

Caracterización química de membranas de colágeno para la regeneración guiada de hueso

S.L. Gómez-Castellanos¹, L.J. Villarreal-Gómez^{1,2}, T. Ng³, R. Vera-Graziano⁴, A.L. Iglesias¹, E. Serena-Gómez⁵

¹ Escuela de Ciencias de la Ingeniería y Tecnología, Universidad Autónoma de Baja California, Tijuana, México

² Facultad de Ciencias Química e Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California, Tijuana, México

³ Oakland Oral and Maxillofacial Surgery, Oakland, California, United States.

⁴ Instituto de Investigaciones en Materiales, Universidad Nacional Autónoma de México, D. F., México

⁵ Centro de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Baja California, Tijuana, México.

Resumen- Uno de los principales problemas que se presentan en una cicatrización adecuada de una intervención quirúrgica es la tardada regeneración ósea en la cavidad bucal, los productos usados son membranas reabsorbibles pero hasta el momento no existe producto en el mercado que pueda ser tolerado por la cavidad oral. Dichas membranas son necesarias durante todo el proceso de cicatrización. Sin embargo, la exposición oral tiene como consecuencia una rápida degradación y falla del implante. Es por eso que es necesario diseñar membranas capaces de reabsorberse y que estén presentes en la herida durante todo el proceso de cicatrización. El objetivo del proyecto es el caracterizar químicamente membranas comerciales de colágeno reabsorbibles auxiliares en la cicatrización de heridas quirúrgicas en la cavidad oral. Para este fin, se utilizaron las siguientes técnicas DSC, TGA, FTIR, y SEM. El espectro infrarrojo fue semejante al colágeno manteniendo los grupos funcionales principales. La temperatura de fusión es 116.65°C. Los resultados servirán para el diseño y mejoramiento de las membranas de colágeno.

Palabras clave.- Caracterización química, fijación de fracturas óseas, membrana reabsorbible de Colágeno.

I. INTRODUCCIÓN

Para resolver una fractura de hueso, en la actualidad se cuentan con dispositivos como placas, agujas intramedulares, tachuelas y tornillos metálicos, a estos dispositivos se les conoce como Implantes de Fijación de Fracturas, y sirven para estabilizar los fragmentos de hueso en su sitio correcto durante el proceso de reparación ósea. Actualmente, se sabe de las ventajas que representan el uso de Dispositivos de Fijación Metálica Estándar (DFME) en las primeras etapas de la reparación ósea, sin embargo, este tipo de implantes presentan problemas en etapas posteriores. Se sabe que es necesario estabilizar el sitio de fractura para lograr una vascularización temprana, para esto, el actual uso de DFME hechos de oro han resultado muy adecuados gracias a su inherente fuerza y rigidez, ya que estas características proveen de la fuerza necesaria al inicio de la implantación [1].

Por otro lado, el uso de Implantes Biodegradables (IB) puede tener mayores ventajas en comparación con los DFME, ya que estos cumplen con los requisitos de carga del hueso, controlando la cantidad y tiempo de degradación del implante, lo que a su vez puede controlar la rigidez de la estructura, es decir que, es posible fabricar implantes hechos a la medida para satisfacer las necesidades de transferencia de carga del nuevo hueso que se está formando. La mayoría de los IB son de origen polimérico y no pueden cumplir con los criterios de fuerza antes mencionados, esto a causa de las bajas propiedades mecánicas intrínsecas de los polímeros, es por esta razón, que los implantes poliméricos no pueden ser fabricados con geometrías compactas como sus contrapartes metálicas, además de que, la fijación es problemática especialmente en los sitios de acceso restringido o en superficies pequeñas, por lo que se ha llegado a la conclusión de que la baja fuerza inicial requerida es la razón por la cual los implantes poliméricos biodegradables no pueden ser utilizados como dispositivos de fijación de fracturas en huesos que soportan peso y el uso de esta estrategia tiene que seguir siendo mejorada y estudiada [1].

Las membranas reabsorbibles para regeneración ósea son de colágeno o capas de PGA/LA, sin embargo, los productos actualmente disponibles en el mercado no pueden ser tolerados en la cavidad oral. La exposición oral resulta de una rápida degradación y falla del implante, muchas de las membranas se infectan y provocan una significativa inflamación. Por lo que las membranas de colágeno son más adecuadas, ya que a estas no se les ha asociado infección ni inflamación [2].

Por lo tanto, en este trabajo se realizó la caracterización química de membranas de colágeno comerciales para la fijación de fracturas óseas, con el objetivo de tener parámetros de referencia, que servirán para el mejoramiento en el tiempo de

degradación de las membranas y la resistencia a las condiciones de la cavidad oral.

II. METODOLOGÍA

Muestras

Las membranas fueron donadas por una casa comercial, y fueron utilizados para su caracterización sin ninguna modificación.

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Las muestras fueron evaluadas en el equipo TA instruments DSC Q100, se utilizó una velocidad de calentamiento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, en un intervalo de temperatura de 0°C hasta los 250°C y en una atmósfera de nitrógeno. El termograma fue analizado por el software TA Universal Analysis [3].

Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico se realizó para determinar la pérdida de masa del colágeno en función de la temperatura, para observar su proceso de descomposición. El termograma fue analizado por el software TA Universal Analysis [3].

Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)

Espectroscopia de infrarrojo por la transformada de Fourier por reflectancia total atenuada se empleó un equipo ATR-Thermo Scientific Nicolet 6700. Los espectros se obtuvieron en el intervalo de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ [3].

Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Los estudios de microscopia electrónica de barrido se llevaron a cabo para observar la morfología y homogeneidad de las membranas [3].

III. RESULTADOS

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

En la figura 1 se puede observar que la temperatura de fusión es de 116.65°C .

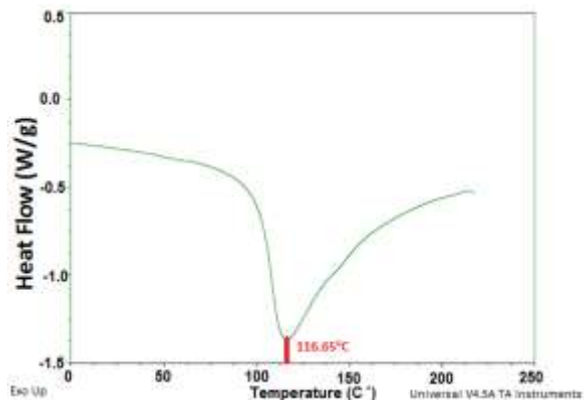


Figura 1. Termograma del DSC de membrana de colágeno Tipo I.

Análisis Termogravimétrico (TGA)

Los resultados de los termogramas realizados a la membrana con la técnica de TGA mostraron que a los 50°C las moléculas de agua empiezan a evaporarse cuya masa representa el 11.90% de la masa total, la temperatura de degradación del colágeno tipo I es aproximadamente a partir de los 210°C , el resto de la masa se termina de degradar aproximadamente a los 580°C dejando un residuo del 23.48% (figura 2).

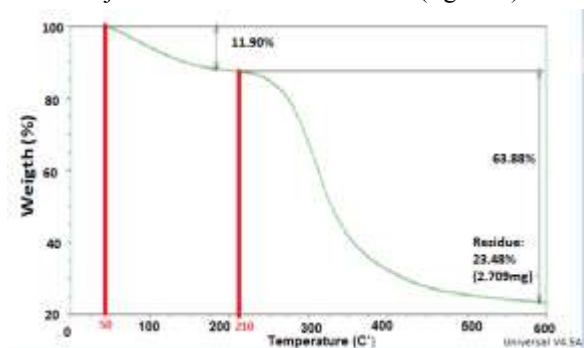


Figura 2. Termograma del TGA de la membrana de Colágeno tipo I.

Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)

Se muestra el espectro infrarrojo obtenido para caracterizar la membrana, se observa que los grupos funcionales mostrados concuerdan con los espectros de referencia en la literatura (figura 3) [4].

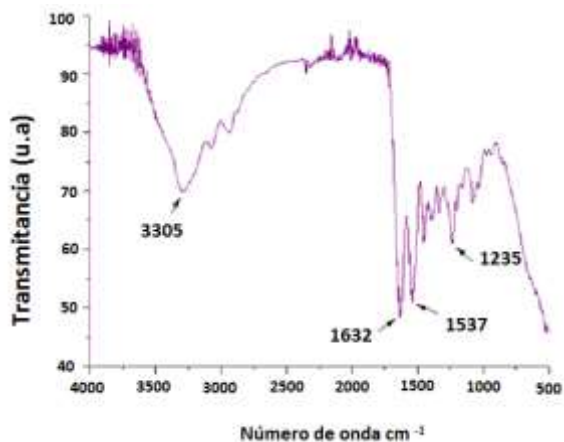


Figura 3. Espectro infrarrojo de la membrana de colágeno tipo I.

La banda de vibración en el número de onda 3305 cm^{-1} se asocia a la Amida A (N=H), en 1632 cm^{-1} a la amida I (C=O), en 1537 cm^{-1} a la amida II (C-N, N-H) y en 1235 cm^{-1} a la amida III (C-N, N-H), que corresponden a las vibraciones de los grupos funcionales del colágeno.

Esto da evidencia que la membrana caracterizada es de colágeno.

Microscopia electrónica de barrido (SEM)

En la figura 4 se observa que la membrana está formada por colágeno tipo I, debido a la morfología tipo anillada de las fibras de triple hélice, la cual es característica del colágeno tipo I [5] y otro componente no identificado ya que la diferencia de color en la imagen indica una variación de densidad del material.

Las fibras que corresponden a colágeno tipo I, están entrecruzadas de manera irregular.

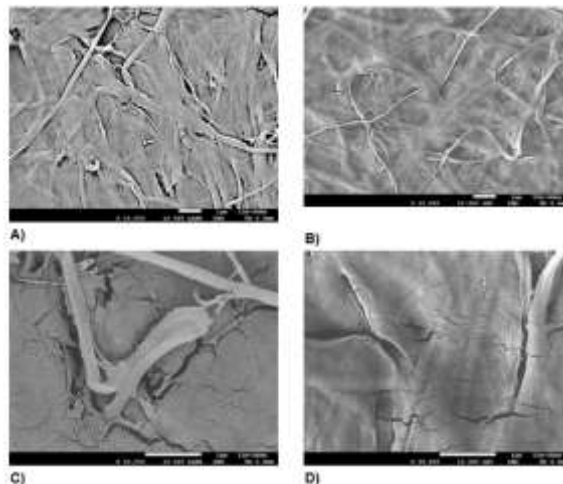


Figura 4. Micrografía de la Membrana de Colágeno Tipo I: A) Membrana de Colágeno (electrones retrodispersados) (10,000 x). B) Membrana de Colágeno (electrones de baja energía) (10,000 x). C) Fibras de colágeno Tipo I (electrones retrodispersados) (25,000 x). D) Fibras de Colágeno Tipo I (electrones de baja energía) (25,000 x)

IV. DISCUSIÓN

El propósito de este trabajo fue el caracterizar químicamente membranas de colágeno reabsorbibles para la fijación de fracturas óseas provenientes de una casa comercial. Esto con el objetivo de crear estrategias y formulaciones que nos permitan diseñar membranas propias pero con una mejor tasa de degradación y resistencia a la exposición oral. Aunado a las pruebas químicas también se están realizando pruebas mecánicas y biológicas. El interés de la casa comercial en este tipo de estudios es poder tener información relevante acerca de sus productos. Los resultados obtenidos en esta investigación nos permitirán tener valores de referencia que nos sirvan para determinar los criterios que deben permanecer en las membranas, cuando se realicen las modificaciones a los sistemas.

En lo que respecta a los resultados obtenidos, el termograma DSC para evaluar la temperatura de fusión de las membranas, nos arrojó un valor de 116.65°C , la cual es una temperatura mucho más elevada a la encontrada en la literatura que es de 73.4°C [6]. Sin embargo, se tiene la idea de que sea causado por la presencia del otro componente que nos es desconocido. Por otro lado, el análisis termogravimétrico arroja como resultado que la temperatura de degradación comienza a los 210°C y

esta termina aproximadamente a los 580°C dejando un residuo del 23.28% de masa. La temperatura de degradación referencia corresponde a 324.7°C [7]. En lo que respecta al espectro FTIR corresponde al espectro de referencia de colágeno tipo I reportados en trabajos previos [4]. Finalmente, como se puede ver en la figura 4, en la membrana se visualiza la estructura anillada y de triple hélice del colágeno y el acomodo irregular de las fibras que se observan también en las imágenes de referencia [5]. Todos estos resultados, dan evidencia que las membranas están compuestas de colágeno tipo I.

V. CONCLUSIÓN

El objetivo del proyecto fue caracterizar químicamente membranas comerciales para fijación de fracturas óseas, los cuales fueron donadas por una casa comercial, esto con el propósito de obtener valores de referencias, los resultados servirán para el diseño y mejoramiento de las membranas reabsorbibles ya que se pretende modificar la morfología y porosidad de las membranas para aumentar la tolerancia de estas en la cavidad oral y disminuir el riesgo de infecciones, después de llevar a cabo estas modificaciones se pretende realizar la misma caracterización y comparar las alteraciones de las propiedades químicas de las membranas.

RECONOCIMIENTOS

Los autores agradecen a la Maestría y Doctorado de Ciencias Químicas e Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California, MYDCL-UABC. DGAPA-UNAM: IN108913 y CONACYT: CNPq-174247.

IV. REFERENCIAS.

- [1] E. Aydin, V. Hasirci, "Biodegradable Hard Tissue Implants", *Journal of Siberian Federal University. Biology*. Vol. 1, pp. 3-17, 2010.
- [2] S.H. Teng, E.J.Lee, P. Wang, D.S Shin and H.E.Kim. "Three-Layered Membranes of Collagen/Hydroxyapatite and Chitosan for Guided Bone Regeneration", *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. DOI: 10.1002/jbm.b.31082, 2008.
- [3] R. Vera-Graziano, A. Maciel-Cerda, E.V. Moreno-Rondon, A. Ospina, E.Y. Gomez-Pachon, "Material Research Society Symposium Proceedings." 1373, DOI: 10.1557/opl.2012.274, 2012.
- [4] A.Navarro, "Obtención de andamios por electrohilado de poli ácido láctico y colágena de dentina de bovino", 63-103, 2014.
- [5]. J. Prockop y N. A. Guzmán. "El colágeno" Dr. Doctores D, *Tiempos médicos*, No. 191, 1991.

[6] Zhang et al, "Prep. Of cellulose/ collagen films". *BioResources*, 9(1), 756, 2014.

[7] Z.Zhang, L. Guoying, B. Shi, "Physicochemical properties of collagen gelatin and collagen hydrolysate derived from bovino lamed split wastes", *Journal of the Society of Leather Technologists chemists*, Vol. 90, 23, 2001.