

PARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA RECOBERTAS COM COLÁGENO TIPO I

Francisco J.C. Braga¹; Anahi H. Aparecida²; Antonio C. Silva^{1,2}

¹Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) – Av. Prof. Lineu Prestes, 2242, São Paulo (SP), Brasil

²Consulmat Produtos Técnicos Indústria e Comércio Ltda. – Rua Juan Lopes, 159, São Carlos, SP, Brasil

E-mail: fjcbraga@ipen.br

Resumo. A HIDROXIAPATITA (HA) é referência para enxertia óssea na odontologia e medicina. A sua capacidade ou não de reabsorção é importante para a sua adequação a casos específicos. De um lado, baixa velocidade de reabsorção é desejada quando o objetivo é mantê-la na região defeituosa indefinidamente servindo como carga osteocondutora. Por outro lado, se o objetivo é a substituição do material enxertado por novo tecido ósseo a ser formado, uma velocidade de reabsorção adequada é exigida. A velocidade (taxa) de reabsorção pelo organismo depende das propriedades físico-químicas da HA e do tamanho de suas partículas. Porém, quanto menor for o tamanho da partícula, mais difícil é para o cirurgião agregá-la com líquido e inoculá-lo na região do defeito ósseo. Este agravante no manuseio é eliminado recobrimo-se as partículas com colágeno tipo I proveniente do tecido ósseo bovino. Pela sua propriedade higroscópica, o colágeno possibilita a formação de uma suspensão mais homogênea, e sendo atrativo às células osteogênicas potencializa a formação mais acelerada do tecido neo-ósseo. Neste trabalho, partículas de HA foram recobertas por colágeno tipo I com o intuito de possibilitar uma adequada reabsorção pelo organismo sem comprometer o protocolo de manuseio.

Palavras-chave: Hidroxiapatita, Colágeno, Enxertia Óssea

1. INTRODUÇÃO

A estrutura óssea é formada por uma matriz mineral predominante de HA $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, onde fibras colaginosas são distribuídos dentro da matriz de forma específica para cada região óssea e característica funcional desta. A biointegração consiste na união bioquímica do tecido ósseo (fibroso ou calcificado) à superfície de um biomaterial. A ocorrência da biointegração exige que o biomaterial possua uma superfície que favoreça a reação bioquímica com o organismo durante a reconstituição óssea através das proteínas morfogenéticas e células [DRISKELL, 1994]. A hidroxiapatita se comporta como tal.

A biocompatibilidade dos materiais de enxertia é avaliada principalmente pela reação do osso ao material, e o ideal é quando se obtêm a osteogênese total, na qual há uma união físico-química do osso ao implante, seguindo certos estágios do fenômeno da osseointegração: (1^o) A energia de superfície relacionada ao grau de molhabilidade da superfície do corpo pelo sangue definirá o tipo e quantidade de contato que o novo tecido terá com o implante; (2^o) O potencial eletroquímico da superfície passa a determinar o grau de capacidade de adesão do implante ao novo tecido; (3^o) O tipo de troca iônica entre a superfície do implante e o organismo definirá o tipo de tecido (mineral e orgânico) ao redor do primeiro; e (4^o) A topografia da superfície do implante definirá a sua capacidade de retenção pelo novo tecido formado [VALLET-REGI, 2006]. Desta forma, biocompatibilidade e biofuncionalidade são propriedades que conceituam os biomateriais, ou seja, a capacidade de desempenhar apropriadamente a função desejada com a necessária aceitação pelo organismo, o que compatibiliza o conceito apresentado por WILLIAMS (1991).

Para a reconstrução de uma região óssea por meio de enxerto, é necessário induzir um processo inflamatório no local. Este processo inflamatório é caracterizado pelo excesso de irrigação sanguínea, o qual leva à formação de coágulos no espaço entre a superfície óssea traumatizada e a do enxerto. Células macrófagas então digerem o sangue coagulado dando

espaço para que células de fibroblasto e osteoblasto iniciem competitivamente a formação do novo tecido. A característica do tecido a ser formado depende de fatores intrínsecos, como a condição metabólica do paciente e tipo de tecido ósseo primário existente, e extrínsecos, como a condição cirúrgica e tipo de biomaterial do enxerto aplicado. Estes fatores definem o modo de distribuição e quantidade de tecido fibroso e tecido calcificado final.

As propriedades estruturais da HA, como pureza química, grau de cristalinidade e estequiometria molecular, são fundamentais quanto a sua resistência na degradação imposta pelo organismo hospedeiro, bem como a dimensão de suas partículas devido à área de superfície do biomaterial em contato com as células. Porém, a dificuldade de aglutinar em meio líquido aumenta com a diminuição das partículas pela baixa molhabilidade relativa à elevada energia de superfície. Assim, o recobrimento das partículas de HA com colágeno tipo I facilita a aglutinação. Como a condição de gel favorece a aplicação do biomaterial no sítio ósseo de interesse, o carboximetilcelulose hidratado, material biocompatível [DALLAN, 2005], se apresenta como um meio favorável para a veiculação das micropartículas de HA.

O presente trabalho tem por objetivo o desenvolvimento de um composto para ser utilizado em procedimentos cirúrgicos de enxertia óssea e que se apresente próximo às características físico-químicas do tecido ósseo.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A matriz óssea cortical de fêmur bovino, triturada e moída até a obtenção de grânulos micrométricos, foi posta em solução de ácido acético à 60 °C até a completa dissolução das fibras colagenosas passando então por tratamento térmico à 1100 °C para obter tamanho de cristalito de aproximadamente 50 nm, caracterizando uma HA cristalina.

O colágeno tipo I foi obtido da desmineralização do osso cortical bovino em solução molar de HCl [REDDI et al., 1977] e então dissolvido em solução 0,5 M de ácido acético [XU & YU, 2006]. A solução contendo o colágeno tipo I teve sua diluição até o acerto do pH em torno de 6 e aquecida à 40 °C para viabilizar sua nebulização em um reator de leito fluidizado contendo as partículas de HA. Uma etapa posterior de nebulização com ar seco e quente viabilizou a secagem das partículas recobertas conforme esquema da Fig. 1.

As partículas de HA recobertas com colágeno, foram misturadas com gel de carboximetilcelulose de pureza analítica. A relação carboximetilcelulose/partículas recobertas gerou uma pasta contendo de 20 a 25% em peso de partículas de HA e de 2 a 5% em peso de carboximetilcelulose anidro, próxima das características da pasta de WIRONEN (2002).

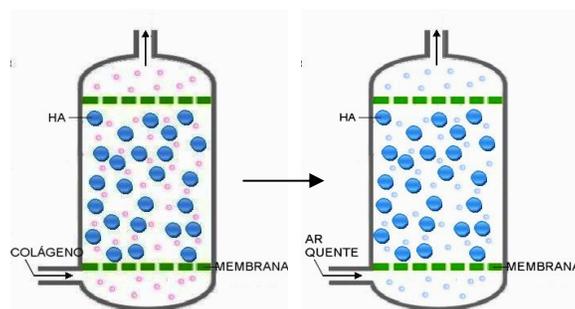


Fig.1. Recobrimento das partículas de HA com colágeno.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 apresenta o difratograma de raios-X refinado por Rietveld com o tamanho de cristalito obtido por meio do software GSAS e diâmetro médio das partículas obtido por meio do equipamento CILAS.

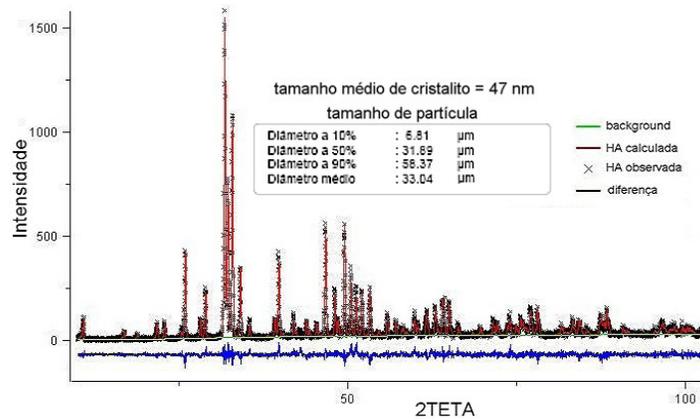


Fig.2. Difratoograma da HA natural.

As partículas de HA recobertas com colágeno apresentaram elevada higroscopicidade, atendendo plenamente a exigência de molhabilidade do primeiro estágio do fenômeno da osseointegração. Este requisito pode ser visto na Tabela 1 e Fig. 3.

Tabela 1. Absorção de água pelas partículas de HA.

Amostra	1	2	3	4	5	Valor médio (%H ₂ O)
m _u (g)	1.70276	1.85756	1.92194	1.93710	1.85430	73.15±1.28
m _s (g)	0.48588	0.49909	0.50863	0.48504	0.50736	
% H ₂ O	71.465	73.132	73.535	74.960	72.639	

A pasta de CMC contendo as partículas de HA recobertas com colágeno apresentou curva de viabilidade celular acima de IC50% sendo considerada não citotóxica, conforme Fig. 4.

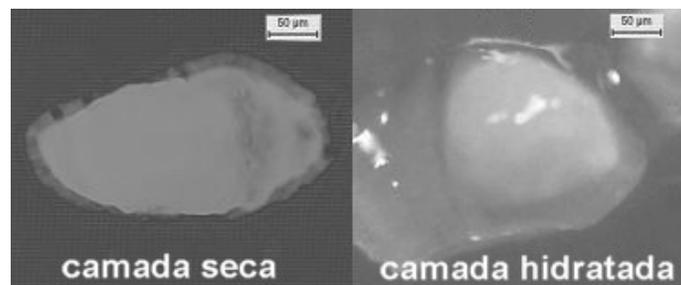


Fig.3. Partículas de HA com camada de colágeno.

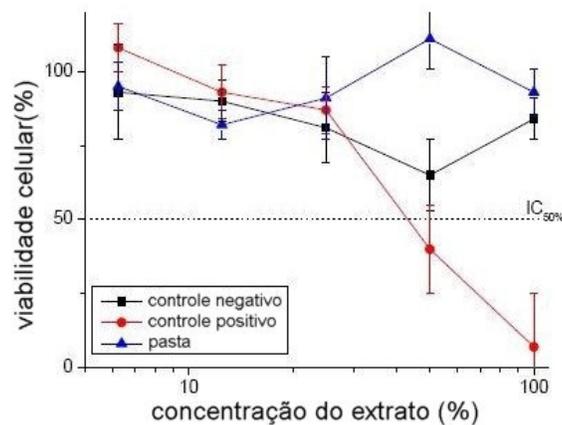


Fig.4. Curva de viabilidade citotóxica da HA com camada de colágeno.

4. CONCLUSÃO

O processo de recobrimento de micropartículas de hidroxiapatita com camada de colágeno se mostrou adequado segundo ensaios e testes tanto do material como biológico in vitro, ficando ainda como necessária a comprovação “in vivo” para a sua completa caracterização como biomaterial competitivo à função de enxerto ósseo.

REFERÊNCIAS

- DALLAN, P. R. M. Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração de pele; Tese de Doutorado – FEQ/UNICAMP, 2005.
- DRISKELL, T. D. Early history of calcium phosphate materials and coatings. In: HOROWITZ, E. ; PARR, J. E. (Ed.). Characterization and performance of calcium phosphate coatings for implants. Philadelphia: ASTM STP 1196. American Society for Testing and Materials, 1994.
- REDDI, A. H.; GAY, R.; GAY, S.; MILLER, E. J. Transitions in collagen types during matrix-induced cartilage, bone, and bone marrow formation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA v. 74, No. 12, p. 5589-5592, 1977.
- VALLET-REGI, M. Biomateriales para sustición y reparación de tejidos. Disponível em: <<http://www.aecientificos.es/empresas/aecientificos/documentos/Biomateriales.pdf>>. Acesso em: 13 maio 2006.
- WILLIAMS, D. F. Concise encyclopedia of medical and dental materials. Oxford: Pergamon Press, 1991.
- WIRONEN, J. F. Thermally sterilized bone paste. United States Patent 20020018796 depositada pelo inventor, 2002.
- XU, S.; YU, J. J. Beneath the Minerals, A Layer of Round Lipid Particles Was Identified To Mediate Collagen Calcification in Compact Bone Formation. Biophys. J., v.91, p. 4221–4229, 2006.

HYDROXYAPATITE PARTICLES COVERED WITH TYPE I COLLAGEN

Francisco J.C. Braga¹; Anahi H. Aparecida²; Antonio C. Silva^{1,2}

¹Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) – Av. Prof. Lineu Prestes, 2242, São Paulo (SP), Brasil

²Consulmat Produtos Técnicos Indústria e Comércio Ltda. – Rua Juan Lopes, 159, São Carlos, SP, Brasil
E-mail: fjcbraga@ipen.br

Abstract. HYDROXYAPATITE (HA) is a reference bone grafting material in odontology and medicine. Its capacity to be resorbable or not is important to adequate it to specific surgery cases. The low resorbable rate is desired in cases where necessarily HA shall remain into the bone defective site acting as an osteoconductor charge. But, if the intention is the substitution of the graft by new living tissue, an especific resorbable rate is required. The resorbable rate of HA by the body depends on its physical-chemistry properties and particles size. However, as small is the particle size as difficult is to the surgeon prepare the HA in a liquid media and inoculate into the bone defect. This aggravation in the procedure is eliminated by a type I collagen coating on the HA particles. The collagen makes possible a liquid homogeneous suspension by its hygroscopic property, and being an attractive material to osteogenic cells catalyzes the living new tissue formation. In this work, the HA particles were coated with type I collagen objectifying an adequated resorbable rate without compromises the manipulation surgery protocol.

Keywords: Hydroxyapatite, Collagen, Bone grafting