

Novedosos biomateriales de quitosana y nanoapatita para la regeneración del tejido óseo

Autora principal

Yaimara Solís Moré¹.

Otros autores

Carlos Peniche¹, Dr. Raúl García Carrodeguas², Natalia Davidenko³.

Colaboradores

Andy Hernández Montoto⁴, Miriela Tomás Oviedo⁵, Yohanna Amey Ramírez¹.

Entidad ejecutora principal

¹Centro de Biomateriales (BIOMAT), Universidad de La Habana.

Entidades participantes

² UFCG, Brasil.

³University of Cambridge, UK.

⁴ LBI, UH, Cuba.

⁵AICA, Cuba.

Autora para correspondencia

Yaimara Solís Moré, Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana.

Ave. Universidad e/Ronda y G. Vedado, CP 10400, La Habana, Cuba.

e-mail: charlie@biomat.uh.cu

Resumen

En la actualidad, las afecciones óseas constituyen uno de los problemas fundamentales que enfrenta la medicina regenerativa, debido al incremento de la longevidad de la población y al número de traumas ocasionados por accidentes de diversa índole, como accidentes de tránsito, conflictos bélicos, desastres naturales, entre otros. En los últimos 20 años, se han desarrollado biomateriales para la reparación y restauración de los tejidos dañados, basados en biocerámicas de fosfato de calcio debido a su similitud estructural con el componente mineral del tejido óseo. Sin embargo, los biomateriales desarrollados hasta el momento presentan como principales desventajas clínicas: pobre resistencia mecánica, cinética de reabsorción lenta, fragilidad, rigidez y para su obtención, por lo general, requieren de elevadas temperaturas lo que conlleva a que son presentados como gránulos y bloques, lo que trae consigo migración del material fuera del sitio de implantación y escasa adaptación al defecto óseo tratado, respectivamente.

Es por ello que uno de los principales problemas a resolver con respecto a esta temática es la necesidad cada día más creciente de desarrollar nuevos biomateriales compuestos con mayor similitud a la apatita biológica y a la estructura del tejido óseo constituido además por una matriz polimérica de colágeno, para su potencial aplicación como biomaterial de regeneración ósea. En este trabajo se plantea una de las posibles soluciones a esta problemática mediante la obtención por primera vez de un novedoso biomaterial a base de nanoapatita y quitosana (análogo estructural del colágeno) con

propiedades adecuadas para su empleo como material soporte en la regeneración tisular ósea.

La obra científica expone como resultado la obtención biomateriales compuestos (composites) bioactivos de quitosana/nanoapatita y quitosana/nanoapatita sustituida con silicato, mediante una interesante y novedosa metodología in situ con suaves condiciones de reacción, donde el material bioactivo se encuentra embebido dentro de la matriz polimérica (analogía estructural al hueso) con diferentes relaciones en masa, diferentes tipos de quitosana y con sustitución parcial de la fase mineral apatita con diferentes iones para lograr composiciones y propiedades más parecidas al tejido óseo, que estimulen la regeneración y reparación de los tejidos óseos dañados, faciliten la rápida recuperación del paciente y reduzcan los elevados costos quirúrgicos y de los materiales que oferta el mercado internacional.

Como conclusiones se puede plantear que la novedad, originalidad e interés científico de los materiales preparados así como los resultados alcanzados han sido avalados por 4 publicaciones científicas indexadas en la Web of Sciences y 3 comunicaciones cortas revisadas de congresos; así como por la presentación de 20 trabajos en eventos científicos nacionales e internacionales. Además se han defendido con éxito 1 Tesis Doctoral, Propuesta como Mejor Tesis defendida en el Tribunal Nacional de Ciencias Químicas, 1 Maestría en Ciencia y Tecnología de Materiales, 2 tesis de grado de Licenciatura en Química de la Universidad de La Habana, 1 tesis de Técnico Medio en Química Industrial y el otorgamiento de Mención al mejor Artículo en Ciencias Naturales y del año 2010.

Comunicación corta

Introducción

Las afecciones óseas generalmente se encuentran asociadas a infecciones tisulares, cáncer, osteoporosis y a la pérdida o debilitamiento de masa ósea por traumatismos, con mayor incidencia al paso de los años debido al incremento de las actividades causantes de dichas afecciones. El incremento de la expectativa de vida es otra causa que también contribuye al aumento de la incidencia de las lesiones óseas en pacientes mayoritariamente de la tercera edad, en los cuales se ve afectada de manera significativa el sistema locomotor. Por otra parte, los biomateriales que han sido utilizados hasta el momento como sustitutos óseos en el campo ortopédico, no satisfacen completamente las exigencias finales requeridas en la práctica clínica. De ahí se deriva que uno de los principales problemas a resolver con respecto a esta situación, es la creciente necesidad de desarrollar nuevos biomateriales compuestos con mayor similitud al tejido óseo que permitan integrar en un único sistema las propiedades físico-químicas y biológicas adecuadas (bioactividad, biodegradabilidad, biocompatibilidad) para su empleo como material soporte en la regeneración tisular ósea.

En este trabajo se plantea una de las posibles soluciones a este problema, la obtención mediante un nuevo procedimiento de síntesis de tres pasos y condiciones de reacción suaves, de novedosos biomateriales compuestos para la restauración del tejido óseo,

combinando polímeros de origen natural como la quitosana (CHI) con fosfatos de calcio como la apatita (Ap). La obra científica expone como resultado la obtención de dieciocho formulaciones diferentes, ocho de ellas basadas en la relación de masa entre el biopolímero y el fosfato de calcio (cuatro sistemas con diferentes relaciones de masa quitosana/apatita para quitosana de bajo peso molecular y cuatro para quitosana de medio peso molecular) y los restantes diez sistemas son obtenidas por sustitución o dopaje parcial de la apatita con otros aditivos (silicato) cuyas propiedades biológicas superiores a los sistemas en ausencia de quitosana y de silicato, avalan su posible aplicación como material soporte para la restauración y regeneración del tejido óseo. Todos los materiales obtenidos de CHI/Ap desarrollados fueron nanoestructurados, con homogénea distribución de los cristales de apatita deficiente en calcio dentro de la matriz polimérica (análoga al tejido óseo) y mostraron mayor degradabilidad que los correspondientes componentes inorgánicos individuales y además son bioactivos y no citotóxicos en condiciones fisiológicas. Los composites obtenidos con quitosana de baja masa molecular (L-CHI) y con nanoapatita dopada con iones silicatos mostraron la menor estabilidad fisiológica y la mayor degradación enzimática, lo que permitiría estimular la regeneración y reparación de los tejidos óseos dañados, facilitar la rápida recuperación del paciente, evitar prolongados e invasivos tratamientos post-operatorios y reducir los elevados costos quirúrgicos y de los materiales que oferta el mercado internacional, lo que abre una expectativa interesante a la hora de preparar biomateriales nanoestructurados compuestos bioactivos, biodegradables y biocompatibles en condiciones fisiológicas.

Originalidad, novedad y principales aportes científicos

Entre los métodos desarrollados en la literatura para la obtención de estos materiales compuestos de polímeros y fosfatos de calcio, se encuentran aquellos sistemas preparados mediante técnicas de mezclado de ambos componentes individuales, incorporación de polímero al cemento de fosfato de calcio (CPC) y el recubrimiento de las partículas de apatita con disoluciones poliméricas. Estas técnicas conllevan a formulaciones que con frecuencia no son homogéneas microscópicamente debido a la dificultad de lograr una distribución uniforme de los constituyentes inorgánicos en el seno de la matriz polimérica. Esto puede causar inconvenientes en su aplicación clínica, ya que la falta de homogeneidad puede inducir síntomas de inflamación del tejido conectivo circundante al material. Ello provoca una fuerte reacción de rechazo del biomaterial implantado o alteraciones alrededor de la prótesis.

En tal sentido, el método de precipitación in situ del componente inorgánico bioactivo dentro de una matriz polimérica, citado en diversas publicaciones como método biomimético o bio-inspirado, pudiera resultar mucho más atractivo para la preparación de este tipo de composites, ya que permite obtener sistemas mucho más homogéneos y similares al tejido a reemplazar. Este procedimiento trata de mimetizar o imitar la naturaleza (el hueso, la dentina, la cáscara de huevo, los caparazones de moluscos, etc.), donde existe una perfecta combinación de las características de composición y estructura, las cuales son las responsables de las propiedades micro y macroscópicas. La precipitación in situ de fosfatos de calcio permite controlar la arquitectura (estructura) y composición química de los materiales resultantes.

La esencia de este procedimiento consiste en la obtención de composites generalmente nanoestructurados y microcristalinos donde el componente biológicamente activo (fosfato de calcio), está disperso de forma homogénea en la matriz polimérica (quitosana), con el fin de imitar o biomimetizar la apatita biológica presente en el tejido óseo. Composites con estas características están destinados para su aplicación en la ingeniería tisular, específicamente en la regeneración ósea, así como sistemas para la liberación controlada de fármacos y moléculas biológicamente activas.

Hasta el presente se han reportado varias alternativas de esta vía de síntesis para la preparación de materiales compuestos bio-inspirados. Yamaguchi y cols. han desarrollado una metodología de co-precipitación en un paso al gotear una solución de CHI en H_3PO_4 sobre una suspensión de hidróxido de calcio. Fan y cols. han empleado la biomineralización de la CHI en forma sólida (membranas), por inmersión en fluido biológico simulado (SBF). Redepening y cols. mezclaron una disolución del biopolímero con precursores inorgánicos de fosfato de calcio empleados como relleno, seguido de la precipitación del composite en forma de hidrogel o de partículas. Hu y cols. reportaron una metodología interesante en la que emplearon hidrogeles de CHI para su mineralización in situ y controlaron el proceso a través de difusión iónica. Rusu y cols. estudiaron la cinética de formación de composites de quitosana e hidroxiapatita preparados por co-precipitación. Inicialmente mezclaron la disolución de CHI con los precursores salinos de Ca y P ($CaCl_2$ y NaH_2PO_4) y seguidamente se realizó la hidrólisis del producto formado de CHI/DCPD por adición de una disolución de hidróxido de sodio. Se obtuvieron composites con mayor grado de organización estructural debido al uso de precursores salinos solubles. Estos mismos autores sugirieron el empleo de sales y ácidos débiles, en lugar de ácidos o bases fuertes, para evitar el posible impacto destructivo sobre las cadenas poliméricas de CHI en la preparación de estos composites. Chang y cols. reportaron un procedimiento similar para preparar nanocomposites de hidroxiapatita y gelatina, en los cuales se controla la concentración de iones Ca^{2+} y PO_4^{3-} por difusión, a través de procesos de disolución y co-precipitación.

Esta vía de obtención in situ ha permitido una adecuada y homogénea incorporación de rellenos inorgánicos dentro de la estructura de los composites, tanto a escala micrométrica como nanométrica. Es importante mencionar que cada uno de los métodos citados conduce a un tipo particular de material compuesto con sus respectivas propiedades estructurales.

Considerando que la fase mineral ósea está constituida por una apatita no estequiométrica (relación $Ca/P < 1,67$), resulta conveniente tratar de asemejar el componente inorgánico de estos composites con la apatita biológica. Con este objetivo, Peña y cols. han mezclado brushita en polvo ($CaHPO_4 \cdot 2H_2O$) con una disolución de CHI en ácido cítrico, mantenido el pH alcalino por adición de hidróxido sódico. A pesar de la similitud de la fase apatítica con la esperada en el composite final, el uso de disoluciones de ácido cítrico como disolvente es cuestionable, ya que si bien este promueve la nucleación de fosfatos de calcio amorfos, la transformación a Ap resulta

inhibida. Yamaguchi y cols. demostraron que los ácidos orgánicos con más de dos grupos carboxílicos como el ácido cítrico, forman sobre la superficie del composite un complejo estable entre los grupos carboxilato y los iones calcio que impide la absorción de los iones fosfatos y por tanto, inhibe el crecimiento de los cristales de hidroxiapatita. Además, en la literatura también se plantea que los ligandos de citrato pudieran afectar el tamaño de cristalita y de los parámetros de la celda de la HAp, debido a la inclusión de grupos carboxílicos en la red cristalina de la fase mineral.

Por otro lado, se plantea que el empleo de esta metodología permite la incorporación en estos tipos de materiales, de antibióticos y otros principios activos (como por ejemplo, factores de crecimiento) como una posible vía para lograr una mayor proliferación celular y una más rápida y eficiente formación y mineralización del tejido óseo.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente referido a la preparación de los composites basados en quitosana y apatita, resulta evidente la amplia versatilidad geométrica y superiores propiedades biológicas de los sistemas resultantes. La preparación de composites por vía húmeda, específicamente por formación in situ del componente inorgánico dentro de la matriz polimérica permite obtener sistemas más homogéneos. El empleo de precursores salinos solubles y ácidos débiles, en lugar de ácidos y bases fuertes, debe evitar la posible destrucción por hidrólisis de la quitosana [1]. Además, mediante esta técnica de obtención se logra una mayor integración de las fases constituyentes del sistema. La presencia de apatita obtenida in situ dentro de la quitosana, mucoadhesiva, de textura suave y con gran similitud estructural con la matriz orgánica del tejido óseo natural, inhibe la frecuente migración de las partículas inorgánicas fuera del sitio de implantación, evita daños a los tejidos próximos al mismo, disminuye las reacciones de rechazo del paciente al material y mejora las características físico-químicas y propiedades biológicas de las formulaciones obtenidas [2] para su potencial empleo en liberación controlada de fármacos y moléculas biológicamente activas, así como en la regeneración tisular ósea, que puede ser también guiada a través de materiales preparados en forma de membranas.

En resumen, de la literatura se conoce que la precipitación e hidrólisis in situ de la fase mineral en la matriz polimérica resulta la técnica más adecuada para la preparación de composites de quitosana con hidroxiapatita. Sin embargo hasta el momento, en los materiales precedentes no se ha alcanzado la total conversión a hidroxiapatita no estequiométrica, con polisustitución iónica, homogéneamente distribuida y ocluida en la matriz de quitosana, y por lo general se emplean disoluciones de hidróxido de sodio para la hidrólisis del relleno inorgánico.

Con la presente obra científica, se incluye por primera vez un paso intermedio que permite la oclusión del material inorgánico precursor de la apatita (brushita) dentro de la quitosana, antes de su hidrólisis in situ a cristales de nanoapatita deficiente en calcio, los cuales se obtienen embebidos y homogéneamente distribuidos dentro de la matriz biopolimérica, lo cual evita la frecuente migración de los materiales desarrollados con anterioridad. Además, se sustituye el hidróxido de sodio por una disolución tampón de

fosfato de sodio en el paso de hidrólisis para evitar daños a la matriz biopolimérica, y además se incorpora silicato en la red cristalina de la apatita formada dentro de la matriz de quitosana con mejores propiedades biológicas que los sistemas obtenidos con anterioridad en ausencia de quitosana y sin el dopaje de iones silicato en el retículo cristalino de la nanoapatita [3-4].

Conclusiones

Como conclusiones se puede plantear que la novedad, originalidad e interés científico de los materiales preparados así como los resultados alcanzados han sido avalados por 4 publicaciones científicas indexadas en la Web of Sciences y 3 comunicaciones cortas revisadas de congresos; así como por la presentación de 20 trabajos en eventos científicos nacionales e internacionales. Además se han defendido con éxito 1 Tesis Doctoral, Propuesta como Mejor Tesis defendida en el Tribunal Nacional de Ciencias Químicas, 1 Maestría en Ciencia y Tecnología de Materiales, 2 tesis de grado de Licenciatura en Química de la Universidad de La Habana, 1 tesis de Técnico Medio en Química Industrial y el otorgamiento de Mención al mejor Artículo en Ciencias Naturales y del año 2010.

Referencias Bibliográficas

- [1] Y. Solís, R. García, N. Davidenko, C. Peniche, R. Cameron; "Preparación de composites de hidroxiapatita deficiente en calcio y quitosana". Revista CENIC Ciencias Químicas, 39(1), 17-22, 2008.
- [2] Natalia Davidenko, Raúl G. Carrodeguas, Carlos Peniche, Yaimara Solís, Ruth E. Cameron. "Chitosan/apatite composite beads prepared by in situ generation of apatite or Si-apatite nanocrystals". Acta Biomaterialia 6, 466–476, 2010.
- [3] Carlos Peniche, Yaimara Solís, Natalia Davidenko, Raúl García. Review. "Materiales compuestos de quitosana e hidroxiapatita/ Chitosan/hydroxyapatite-based composites". Biotecnología Aplicada, 27(3), 202-210, 2010.
- [4] Y. Solís, N. Davidenko, R.G. Carrodeguas, J. Cruz, A. Hernández, M. Tomás, R.E. Cameron, Carlos Peniche. "Preparation, characterization and in vitro evaluation of nanostructured chitosan/apatite and chitosan/Si-doped apatite composites". J Mater Sci, 48, 841–849, 2013.