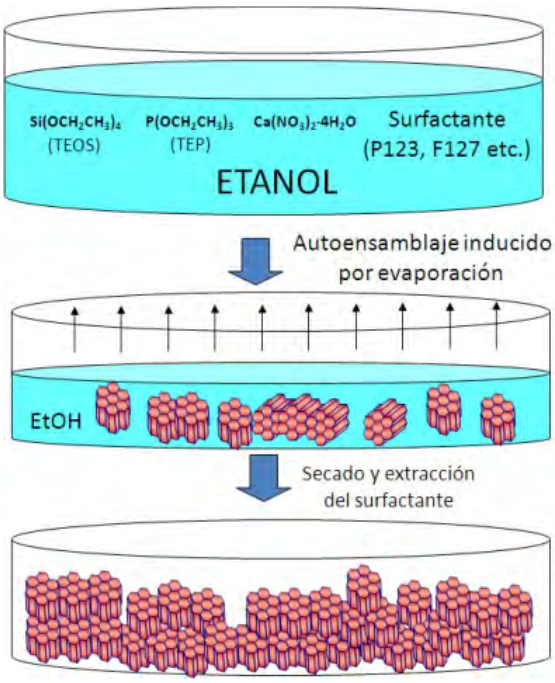

Figura 3.- Método EISA para la preparación de VMBs.

Las estructuras mesoporosas ordenadas obtenidas para los primeros VMBs se limitaron a fases hexagonales bidimensionales del tipo *p6m*, obtenidas a partir de Pluronic 123 como agente director de estructura y tetraetilortosilicato (TEOS), trietilfosfato (TEP) y nitrato de calcio como los correspondientes precursores solubles de SiO_2, P_2O_5 y CaO, respectivamente. Estudios posteriores del mismo grupo (34,35), les permitió establecer las principales diferencias entre los VMBs y los vidrios bioactivos sol-gel convencionales y que se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1.- Principales diferencias entre los vidrios sol-gel convencionales y los vidrios mesoporosos bioactivos en el sistema SiO_2-CaO-P_2O_5.

Vidrios sol-gel convencionales	Vidrios mesoporosos bioactivos
Propiedades texturales	**Propiedades texturales**
Superficie especifica (100-230 m^2/g)	Superficie especifica (200-450 m^2/g)
Volumen de poro (0,20- 0,35 cm^3/g)	Volumen de poro (0,45- 0,65 cm^3/g)
Estructuras porosas desordenadas	Estructuras porosas ordenadas
Heterogéneos (nanocristales de CaP)	Homogéneos (Ca y P dispersos en sílice)
Dependencia composición-porosidad	Independencia composición-porosidad
Contenido en CaO como factor determinante de la bioactividad	Superficie específica como factor determinante de la bioactividad

En el 2006, el grupo de Vallet-Regí y colaboradores (36) obtuvieron VMBs en el sistema SiO_2-CaO-P_2O_5 con estructuras porosas que presentaban ordenamientos diferentes a la estructura bidimensional *p6m*, utilizando el mismo agente director de estructura (Pluronic 123). Manteniendo constante la relación molar entre los formadores de red (SiO_2 y P_2O_5) y el surfactante, se demostró que la estructura porosa dependía del contenido en CaO. De este modo, para cantidades elevadas de CaO se obtenía la ya conocida fase hexagonal *p6m*. Sin embargo a medida que disminuía el contenido en CaO, se obtenían fases que eran propias de sistemas más hidrófobos, como la fase ortorrómbica *p2mm* y la fase cúbica *Ia-3d*. Estás últimas fases se obtenían más fácilmente, cuando la temperatura de evaporación del solvente se elevaba ligeramente (37). En estas circunstancias las interacciones tipo enlace de hidrógeno se debilitaban y el carácter hidrófilo del sistema disminuía, adquiriendo mayor importancia las interacciones de tipo hidrófobo ocasionadas por el componente apolar del surfactante. A modo de ejemplo, la composición 85 SiO_2- 10 CaO- 5 P_2O_5 (% mol) presenta una estructura *Ia-3d* cuando la evaporación se lleva a cabo a 40ºC, mientras que temperaturas de 20ºC durante el proceso EISA dan lugar a estructuras hexagonales *p6m*.

La confirmación de que podían obtenerse nuevas estructuras modificando el carácter hidrófilo del sistema, tuvo lugar cuando Yun y col. obtuvieron una fase cúbica de simetría *Im3m*, característica de entornos altamente hidrófilos (38, 39). Esta estructura se caracteriza por presentar poros en forma de cavidades. Dicha morfología de poro responde a la formación de micelas de forma esférica, con máxima curvatura, que se dan cuando el carácter hidrófilo del sistema (cabeza

polar del surfactante y precursor de sílice) predomina claramente sobre la parte hidrófoba (cola apolar del surfactante). Yun et al utilizaron como surfactante el F127, de carácter más hidrófilo, pues en su estructura de polímero tri-bloque presenta dos ramas de oxido de etileno de mayor longitud que las del Pluronic 123. De este modo, al favorecer el entorno hidrófilo se obtuvieron los primeros VMBs con poros en forma de cavidades en lugar de las estructuras en canales preparadas hasta entonces.

Estudios posteriores demostraron que, más allá del atractivo que presenta la preparación de diferentes fases mesoporosas ordenadas de sistemas multicomponente, las implicaciones biomédicas de este logro son de gran impacto. El proceso bioactivo, mediante el cual un material reacciona con los tejidos vivos, es un fenómeno que se inicia en la interfaz entre la superficie del implante y el hueso. La cantidad de materia que pueda difundirse e intercambiarse entre el implante y el hueso, determina la cinética y el tipo de reacción que tendrá lugar entre ambas superficies. Esta difusión de materia es superior en estructuras con sistemas de poros constituidas por redes 3D, que se extienden por todo el volumen del material, en comparación con las estructuras 2D de empaquetamientos hexagonales (40). Este hecho resultó ser una de las diferencias más notables entre los vidrios sol-gel convencionales y los VMBs. En los primeros, una mayor presencia de CaO determinaba un mejor comportamiento bioactivo. Por el contrario, en los VMBs, eran los valores texturales y el tipo de estructura, lo que determinaba que el proceso bioactivo tuviera lugar con mayor celeridad en condiciones *in vitro*.

Asimismo, la presencia o no de pequeñas agrupaciones de fosfato de calcio, determinan la velocidad de difusión de iones Ca^{2+} y PO_4^{3-}, así como la cinética de cristalización de la fase hidroxicarbonatoapatita (HCA) requerida para el enlace bioactivo (41). Si bien la hipótesis inicial sobre la no existencia de nanocristales de CaP es cierta, posteriores estudios de RMN multinuclear de ^{31}P y ^{29}Si mostraron la presencia de *clusters* de ortofosfato de calcio a nivel local, que no son detectables por DRX (37,42) Estas pequeñas agrupaciones conjuntamente con la estructura porosa, determinan la cinética de formación de HCA en los VMBs. Otros factores como la inclusión de cationes adicionales de relevancia en procesos del desarrollo óseo (43), vidrios con elevadas proporciones de P_2O_5 (44), diferente tamaño de mesoporo (45) o incluso la incorporación de la química verde a estos procesos (46) también han sido recientemente considerados.

4. LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS DESDE VIDRIOS MESOPOROSOS BIOACTIVOS

El precedente del rápido desarrollo de sistemas de liberación controlada de fármacos desde materiales mesoporosos de SiO_2, facilitó en gran medida la

incorporación de esta función a los VMB. Al conservarse las excelentes propiedades de superficie y porosidad, así como la capacidad de ser funcionalizados, diversos grupos de investigación entendieron el potencial que los VMB presentarían si, sumado a su excelente comportamiento bioactivo en el tejido óseo, pudieran actuar como sistemas liberadores de antibióticos y/o de agentes osteogénicos.

Uno de los problemas más comunes y complicados de resolver es la infección ósea en cirugía ortopédica. La incidencia de osteomielitis causada fundamentalmente por *S. aureous* y *S. epidermidis* es relativamente elevada. El problema se complica cuando estos microorganismos son capaces de desarrollar un *biofilm* sobre la superficie del implante. En ese momento, la administración sistémica de antibióticos es muy poco eficaz y la solución más común es la retirada del implante por septicemia. Es por ello por lo que la administración local y controlada de antibióticos desde el implante, se plantea como una excelente alternativa frente a la infección. Xia y Chang (47, 48) propusieron por primera vez la incorporación de antibióticos en el seno de la estructura porosa de los VMBs. Para ello, aplicaron una estrategia convencional de impregnación del fármaco, poniendo en contacto el VMB de composición 58S (58 SiO_2-37 CaO-5 P_2O_5 % mol) con una disolución concentrada de sulfato de gentamicina. Se observó, que el VMB podía incorporar hasta 3 veces más gentamicina que el mismo vidrio obtenido por el método sol-gel convencional. Asimismo, el perfil de la cinética liberación de gentamicina puede explicarse según el modelo mostrado en la Figura 4, en el cual las moléculas de antibiótico pueden ocupar diferentes posiciones en el poro (ventana de salida del poro ❶, interior del poro con interacciones material-gentamicina por enlace de hidrógeno ❷, interior del poro con interacción gentamicina-gentamicina ❸ y adsorción en la superficie externa del material ❹, estableciéndose diferentes cinéticas de liberación para cada una de estas posiciones.

La capacidad de carga y la cinética de liberación del fármaco son dependientes no solo de la porosidad, sino también de la composición química del VMB, como demostraron Zhao y colaboradores (49). Por ejemplo, la adsorción se tetraciclinas en VMBs es función del contenido en CaO, el cual actuaría a modo de agente quelante en la pared del poro. Por el mismo motivo, la cinética de liberación se ralentiza al incrementar el contenido en CaO en sistemas SiO_2-CaO-P_2O_5, pues la afinidad de la tetraciclina por el CaO controlaría su cesión al medio hídrico. Por otra parte, se ha realizado algún estudio de carga y liberación de fármacos variando el agente director de estructura, concretamente con P123 y F127, estableciéndose alguna distinción en relación a las diferencias de propiedades texturales que presentaba cada VBM (50).

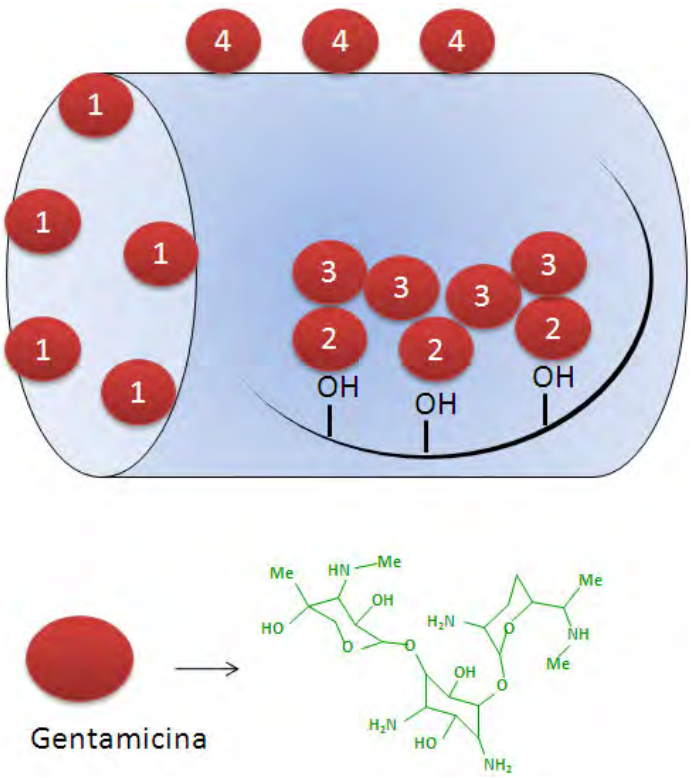

Figura 4.- Posibles localizaciones de la gentamicina respecto a los poros en un VMB.

Aun considerando la importancia de las características texturales para el control en la liberación de fármacos, la experiencia con los materiales mesoporosos de SiO_2 había demostrado que este control requería de funcionalizar las superficies de las matrices porosas. De otro modo, los efectos de liberación inmediata del fármaco y la imposibilidad de obtener cinéticas de liberación de orden cero, limitaba el uso de estas matrices. Sin embargo la funcionalización de los VMBs presenta una dificultad: la posible pérdida de bioactividad al modificar la superficie de los mismos (51). No ha sido hasta muy recientemente, cuando se ha llevado a cabo un estudio sistemático de cómo diferentes agentes funcionalizantes determinan el control en la liberación de ipriflavona, sin alterar significativamente el carácter bioactivo de estos materiales (52). Mediante la funcionalización con grupos tiol, amino, hidroxilo y fenilo, se pudieron obtener cinéticas de orden cero. Las constantes cinéticas podían controlarse en función de la fortaleza de los enlaces de hidrógeno que se establecían entre el fármaco y los diferentes grupos funcionales.

Más allá de la porosidad que presentan estos materiales, uno de los aspectos más importantes es la morfología y tamaño de las partículas del material. Han sido numerosos los investigadores que han considerado el control de estos parámetros, para poder diseñar sistemas de liberación de fármacos más eficaces. Entre ellos, la preparación de microesferas de tamaño controlado ha llamado la atención de diferentes grupos. Un sistema constituido por esferas de pequeño

tamaño ofrece posibilidades de reproducibilidad y control muy superiores a aquellos sistemas constituidos por partículas irregulares, angulosas y tamaños variables. El grupo del Prof. Galen Stucky (53) propuso la preparación de microesferas mesoporosas bioactivas, analizando sus propiedades hemostáticas. Estos materiales han sido propuestos como agentes de primeros auxilios en casos de hemorragias con pérdida masiva de sangre (54), que además no presentan el efecto térmico de otros sistemas que suelen necrosar tejidos sanos durante su aplicación. Estas esferas presentan tamaños comprendidos entre 100 nm y 1 micrometro y se obtienen en el sistema SiO_2-CaO-P_2O_5 utilizando el surfactante P123 como agente director de la estructura.

Los métodos para obtener microesferas mesoporosas bioactivas son variados. Entre ellos merecen ser destacados los métodos asistidos por la generación de aerosoles. Esta metodología combina el autoensamblaje inducido por evaporación con la formación de pequeñas gotículas, las cuales contienen todos los precursores que formarán la microesfera mesoporosa bioactiva. Estas gotículas forman en su seno la fase ordenada y son posteriormente pirolizadas para formar sistemas del tipo SiO_2-CaO-P_2O_5. Algunas de estas esferas han sido propuestas como injerto óseo y sistemas liberadores de fármacos (55). Los métodos asistidos por aerosol, permiten la obtención de microesferas con estructuras porosas ordenadas de sistemas multicomponente. Sin embargo, los tamaños de partícula obtenidos por este método limitan su uso a la implantación local directamente en hueso, y su aplicación se restringe al relleno y regeneración de pequeños defectos óseos, como son por ejemplo los defectos periodontales ocasionados por la extracción dental. De este modo, se puede lograr una sinergia terapéutica combinando su capacidad regenerativa y su efecto farmacológico cuando se cargan con principios activos de acción antiséptica.

Una segunda estrategia para la obtención de microesferas, es la precipitación en medio básico a partir de una disolución diluida del surfactante y los precursores. Este método da lugar a esferas de menor tamaño y monodispersas, si bien presenta los problemas de aglomeración característicos de los métodos de precipitación en vía húmeda (56,57). La obtención de partículas pequeñas y monodispersas, permiten su incorporación al sistema sanguíneo. La estabilidad hidrodinámica en el torrente circulatorio se consigue cuando el tamaño de partícula del vehículo se mantiene entre 50 y 300 nm. Partículas de tamaño superior quedan retenidas en pulmón e hígado, y aquellas otras con tamaños inferiores a 50 nm pueden atravesar el endotelio vascular y distribuirse en el organismo de forma inespecífica. En este sentido se han propuesto nanoesferas mesoporosas de SiO_2-CaO (58), donde el CaO juega un papel de favorecer la biodegradación, en lugar de favorecer un proceso de formación ósea. Finalmente, cabe mencionar la combinación de VMBs con polímeros biocompatibles como

sistemas bioactivos, capaces de presentar una liberación controlada de fármacos (59). En este tipo de sistemas, los VMBs no constituyen la microesfera en sí misma, sino que forman la fase discreta inmersa en la matriz polimérica. En estos sistemas, el principio activo puede ir incluido en la estructura porosa del VMB o dispersado en el seno de la matriz polimérica.

Recientemente se han preparado fibras huecas ultrafinas con VMBs (60). Aplicando técnicas de *electrohilado* y controlando la relación agua/etanol en la cual se disuelven los precursores y un agente separador de fases, se consigue que durante el proceso de fabricación de las fibras tenga lugar la descomposición espinoidal de la disolución. Esto trae como consecuencia la formación de fibras huecas con estructuras mesoporosas en las paredes. Su capacidad para cargar y liberar controladamente sulfato de gentamicina se relaciona directamente con la longitud de la fibra, además de presentar excelentes propiedades bioactivas.

Entre los sistemas de liberación de fármacos más interesantes, se encuentran aquellos denominados *estímulo-respuesta* o *sistemas inteligentes*. Estos sistemas han sido aplicados con éxito a materiales mesoporosos de sílice y consisten en diseñar un sistema de apertura y cierre en la entrada de los poros, cuyo control esté sujeto a un estímulo externo. En este sentido, se han diseñado sistemas basados en nanopartículas y compuertas moleculares. En los VMBs son muy pocos los trabajos realizados en este terreno. Recientemente Lin y colaboradores han preparado un sistema de compuertas moleculares basado en la fotodimerización de la molécula de cumarina (61). Estos sistemas se accionan de forma que la irradiación con luz UV de longitud de onda superior a 310 nm induce la dimerización de la cumarina, cerrando la apertura de los poros e impidiendo la difusión del fármaco, mientras que la irradiación con luz UV de 250 nm regenera el monómero de cumarina permitiendo la liberación del fármaco (Figura 5). Otros sistemas estímulo- respuesta de interés son aquellos que combinan las propiedades magnéticas con la liberación controlada de fármacos. La incorporación de nanopartículas magnéticas en el interior de sistemas mesoporosos dota de multifuncionalidad a estos materiales. Mediante la acción de un campo magnético externo, se puede lograr la vectorización de la partícula hacia regiones localizadas. Asimismo, la propiedad que algunos materiales magnéticos presentan para generar calor permite que los sistemas mesoporosos se comporten como termosemillas, para el tratamiento de tumores por hipertermia. Estos sistemas han sido objeto de estudio para materiales de SiO_2 (62-65) así como para sistemas VMBs del tipo SiO_2-CaO-P_2O_5 (66).

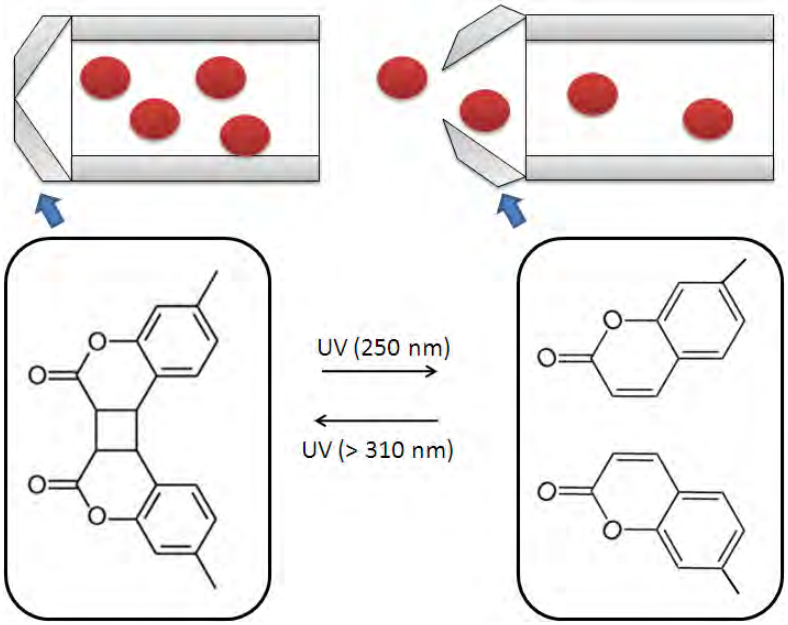

Figura 5.- Sistema de liberación de fármacos desde VMBs basados en compuertas fotosensibles de cumarina.

5. ANDAMIOS DE VMBS PARA TERAPIA REGENERATIVA ÓSEA

La regeneración de defectos óseos críticos es probablemente el reto más importante y complicado que abordan los biomateriales de 3ª generación. En el caso de pequeños defectos óseos, como suelen ser aquellos derivados de cirugía periodontal, el implante puede realizarse con el material en forma de gránulos, o bien formando una pasta con suero fisiológico o con la propia sangre del paciente. Sin embargo, la regeneración de un defecto crítico requiere de piezas que se ajusten al defecto. En muchos casos, la zona de implantación soporta importantes cargas mecánicas, lo que limita la utilización de materiales cerámicos. Si a esto último le añadimos que los implantes deben presentar poros lo suficientemente grades para permitir su colonización por los osteoblastos y permitir la angiogénesis (67, 68), es fácil de entender la magnitud del problema que abordan los VMBs en la terapia regenerativa ósea.

El primer intento por moldear VMBs en forma de piezas lo llevo a cabo el equipo del Prof. Stucky (69). Este grupo logró preparar una pasta inyectable mezclando VMBs del tipo SiO_2-CaO-P_2O_5 con una solución tamponada de fosfato de amonio. Dicha pasta fraguaba de forma similar a los cementos de fosfato de calcio, permitiendo la formación de piezas sólidas con cierta resistencia mecánica y elevado comportamiento bioactivo. Sin embargo, estos materiales no presentaban la arquitectura porosa requerida para un andamio destinado a la regeneración del defecto, es decir la presencia de macroporos con tamaños de centenares de

micrómetros e interconectados entre sí. El equipo pionero en incorporar los VMBs a los métodos de preparación de andamios mesoporosos es el grupo del Prof. Yun (70). Este grupo incorpora las técnicas de *prototipado rápido* a la preparación de andamios basados en VMBs con una arquitectura porosa ordenada, así como a la preparación de piezas con formas libres mediante el diseño asistido por ordenador (Figura 6). Estos andamios también pueden comportarse como sistemas de liberación de fármacos, puesto que en la nanoescala conservan su estructura mesoporosa ordenada. Los andamios obtenidos por el Prof. Yun presentan la particularidad de contener tres sistemas porosos diferentes en las escalas nanométrica, micrométrica y macroscópica, todos ellos con un estricto control de tamaño y ordenamiento poroso. Para ello, se requiere la combinación de un agente director de estructura que genere mesoporosidad ordenada, un polímero como la metilcelulosa que genera poros del orden de micrómetros al ser calcinado y, finalmente, una arquitectura macroporosa diseñada por técnicas de prototipado rápido. El principal problema de estos andamios cerámicos porosos es su extrema fragilidad, lo que limita su aplicación en cirugía ortopédica. Si bien ha sido posible demostrar que la formación de una fase tipo apatita refuerza las propiedades mecánicas de los andamios fabricados con VMBs, este incremento no satisface los requerimientos mecánicos para su aplicación en hueso (71). Para ello, se han propuesto combinaciones de VMBs con polímeros biocompatibles como la policaprolactona (PCL) (72). Estos andamios compuestos han dado excelentes resultados en cuanto a la mejora mecánica, manteniendo sus propiedades bioactivas en condiciones *in vitro*. Ensayos de biocompatibilidad *in vitro* utilizando líneas osteoblásticas, mostraron una mayor adhesión y proliferación celular sobre estos andamios compuestos, que sobre aquellos fabricados únicamente con PCL. La excelente biocompatibilidad celular ha sido posteriormente confirmada por el mismo grupo así como por diferentes autores y para distintos cultivos celulares (73-77).

La arquitectura macroporosa de estos andamios también puede ser diseñada a partir de polímeros que constituyen una plantilla fácilmente eliminable por calcinación (78). Esta metodología también ha sido ha sido empleada utilizando esponjas de poliuretano (79), que tras ser calcinadas dan lugar a piezas altamente porosas, con elevada interconectividad de poro y dando lugar a estructuras muy similares al hueso trabecular. Basándose en este tipo de estructuras y en la actividad antiosteoporótica del renalato de estroncio, Wu y colaboradores (80) prepararon andamios mesoporosos basándose en el sistema $SrO\text{-}SiO_2$, que si bien no presenta propiedades bioactivas, su capacidad para liberar Sr^{2+} ejerce una acción antiosteoporótica y favorece la degradación del andamio, facilitando la cesión de un segundo compuesto activo incluido en su estructura mesoporosa.

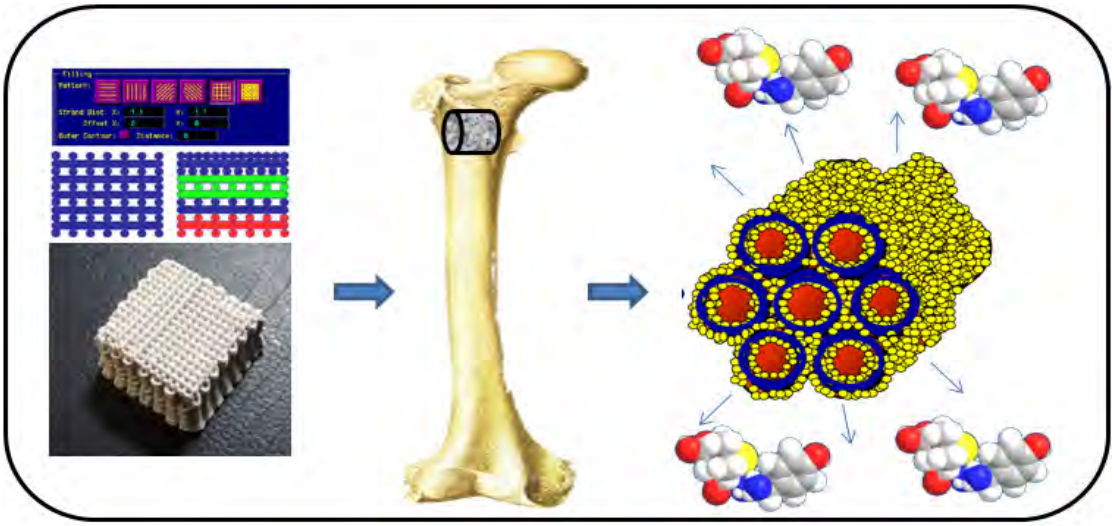

Figura 6.- Diseño de la porosidad y preparación por impresión 3D de un VMB (izquierda). Implante en defecto óseo y liberación de gentamicina (derecha).

6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Las nuevas terapias regenerativas en el ámbito de las patologías óseas requieren de la sinergia entre la ciencia de materiales y las ciencias farmacéuticas. En la última década se ha impuesto un cambio radical en la estrategia para diseñar biomateriales que aborden las patologías del tejido óseo. No se trata de sustituir las partes del hueso dañado, ni de buscar materiales que imiten las funciones fisiológicas del hueso. La primera opción conlleva importantes limitaciones en la vida útil del implante y la segunda implica objetivos que aun están lejos de ser alcanzados.

Un enfoque mucho más realista, pero no por ello menos ambicioso, es el de dotar al hueso de una plataforma que estimule sus mecanismos de autoregeneración. En este sentido los vidrios mesoporosos bioactivos están llamados a jugar un importante papel como sistemas de liberación de fármacos y como andamios porosos para la regeneración ósea. La sinergia entre las ciencias farmacéuticas y las biocerámicas requiere, por parte de estas últimas, características de superficie y porosidad muy determinadas. Con la incorporación de la química supramolecular a los métodos de síntesis a baja temperatura (como el proceso sol-gel) y el diseño de los implantes por técnicas de prototipado rápido, se ha conseguido preparar implantes de elevada porosidad. Estos se encuentran ordenados y aportan elevadas superficies que son funcionalizadas químicamente, dotándolas de excelentes propiedades para la carga y liberación de fármacos. Entre estos, los agentes antibióticos, inhibidores osteoclásticos y estimuladores osteoblásticos están llamados a liderar el componente farmacéutico de estos

sistemas, que suponen una ambiciosa estrategia para dar solución a los problemas derivados de la pérdida de tejido óseo.

7. ABREVIATURAS

DRX: Difracción de rayos-X

EISA: Autoensamblaje inducido por evaporación (del inglés Evaporation induced self-assembly)

MET: Microscopía electrónica de transmisión

PCL: Policaprolactona

RMN: Resonancia magnética nuclear

SBF: Fluido corporal simulado (del inglés simulated body fluid)

TEOS: Tetraetilortosilicato

TEP: Trietilfosfato

VMB: Vidrio mesoporoso biactivo

8. AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todos los miembros del equipo de investigación "Biomateriales de 3ª generación y biomateriales inteligentes" de la UCM, quienes han contribuido con algunos resultados expuestos en el articulo y cuyos nombres se recogen en la bibliografía. Así mismo se agradece a la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) y a la Comunidad Autónoma de Madrid por la financiación a través de los proyectos MAT2008-00736 y S2009/MAT-1472, respectivamente.

9. REFERENCIAS

1. Gentleman, E., & Polak J. M. (2006) Historic and current strategies in bone tissue engineering: Do we have a hope in Hench?. *J. Mater. Sci. Mater. Med* , *17*, 1029-1035.
2. Hench, L. L. Genetic design of bioactive glass. (2009). *J. Eur. Ceram. Soc.*, *29*, 1257-1265.
3. Vallet-Regí, M (2006). M. Revisiting ceramics for medical application *Dalton Trans*, *44*, 5211-5220.
4. Hench, L. L., & Polak, J. M (2002). Third-generation biomedical materials. *Science*, *295*, 1014-1017.
5. Hench, L. L., Splinter, R. J., Greenlee, T. K., & Allen, W. C. (1971). Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *J. Biomed. Mater. Res.*, *2*, 117-141.
6. Li, R., Clark, A. E., & Hench, L. L. (1991). An Investigation of Bioactive Glass Powders by Sol-Gel Processing. *J. Appl. Biomater.*, *2*, 231-239.
7. Arcos, D., & Vallet-Regí, M (2010). Sol-gel silica based biomaterials and bone tissue regeneration. *Acta Biomaterialia*, *6*, 2874-2888.

8. Mahony, O., & Jones, J. R. (2008). Porous bioactive nanostructured scaffolds for bone regeneration: a sol-gel solution. *Nanomedicine*, *3*, 233-245.

9. Coradin, T., Boissière, M., & Livage, J. (2006). Sol-gel Chemistry in Medicinal Science *Curr. Med. Chem*., *13*, 99-108.

10. Vallet-Regí, M. (2001). Ceramics for medical applications. *J. Chem. Soc. Dalton Trans*. 97-108.

11. Vallet-Regí, M., Ragel, C. V., & Salinas, A. J. (2003). Glasses with medical applications. *Eur. J. Inorg. Chem*. 1029-1042.

12. Vallet-Regí, M., Rámila, A., del Real, R. P., & Pérez-Pariente, J. (2001). A new property of MCM-41: Drug delivery system. *Chem. Mater*., *13*, 308-311.

13. Kresge, C. T., Leonowicz, M. E., Roth, W. J., Vartuli, J. C., & Beck, J. S. (1992). Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. *Nature*, *359*, 710-712.

14. Vallet-Regí, M., Balas, F., & Arcos, D. (2007). Mesoporous materials for drug delivery. *Angew Chem Int Ed*, *46*(40), 7548–7558.

15. Tan, K., Cheang, P., Ho, I. A. W., Lam, P. Y. P., & Hui, K. M. (2007). Nanosized bioceramic particles could function as efficient gene delivery vehicles with target specificity for the spleen. *Gene Therapy*, *14*, 828-835.

16. Slowing, I. I., Trewyn, B. G., & Lin, V. S.-Y. (2006). Effect of surface functionalization of MCM-41-type mesoporous silica nanoparticles on the endocytosis by human cancer cells. *J. Am. Chem. Soc*., *128*, 14792-14793.

17. Slowing, I. I., Trewyn, B. G., & Lin, V. S.-Y. (2007). Mesoporous silica nanoparticles for intracellular delivery of membrane-impermeable proteins. *J. Am. Chem. Soc*., *129*, 8845-8849.

18. Hernandez, R., Tseng, H. R., Wong, J. W., Stoddart, J. F., & Zink, J. I. (2004). An operational supramolecular nanovalve. *J. Am. Chem. Soc*., *126*, 3370-3371.

19. Ferris, D. P., Zhao, Y. L., Khashab, N. M., Khatib, H. A., Stoddart, J. F., & Zink, J. I. (2009). Light-operated mechanized nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.*, *131*, 1686-1688.

20. Lai, C. Y., Trewyn, B. G., Jeftinija, D. M., Jeftinija, K., Xu, S., Jeftinija, S., & Lin, V. S.-Y. (2003). A mesoporous silica nanosphere-based carrier system with chemically removable CdS nanoparticle caps for stimuli-responsive controlled release of neurotransmitters and drug molecules *J. Am. Chem. Soc*., *125*, 4451-4459.

21. Ruiz-Hernández, E., Baeza, A., & Vallet-Regí, M. (2011). Smart drug delivery through DNA/magnetic nanoparticle gates. *ACSNano*, *5*, 1259-1266.

22. Horcajada, P., Rámila, A., Boulahya, K., González-Calbet, J., & Vallet-Regí, M. (2004). Bioactivity in ordered mesoporous silica materials. *Solid State Sci*., *6*, 1295-1300.

23. Izquierdo-Barba, I., Ruiz-González, L., Doadrio, J. C., González-Calbet, J. M., & Vallet-Regí, M. (2005). Tissue regeneration: a new property of mesoporous materials. *Solid State Sci*., *7*, 983-989.

24. Li, P., Ohtsuki, C., Kokubo, T., Nankanishi, K., Soga, N., Nakamura, T., & Yamamuro, T. (1992). Apatite formation induced by silica gel in a simulated body fluid. *J. Am. Ceram. Soc*., *75*, 2091-2097.

25. Li, P., Ohtsuki, C., Kokubo, T., Nankanishi, K., Soga, N., Nakamura, T., & Yamamuro, T. (1993). Effects of ions in aqueous media on hydroxyapatite induction by silica gel and its relevance to bioactivity of bioactive glass and glass-ceramics. *J. Appl. Biomat*., *4*, 221-229.

26. Pereira, M. M., Clark, A .E., & Hench. L. L. (1995). Effect of texture on the rate of hydroxyapatite formation on silica gel surface. *J. Am. Ceram. Soc*., *78*, 2463-2468.

27. Yan, X. X., Yu, C. Z. , Zhou, X. F., Tang, J. W., & Zhao, D. Y. (2004). Highly ordered mesoporous bioactive glasses with superior in vitro bone forming bioactivities. *Angew. Chem. Int. Ed*., *43*, 5980-5984.

28. Rámila, A., Balas, F., & Vallet-Regí, M. (2002). Synthesis routes for bioactive sol-gel glasses: alkoxides vs. nitrates. *Chem. Mater*., *14*, 542-548.

29. Pereira, M. M., Clark, A. E., & Hench, L. L. (1994). Calcium phosphate formation on sol-gel derived bioactive glasses in vitro. *J. Biomed. Mater. Res*., *28*, 693-698.

30. Vallet-Regí, M., Arcos, D., & Pérez-Pariente, J. (2000). Evolution of porosity during in vitro hydroxycarbonate apatite growth in sol-gel glasses. *J. Biomed. Mater. Res*., *51*, 23-28.

31. Zhong, J., & Greenspan, D. C. (1997). Poroues sol-gel bioglass from near-equilibrium drying. *Bioceramics*, 10, 265-268.

32. Zhong, J., & Greenspan, D. C. (2000). Processing and properties of sol-gel bioactive glasses. *J. Biomed Mater Res Appl Biomater*., *53*, 694-701.

33. Brinker, C. J., Lu, Y. F , Sellinger, A., & Fan, H. Y. (1999). Evaporation-induced self-assembly: nanostructures made easy. *Adv. Mater*., 11, 579.

34. Yan, X. X. , Deng, H. X. , Huang, X. H. , Lu, G. Q., Qiao, S. Z.,. Zhao, D. Y., & Yu, C. Z. (2005). Mesoporous bioactive glasses. I. Synthesis and structural characterization . *J. Non-Cryst. Solids*, *351*, 3209-3217.

35. Yan, X. X., Huang, X. H., Yu, C. Z., Deng, H. X., Wang, Y., Zhang, A. D., Qiao, S. Z., Lu, G. Q., & Zhao, D. Y. (2006). The in vitro bioactivity of mesoporous bioactive glasses. (2006). *Biomaterials*, *27*, 3396-3403.

36. López-Noriega, A., Arcos, D., Izquierdo-Barba, I., Sakamoto, Y., Terasaki, O., & Vallet-Regí, M. (2006). Ordered mesoporous bioactive glasses for bone tissue regeneration . *Chem. Mater*., *18*, 3137-3144.

37. García, A., Cicuéndez, M., Izquierdo-Barba, I., Arcos, D., & Vallet-Regí, M. (2009). Essential role of calcium phosphate heterogeneities in 2D-hexagonal and 3D-cubic SiO_2-CaO-P_2O_5 mesoporous bioactive glasses. *Chem. Mater*., *21*, 5474-5484.

38. Yun, H. S., Kim, S. E., & Hyeon, Y. T. (2007). Highly ordered mesoporous bioactive glasses with Im3m symmetry. *Matter Lett*., *61*, 4569-4572.

39. Yun, H. S., Kim, S. E., & Hyeon, Y. T. (2008). Preparation of 3 dimensional cubic ordered mesoporous bioactive glasses. *Solid State Sci*., *10*, 1083-1092.

40. Izquierdo-Barba, I., Arcos, D., Sakamoto, Y., Terasaki, O., López-Noriega, A., & Vallet-Regí, M. (2008). High performance mesoporous bioceramics mimicking bone mineralization. *Chem. Mater*., *20*, 3191-3198.

41. Gunawidjaja, P. N., Lo, A. Y. H., Izquierdo-Barba, I. , García, A., Arcos, D., Stevensson, B., Grins, J., Vallet-Regí, M., & Edén, M. (2010). Biomimetic apatite mineralization mechanisms of mesoporous bioactive glasses as probed by multinuclear (31P, 29Si, 23Na, 13C) solid state NMR. *J. Phys. Chem. C*, *114*, 19345-19356.

42. Leonova, E., Izquierdo-Barba, I., Arcos, D., López-Noriega, A., Hedin, N., Vallet-Regí, M., & Edén, M. (2008). Multinuclear Solid State NMR Studies of Ordered Mesoporous Bioactive Glasses. *J. Phys. Chem. C* , *112*, 5552-5562.

43. Li, X., Wang, X. P., He, D. N., & Shi, J. L. (2008). Synthesis and characterization of mesoporous CaO–MO–SiO_2–P_2O_5 (M = Mg, Zn, Cu) bioactive glasses/composites. *J. Mater. Chem*., *18*, 4103-4109.

44. Zhao, S., Li, Y. B., & Li. D. X. (2011). Synthesis of CaO-SiO_2-P_2O_5 mesoporous bioactive glasses with high P_2O_5 content by evaporation induced self assembly process. *J. Mater. Sci. Mater. Med*., 22, 201-208.

45. Yan, X. X., Wei, G. F., Zhao, L. Z., Yi, J., Deng, H. X., Wang, L. Z., Lu, G. Q., & Yu, C. Z. (2010). Synthesis and in vitro bioactivity of ordered mesostructured bioactive glasses with adjustable pore sizes. *Microporous Mesoporous Mater*., *132*, 282-289.

46. Yan, P. H., Wang, J. Q., Liu, S., Ou, J. F., Lei, Z. Q., & Yang. S. G. (2010). ``Green'' synthesis of highly ordered mesoporous bioactive glass using acetic anhydride as the catalyst. *J. Non-Cryst. Solids*, *356*, 1514-1518.

47. Xia, W., & Chang, J. (2006). Well-ordered mesoporous bioactive glasses (MBG): A promising bioactive drug delivery system. *J. Control Rel.*, *110*, 522-530.

48. Xia, W., & Chang, J. (2008). Preparation, in vitro bioactivity and drug release property of well-ordered mesoporous 58S bioactive glass. *J. Non-Cryst. Solids*, *354*, 1338-1341.

49. Zhao, L. Z., Yan, X. X., Zhou, X. F., Zhou, L., Wang, H. N., Tang, J. W., & Yu, C. Z. (2008). Mesoporous bioactive glasses for controlled drug release. *Microporous Mesoporous Mater*, *109*, 210-215.

50. Zhao, Y. F., Loo, S. C. J., Chen, Y. Z., Boey, F. Y. C., & Ma, J. (2008). *In situ* SAXRD study of sol–gel induced well-ordered mesoporous bioglasses for drug delivery. *J. Biomed. Mater. Res.*, *85A*, 1032-1042.

51. Sun, J., Li, Y. S., Li, L., Zhao, W. R., Li, L., Gao, J. H., Ruan, M. L., & Shi, J. L. (2008). Functionalization and bioactivity in vitro of mesoporous bioactive glasses. *J. Non-Cryst. Solids*, *354*, 3799-3805.

52. López-Noriega, A., Arcos, D., & Vallet-Regí, M. (2010). Functionalizing Mesoporous Bioglasses for Long-Term Anti-Osteoporotic Drug Delivery. *Chem. Eur. J.*, *16*, 10879-10886.

53. Ostomel, T. A., Shi, Q. H., Tsung, C. K., Liang, H. J., & Stucky, G. D. (2006). Spherical Bioactive Glass with Enhanced Rates of Hydroxyapatite Deposition and Hemostatic Activity. *Small*, *2*, 1261-1265.

54. Ostomel, T. A., Shi, Q., & Stucky, G.D. (2006). Oxide hemostatic activity. *J. Am. Chem. Soc.*, *128*, 8384-8385.

55. Arcos, D., López-Noriega, A., Ruiz-Hernández, E., Terasaki, O., & Vallet-Regí, M. (2009). Ordered mesoporous microspheres for bone grafting and drug delivery. *Chem. Mater.*, *21*, 1000-1009.

56. Yun, H-S., Kim, S-H., Lee, S. Y., & Song, I-H. (2010). Synthesis of high surface area mesoporous bioactive glass nanospheres. *Mater Lett.*, *64*, 1850-1853.

57. Zhao, S., Li, Y. B., & Li, D. X. (2010). Synthesis and *in vitro* bioactivity of $CaO–SiO_2–P_2O_5$ mesoporous microspheres. *Microporous Mesoporous Mater.*, *135*, 67-73.

58. Li, X., Zhang, L. X., Dong, X. P., Liang, J., & Shi, J. L. (2007). Preparation of mesoporous calcium doped silica spheres with narrow size dispersion and their drug loading and degradation behavior. *Microporous Mesoporous Mater.*, *102*, 151-158.

59. Li, X., Wang, X. P., Zhang, L. X., Chen, H. R., & Shi, J. L. (2009). MBG/PLGA Composite Microspheres with Prolonged Drug Release. *J Biomed Mater Res Appl Biomater.*, *89B*, 148-154.

60. Hong, Y. L., Chen, X. S., Jing, X. B., Fan, H. S., Gu, Z. W., & Zhang, X. D. (2010). Fabrication and Drug Delivery of Ultrathin Mesoporous Bioactive Glass Hollow Fibers. *Adv. Funct. Mater.*, *20*, 1503-1510.

61. Lin, H.-M., Wang, W.-K., Hsiung, P.-A., & Shyu, S.-G. (2010). Light-sensitive intelligent drug delivery systems of coumarin-modified mesoporous bioactive glass. *Acta Biomaterialia.*, *6*, 3265-3263.

62. Vivero-Escoto, J. L., Slowing, I. I., Trewyn, B. G., & Lin, V. S.-Y. (2010). Mesoporous Silica Nanoparticles for Intracellular Controlled Drug Delivery. *Small*, *6*, 1952-1967.

63. Martín-Saavedra, F., Ruíz-Hernández, E., Boré, A., Arcos, D., Vallet-Regí, M., & Vilaboa, N. (2010). Magnetic mesoporous silica spheres for hyperthermia therapy. *Acta Biomaterialia, 6*, 4522- 4561.

64. Julian-López, B., Boissiere, C., Chaneac, C., Grosso, D., Vasseur, S., Miraux, S., Duguet, E., & Sanchez, C. (2007). Mesoporous maghemite–organosilica microspheres: a promising route towards multifunctional platforms for smart diagnosis and therapy. *J. Mater. Chem.*, *17*, 1563-1569.

65. Ruiz-Hernández, E., López-Noriega, A., Arcos, D., Izquierdo-Barba, I., Terasaki, O., & Vallet-Regí, M. (2007). Aerosol-assisted synthesis of magnetic mesoporous silica spheres for drug targeting. *Chem. Mater.*, *19*, 3455-3463.

66. Li, X., Wang, X. P., Hua, Z., & Shi, J. L. (2008). One-pot synthesis of magnetic and mesoporous bioactive glass composites and their sustained drug release property. *Acta Materialia.*, *56*, 3260-3265.

67. Hutmacher, D. W. (2000). Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Bone and Cartilage. *Biomaterials*, *21*, 2529-2543.

68. Stevens, M. M., & George, J. (2005). Exploring and Engineering the Cell Surface Interface. *Science.*, *310*, 1135-1138.

69. Shi, Q. H., Wang, J. F., Zhang, J. P., Fan, J., & Stucky, G. D. (2006). Rapid-setting, mesoporous, bioactive glass cements that induce accelerated in vitro apatite formation. *Adv. Mater.*, *18*, 1038-1042.

70. Yun, H.-S., Kim, S.-E., & Hyeon, Y.-T. (2007). Design and preparation of bioactive glasses with hierarchical pore networks. *Chem. Comm.*, 2139-2141.

71. Arcos, D., Vila, M., López-Noriega, A., Rossignol, F., Champion, E., Oliveira, F. J., & Vallet-Regí, M. Mesoporous bioactive glasses: mechanical reinforcement by means of a biomimetic process. (2011). *Acta Biomaterialia*, *7*, 2952-2959.

72. Yun, H.-S., Kim, S.-E, Hyun, Y.-T, Heo, S.-J, & Shin, J.-W. (2007). Three-Dimensional Mesoporous–Giantporous Inorganic/Organic Composite Scaffolds for Tissue Engineering. *Chem. Mater.*, *19*, 6363-6366.

73. Yun, H.-S., Kim, S.-E, Hyun, Y.-T, Heo, S.-J, Shin, J.-W. (2008). Hierarchically mesoporous-macroporous bioactive glasses scaffolds for bone tissue regeneration. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*, *87B*, 374-380.

74. Wang, X. P., Li, X., Onuma, K., Ito, A., Sogo, Y., Kosuge, K., & Oyane, A. (2010). Mesoporous bioactive glass coatings on stainless steel for enhanced cell activity, cytoskeletal organization and AsMg immobilization. *J Mater Chem*, *20*, 6437-6445.

75. Alcaide, M., Portolés, P., López-Noriega, A., Arcos, D., Vallet-Regí, M., & Portolés, M. T. (2010). Interaction of an ordered mesoporous bioactive glass with osteoblasts, fibroblasts and lymphocytes demonstrates its biocompatibility as a potential bone graft material. *Acta Biomaterialia*, *6*, 892-899.

76. Zhu, Y. F., Wu, C. T., Ramaswamy, Y., Kockrick, E., Simon, P., Kaskel, S., & Zreiqat, H. (2008). Preparation, characterization and in vitro bioactivity of mesoporous bioactive glasses (MBGs) scaffolds for bone tissue engineering. *Microporous Mesoporous Mater.*, *112*, 494-503.

77. Shih, C. J., Chen, H. T., Huang, L. F., Lu, P. S., Chang, H. F., & Chang, I. L. (2010). Synthesis andin vitro bioactivity of mesoporous bioactive glass scaffolds. *Mater. Sci Eng. C*, *30*, 657-663.

78. Wei, G. F., Yan, X. X., Yi, J., Zhao, L .Z., Zhou, L., Wang, Y. H., & Yu, C. Z. (2011). Synthesis and *in-vitro* bioactivity of mesoporous bioactive glasses with tunable macropores. *Microporous Mesoporous Mater.*, *143*, 157-165.

79. Zhu, Y. F., & Kaskel, S. (2009). Comparison of the *in vitro* bioactivity and drug release property of mesoporous bioactive glasses (MBGs) and bioactive glasses (BGs) scaffolds. *Microporous Mesoporous Mater*, *118*, 176-182.

80. Wu, C. T., Fan, W., Gelinsky, M., Xiao, Y., Simon, P., Schulze, R., Doert, T., Kuo, Y. X., & Cuniberti, G. (2011). Bioactive $SrO–SiO_2$ glass with well-ordered mesopores: Characterization, physiochemistry and biological properties. *Acta Biomaterialia*, *7*, 1797-1806.