

CRECIMIENTO BIOMIMÉTICO DE HIDROXIAPATITA SOBRE COLÁGENO

E. Rubio¹, B. Gaspariano-Ocotitla², D. Mendoza-Anaya³ y V. Rodríguez-Lugo^{1*}

¹Centro Universitario de Vinculación, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria, C.P. 72570 Puebla, México.

²Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria, C.P. 72570 Puebla, México.

³Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, Km 36.5 Carretera México – Toluca, Ocoyoacac Edo. De México. C.P. 52045, México.
efrainrubio@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

La hidroxiapatita es un biomaterial y básicamente es un compuesto cristalino integrado por tres moléculas de fosfato de calcio y de una molécula de hidróxido de calcio. El concentrado de la hidroxiapatita es la matriz de calcio de la proteína encontrada en el hueso sin procesar. Esta sustancia natural contiene aproximadamente 14% la proteína del colágeno y 4% de otras proteínas y aminoácidos pequeños (hidroxiprolina, glicina y ácido glutámico). El calcio abarca entre el 24-30% de la matriz de la hidroxiapatita y junto con varios minerales (zinc, potasio, silicio, magnesio, fierro) forma un conjunto biodispensable activo de calcio. [1]

Hoy en día existen diferentes concepciones de lo que realmente es un biomaterial, por una parte, tenemos que un biomaterial es “un material ideado para interactuar con los sistemas biológicos para evaluar, tratar, aumentar o substituir cualquier tejido, órgano o función del cuerpo” según la *Second Consensus Conference on definitions in Biomaterials, Chester, Reino Unido 1992*. Por otro lado, hay quienes definen a los biomateriales como “aquellos materiales de origen natural o sintético que se utilizan para dirigir, suplementar o reemplazar alguna función de un tejido vivo” [2] o como “una sustancia sistemáticamente y farmacológicamente inerte diseñada para implantación dentro de un sistema vivo o su incorporación a éste” [3]

En el presente trabajo se obtiene el crecimiento de hidroxiapatita (HA) sobre colágeno a través de un método biomimético y el material es caracterizado por FTIR, DRX, EDS Y SEM.

OBJETIVO

El objetivo es la nucleación, crecimiento y caracterización de hidroxiapatita (HA) sobre colágeno a través de un método biomimético.

METODOLOGÍA

Para obtener la hidroxiapatita se utilizó una estrategia biomimética, que consiste en preparar una solución semejante al del plasma del cuerpo humano, esta solución salina se denomina Fluido Fisiológico Simulado (FFS) y se mantiene a una temperatura de 37°C y un pH de 7.4 (condiciones semejantes al del cuerpo humano). Para preparar el FFS se mezcla cloruro de sodio (NaCl), cloruro de calcio (CaCl₂), fosfato de potasio dibásico (K₂HPO₄) e hidroximetil aminometano (TRIS) (C₄H₁₁NO₃) en 250 ml de agua desionizada a una temperatura de 37°C y finalmente la solución se ajusta a un pH de 7.4 con ácido clorhídrico.

Una vez preparado el FFS, en 10 tubos de cultivo se colocó colágeno tipo I en presentación de esponja con dimensiones de 1 x 2 x 0.4 cm de nombre comercial Collacote de la marca Zimmer por tubo. A cada uno de los tubos de cultivo se incorporó 50 ml del FFS y se colocaron en termo baño a una temperatura de 37 °C y se mantuvieron las esponjas en contacto con el FFS por un tiempo de cuatro días, mientras el FFS fue reemplazado diariamente. Finalmente se retiraron muestras diariamente para realizar su caracterización por microscopía electrónica de barrido, espectroscopia infrarroja y difracción de rayos X.

RESULTADOS

Se hicieron análisis por DRX, en los cuales se observó la presencia de la fase cristalina de la HAp, el análisis por FTIR, demostró la presencia de las bandas características del colágeno y los grupos fosfato. De acuerdo al análisis por EDS (figura 1) se observa que el material está constituido fundamentalmente por C (14.98 %) O (49.16%), Ca (23.41%) y P (12.45%) y con una relación Ca/P de 1.8. En el análisis por SEM se obtuvieron varias micrografías; en la figura 1a) se observa la muestra de colágeno inmersa durante 4 días en la solución, se aprecia una superficie rugosa donde se observan canales, se identifica una cantidad importante de partículas del orden de 1.5 μm a 3.8 μm de diámetro; en la figura 1 b) un acercamiento permitió identificar la formación de aglomerados que van de 48 μm a 65 μm de largo y entre 25 μm y 40 μm de espesor constituida por esferas que van de 7.5 μm a 12.5 μm de diámetro sobre los cuales se observa el crecimiento de estructuras en forma laminar entre 2.5 μm a 7.5 μm de espesor, en la figura 1 c) en un acercamiento mayor permite observar estructuras laminares con un espesor de 1.3 μm a 6.3 μm y de aproximadamente 2.5 μm a 3.75 μm de largo.

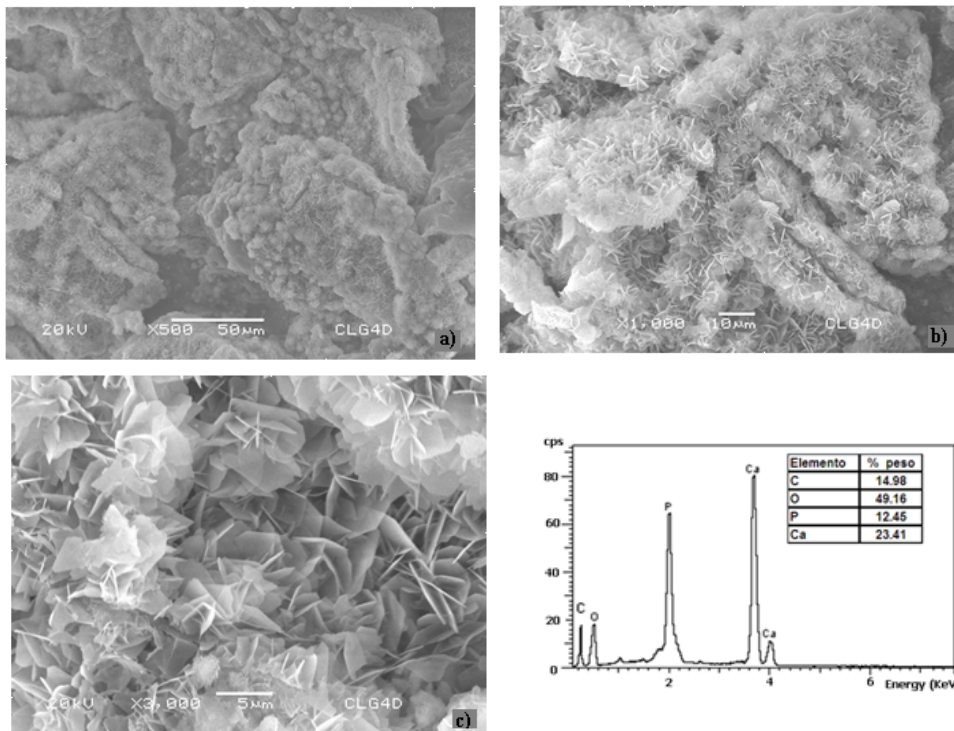


Figura 1. Muestra de colágeno con 4 días de inmersión en el fluido fisiológico simulado con una amplificación de 500 ,1000 y 3000 X (a-b). c) Análisis químico elemental

CONCLUSIONES

Por medio del análisis por Difracción de Rayos X, Espectrometría de Infrarrojos, Energía de Dispersión de Rayos X y Microscopia Electrónica de Barrido se confirma el crecimiento del biomaterial hidroxiapatita sobre la estructura del colágeno tipo I utilizando el método biomimético con un tiempo de 4 días para el total recubrimiento del colágeno.

REFERENCIAS

1. José Luís Gómez Ortega, Nora Elizondo Villarreal, Héctor Martín Guerrero Villa, Facultad Ciencias Físico Matemáticas-UANL, Visualización Cristalográfica de la hidroxiapatita, pag.46-50
2. Black J. Biocompatibility: Definitions and Issues en Biological Performance of Materials. New York: Dekker, 1992: 3.
3. Williams D. Definitions in Biomaterials. Amsterdam: Elsevier, 1987.