



Morfologia e propriedades do compósito de Microcristalina Chitosana e fosfato de cálcio para regeneração de tecido ósseo

Dr. NSc. Eng. Luciano Pighinelli*, Ph.D.Eng. Magdalena Kucharska

Institute of Biopolymers and Chemical Fibers – IBWCh, Skłodowskiej-Curie 19/27, 90-570 Lodz, Poland.

*Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), pós graduação em engenharia de materiais (PPGEMPS), Campus Canoas.

INTRODUÇÃO

Reparação ou regeneração óssea é um problema clínico comum e complicado em cirurgia ortopédica. Todos os anos, milhões de pessoas sofrem decorrentes de doenças ósseas provenientes de traumas, tumores, fraturas e/ou defeitos, e infelizmente, algumas delas estão morrendo devido à insuficiente substituto ósseo ideal que garanta a boa substituição e a funcionalidade do tecido substituído. Os biomateriais sintéticos ou naturais têm sido muito utilizados no desenvolvimento de novos produtos na área de engenharia de tecidos, muita atenção está sendo dada a quitosana e seus derivados, em aplicações biomédicas devido a sua alta biocompatibilidade e bioatividade, por exemplo, na formação de novos tecidos em tratamento regenerativo. A compatibilidade do tecido formado, biofuncionalidade e demais propriedades fazem a quitosana e seus derivados um material ideal para a regeneração do tecido.

A quitosana é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, depois da celulose. Dependendo da fonte de quitina e os métodos de hidrólise, a quitosana varia grandemente no seu peso molecular (Mw) e do grau de desacetilação (DD). Outro material ideal para ser usado na aplicação médica é o fosfato de cálcio, o principal componente inorgânico em tecidos duros de mamíferos com uma excelente biocompatibilidade, bioatividade e similaridade ao osso natural. Estes substratos ou suportes podem dar dois mecanismos para melhorar a regeneração:

1 - dar apoio permissivo para a migração, adesão celular e crescimento;

2 - como um veículo para a liberação controlada de fármacos que promovem o crescimento e sobrevivência de células durante a regeneração.

Para melhorar as aplicações da quitosana e seus derivados para a engenharia de tecido ósseo, os biocompósitos de quitosana microcristalina e fosfato de cálcio podem ser aplicados.

O objetivo deste trabalho é a preparação e caracterização de quitosana microcristalina / β -TCP formando um complexo e compósitos com hidroxiapatita em forma de esponja, o estudo da estrutura e morfologia por MEV, o estudo de tamanho de partículas, difração de Raios-X para cristalinidade e interação química por FTIR para verificar a presença de grupos de características funcionais no HAp, β -TCP e MCCh.

Materiais e métodos

Materiais

MCCh/ β -TCP complexo (MCCh = 80% e β -TCP= 20%), caracterizado: retenção de água (WRV) = 560%, polímero = 3,25 %, umidade 12,06%, pH=7,40.

Hidroxiapatita- (HAp) - $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$ - Sigma Aldrich Lab., Alemanha.

Tri-fosfato de cálcio (β -TCP), $(Ca_3(PO_4)_2)$ - Sigma Aldrich Lab., Alemanha.

Ácido clorídrico, 37,8% p.a., Fluka, Alemanha

Plastificante -Glycerol ($C_3H_8O_3$) 99%, p.a., Sigma-Aldrich, Alemanha.

Métodos

A)Preparação

- Preparação da MCCh/ β -TCP complexo - gel-like dispersão de acordo com o método elaborado pelo Institute of Biopolymers and Chemical Fibers, Poland Patent Application P 393758, Priority Date 27.01.2011.

-Preparação do compósito - pelo método de freeze-drying.

Compósito : MCCh/ β -TCP complexo (1 W.p-%, amostra seca), HAp (1 W.p-%), Glycerol (1 W.p-%)

→ Freeze drying →

Compósito MCCh – 26,7 % β -TCP – 6,7 % HAp – 33,3 % Glycerol – 33,3 %

-Preparação dos compósitos pelo método de freeze-drying, na forma de esponjas,

B) Métodos analíticos

- SEM (morfologia) – FEI Quanta 200, USA.

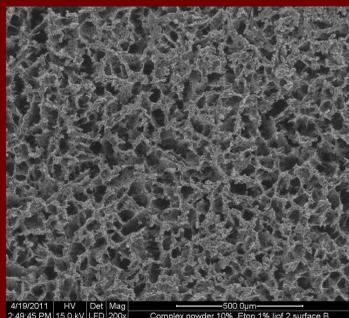
- Determinação do tamanho de partículas nos fosfatos de cálcio HAp and β -TCP em forma de pó - particles sizer, Sympatec Hellos H1330, type BF (sympatec GmbH, Clausthal, Alemanha).

- Difração WAXS. Ambos fosfatos de cálcio HAp and β -TCP foram alocados entre dois filmes de polipropileno e escaneados pelo WAXS-scan no modo de transmissão. Parâmetros de ajustes: radiação X-ray – $CuK\alpha$ -doublet, non-monochromatic B-portion suppressed by Ni-filter, Modo de operação – Transmissão Anode Voltage – 40kV, Tube current – 40mA, Step width – 0,0250, Scan rate – 5 sec/step, Aperture slit 1mm, Anti-diffusion slit 1mm, Detector slit 1mm.

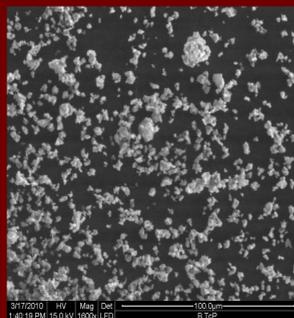
-Espectrofotômetro infravermelho - 500 to 4000 cm^{-1} , resolução 4,0 cm^{-1} , Spectrum Genesis Series. As amostras foram preparadas para análise com KBr, na forma de pastilhas.

RESULTADOS

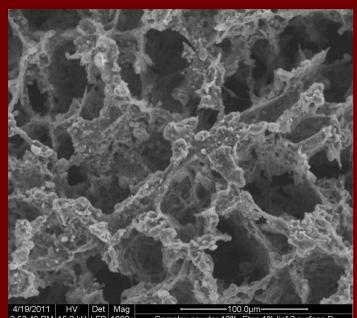
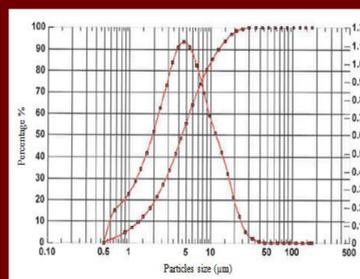
O objetivo da investigação por SEM é de verificar a interação e distribuição entre fase orgânica e inorgânica na preparação das esponjas.



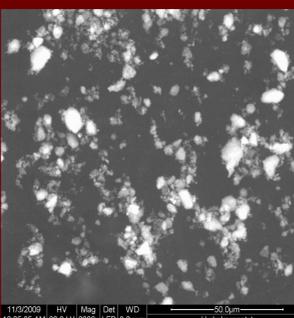
SEM fotos superfície compósito da esponja (MCCh – 32,00%, β -TCP – 8,00%, HAp – 26,66%, Glycerol – 33,33%), 200X.



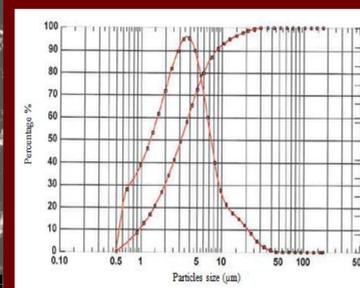
SEM fotos morfologia do β -TCP, 1600x



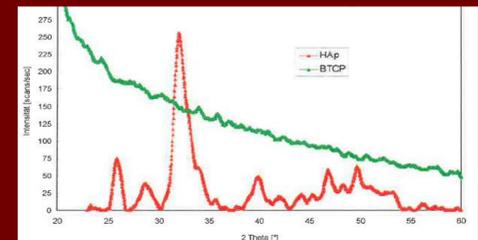
SEM fotos superfície compósito (MCCh – 32,00%, β -TCP – 8,00%, HAp – 26,66%, Glycerol – 33,33%), 1000X



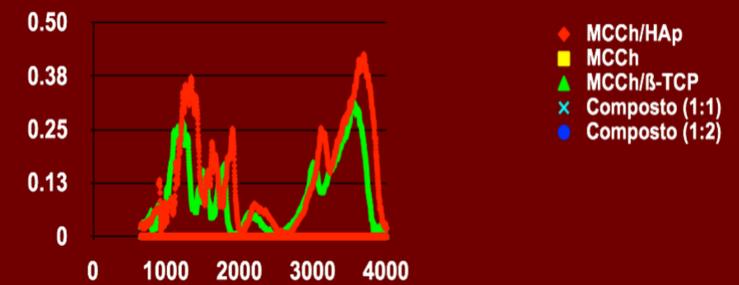
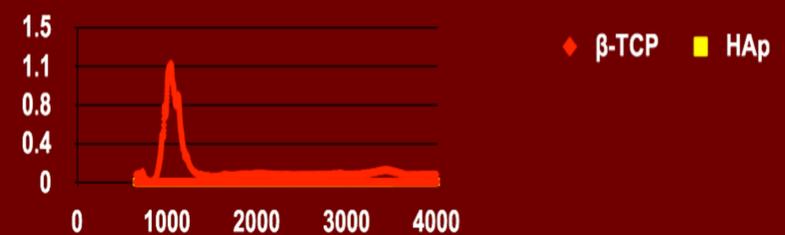
SEM fotos morfologia do HAp, 2000x



Difração raio-X - Objetivo é confirmar fase cristalina e amorfa dos fosfatos de cálcio HAp, β -TCP.



FTIR dos compósitos de MCCh/ β -TCP complexo e HAp



CONCLUSÃO

- 1) O estudo de FTIR dos compósitos confirmam a presença dos grupos funcionais característicos da quitosana, HAp e β -TCP.
- 2) A difração de Raio-X dos fosfatos de cálcio uma considerável parte amorfa no HAp entre $100 < 2\theta < 200$, o β -TCP mostrou-se completamente amorfo.
- 3) O estudo de SEM e análise de tamanho de partículas mostram uma diferença significativa da morfologia do grão entre HAp e β -TCP sendo este ultimo de formato mais esférico. Ambos fosfatos de cálcio apresentam uma grande facilidade de adsorção de água e forte tendência a aglomeração, o tamanho médio de partícula do β -TCP 12,78 e do HAp 8,81 μm .
- 4) A preparação dos compósitos de (MCCh / β -TCP complexo) /HAp / glycerol na forma de esponjas apresentam uma estrutura de forma 3D-dimensional com poros interconectados, que podem ser utilizados no futuro como base no desenvolvimento e produção de implantes. A distribuição do fosfato de cálcio na matriz polimérica se mostra homogênea e com pouca tendência a aglomeração.

AGRADECIMENTOS

Marie-Curie Step-ITN (FP-7), IBWCh- Institute of Biopolymers and Chemical Fibers and TITK- Thuringian Institute of Textile and Plastics Research, Rudolstadt-Germany)

REFERÊNCIAS

- 1) Oktay YILDIRIM, Preparation and Characterization of Chitosan /Calcium Phosphate Based Composite Biomaterials, Master Of Science Dissertation, zmir Institute of Technology zmir, Turkey, August, 2004.
- 2) Rumi Fujita, Atsuro Yokoyama, Yoshinobu Nodasaka, Takao Kohgo, Takao Kawasaki. Ultrastructure of ceramic-bone interface using hydroxyapatite and B-tricalcium phosphate ceramics and replacement mechanism of B-tricalcium phosphate in bone, Tissue & Cell 35 (2003) 427–440.
- 3) Jue-Yeon Lee, Sung-Heon Nam, Su-Yeon Im, Yoon-Jeong Park, Yong-Moo Lee, Yang-Jo Seol, Chong-Pyoung Chung, Seung-Jin Lee. Enhanced bone formation by controlled growth factor delivery from chitosan-based biomaterials, Journal of Controlled Release 78 (2002) 187–197.
- 4) Niekaszewicz A., Kucharska M., Wisniewska-Wrona M., Wesolowska E., Struszczyk H., Chitosan in medical application., ed., Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives, PTChit. 2004, vol. X, p.13-17.
- 5) D. Skritic, J. M. Antonucci and E. D. Eanes. Amorphous Calcium Phosphate-Based Bioactive Polymeric Composites for Mineralized Tissue Regeneration, Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology, Volume 108, Number 3, May-June 2003.
- 6) Struszczyk H. M., The effect of the preparation method on the physicochemical properties of microcrystalline chitosan (MCCh), ed., Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives, PTChit. 2003, vol. IX, p.179-186.