

DESENVOLVIMENTO DE ARCABOUÇO DE HIDROXIAPATITA, QUITOSANA E RANELATO DE ESTRÔNCIO PARA UTILIZAÇÃO COMO ENXERTO ÓSSEO.

LIMA, Jader L. M.^{1a} IC; TAVARES, Debora S.²; RESENDE, Cristiane X.^{1b}.

^{1a} Universidade Federal de Sergipe (UFS), Departamento de Ciência e Engenharia de Materiais (DCEM), São Cristóvão, Sergipe, jaderlima47@hotmail.com

^{1b} Universidade Federal de Sergipe (UFS), Departamento de Ciência e Engenharia de Materiais (DCEM) São Cristóvão, Sergipe, cristianexr@gmail.com.

² Universidade Federal de Sergipe (UFS), Departamento de Educação em Saúde (DESL), Lagarto, Sergipe, tavaresdebora@gmail.com

RESUMO

A crescente demanda por materiais que possam regenerar defeitos ósseos- provenientes de doença, como a osteoporose ou traumas- tem estimulado o desenvolvimento de arcabouços compósitos. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi sintetizar e caracterizar arcabouços constituídos por quitosana (Ch), hidroxiapatita (HA) e ranelato de estrôncio (SrR), fármaco utilizado no tratamento da osteoporose. Arcabouços com e sem SrR foram produzidos pelo método de liofilização. Pela análise de DRX pôde-se confirmar a presença dos principais picos da HA pura, esses resultados corroboram os de FTIR, que indicaram a presença dos grupamentos de fosfato e hidroxila. Em relação a quitosana, observou-se, por DRX, um halo em torno de 20°, característico do polímero. A presença do SrR foi identificada na estrutura do arcabouço através da técnica de DRX. Por fim, pode-se afirmar que a metodologia utilizada na síntese dos arcabouços carreadores de SrR foi eficaz, propiciando a obtenção de uma estrutura tridimensional porosa.

PALAVRAS-CHAVE: Arcabouços, Hidroxiapatita, Quitosana, Ranelato.

1. INTRODUÇÃO

A engenharia tecidual óssea busca, entre outras finalidades, desenvolver materiais específicos, arcabouços tridimensionais, capazes de regenerar defeitos ósseos. Esses arcabouços podem ser constituídos pela combinação de materiais cerâmicos e poliméricos, gerando um material compósito, e devem apresentar os seguintes atributos: biocompatibilidade, estrutura porosa que favoreça a proliferação e penetração dos osteoblastos (células responsáveis pela síntese de componentes orgânicos da matriz óssea) e biodegradabilidade compatível com a taxa de neoformação óssea^{1,2,3}.

Dentro dessa proposta, a busca por arcabouços que possam atuar minimizando os problemas decorrentes da osteoporose tem impulsionado o desenvolvimentos de várias pesquisas⁴. Isso se deve ao fato dessas doenças acometerem a população idosa em todo mundo, ocasionando perda óssea generalizada ou localizada, o que impacta diretamente na sua mobilidade e influencia na sua qualidade de vida, uma vez que um dos principais sintomas são as dores ósseas^{5,6}.

No tratamento da osteoporose destaca-se o medicamento ranelato de estrôncio, que atua tanto no aumento de massa óssea quanto na redução da reabsorção óssea^{7,8}. Estudos analisaram a eficácia do ranelato de estrôncio em meios de cultura, assim como a sua quantidade mais eficiente para o sucesso do tratamento. Querido & Farina (2013)⁸ utilizando o medicamento em meios de cultura durante o cultivo de osteoblastos por 28 dias, observaram que com uma concentração de ranelato de estrôncio de 0,5 mM, os osteoblastos obtiveram resultados mais significativos na mineralização e formação da matriz óssea, compatível com estudos in vivo.

A matriz óssea é composta por aproximadamente 70% de HA e 30% de colágeno. Devido a essa similaridade com a parte mineral óssea, a HA foi selecionada como constituinte do arcabouço nesse trabalho. A quitosana (Ch), usada como parte orgânica, tem se destacado como biomaterial, devido as suas propriedades como biocompatibilidade, moldabilidade e também por ser considerada um dos polissacarídeos mais abundantes, perdendo apenas para a celulose. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi sintetizar e caracterizar um biomaterial na forma de arcabouço 3D contendo quitosana, hidroxiapatita e ranelato de estrôncio (ChHASrR) para a terapia de perdas ósseas.

2. METODOLOGIA

Síntese da Hidroxiapatita

A HA foi sintetizada através do método de precipitação por via úmida. Como fonte dos íons de cálcio e fosfatos foram utilizadas soluções de hidróxido de cálcio (0,1 M) e de ácido fosfórico (0,059 M), respectivamente. A razão molar cálcio/fosforo foi mantida em 1,67, a temperatura de síntese foi de 70°C e o pH=10. O material obtido permaneceu sob digestão durante 3 horas e, posteriormente, o mesmo foi filtrado e seco a 100 °C.

Obtenção dos arcabouços

Para obtenção dos arcabouços sem ranelato, a HA foi dispersa numa solução polimérica de quitosana (2% m/v), sendo que a proporção mássica foi de 50:50. Posteriormente, a solução resultante foi colocada em moldes, congelada em ultrafreezer a temperatura de - 80°C e liofilizada por 48 horas. Os arcabouços com adição do SrR foram produzidos através da mesma metodologia descrita anteriormente, porém com adição de 0,5 mM do ranelato de estrôncio (Protos - Servier®). Todos os arcabouços, com e sem ranelato, foram neutralizados com solução de NaOH (1 M) e, em seguida, lavados com água destilada. Posteriormente foram imersos, individualmente, em 2 mL de solução de tripolifosfatos de sódio 1% (m/v) por um período de 3 horas a 37°C para promover a reticulação. Após o tempo pré-estabelecido, as amostras foram lavadas com água destilada, congeladas em ultrafreezer (-80°C) por 24 horas e, por fim, liofilizadas novamente por 24 horas.

Caracterizações físico-químicas

A análise por difratograma de raios X (DRX) foi utilizada para identificar as fases cristalinas das amostras na forma de pó e dos arcabouços. Para isso, usou-se a fonte de radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$), operando em 30 kV/ 30 mA. As medidas foram realizadas em modo contínuo com velocidade de varredura de 2°/minuto em uma faixa de 5-50°. A técnica de Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para identificar os modos vibracionais dos grupamentos químicos da amostra, presentes na matéria-prima utilizada e nos arcabouços, na forma de pastilhas de KBr, em uma faixa de varredura de 400 a 4000 cm^{-1} . Para a caracterização morfológica dos arcabouços utilizou-se um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

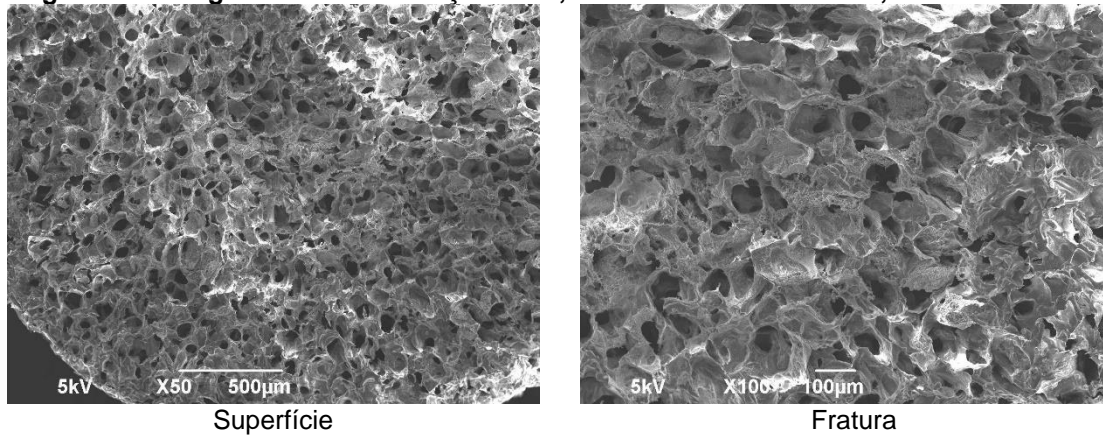
Os principais picos do difratograma da HA foram identificados e correspondem aos planos (002), (211), (112), (300) em valores de 2θ igual a: 26,1°; 31,9°; 32,2° e 33,2°, respectivamente. Nenhuma fase secundária foi detectada, ou seja, todos os picos encontrados estão de acordo com a ficha cristalográfica da mesma (JCPDS 09-0432). O espectro no infravermelho da HA apresenta uma banda em 3500 cm^{-1} referente a OH^- , uma banda discreta em 2006 cm^{-1} correspondente à água, em 1682 cm^{-1} , 1500 cm^{-1} e 1217 cm^{-1} , observam-se bandas compatíveis aos diferentes modos de vibração do PO_4^{3-} e finalmente em 899 cm^{-1} , a banda compatível com o carbonato, e com a identificação destas bandas se comprova a presença da hidroxiapatita.

O difratograma da quitosana apresenta um halo amorfo em torno de 20° e um padrão amorfo. No espectro de infravermelho, é possível observar alguns grupamentos característicos da quitosana: amida I (1654 cm^{-1}), $-\text{CH}_3$ ou $-\text{CH}_2$ (2875 cm^{-1}), carboxílico (1417 cm^{-1}), amino (1575 cm^{-1}), C-O (1041 cm^{-1} e 894 cm^{-1}), C=O (2356 cm^{-1} e 1029 cm^{-1}) e, por fim, uma banda mais larga em torno de 3289 cm^{-1} atribuída a hidroxila. Em relação a caracterização do SrR, observou-se pela análise de DRX, que os principais picos característicos dessa fase (10°, 20° e 24°) foram detectados. Pelo espectro de FTIR, pode-se notar a presença do estiramento do C=O (3122 cm^{-1} e 1620 cm^{-1}) e da amida (1317 cm^{-1} e 1043 cm^{-1}), bem como outra banda bem significativa em 1089 cm^{-1} , atribuída ao ranelato de estrôncio em estudo anterior.⁹

No que se refere a caracterização dos arcabouços por DRX e FTIR, foi possível observar picos característicos da HA, do ranelato e do polímero (dados de DRX). Já com a análise de FTIR, notou-se a presença de bandas referentes aos três componentes (SrR, Ch e HA). Pode-se observar a presença de poros na estrutura dos arcabouços, tanto nas micrografias de superfície quanto de fratura de ambos os arcabouços, visto que durante processo de liofilização a água é retirada por sublimação, ou seja, a água passa do estado sólido para o gasoso, formando poros. A presença de poros no interior do arcabouço garante a penetração das células e o fluxo de nutrientes, porém ressalta-se que a interconectividade é um fator importante também.¹⁰ Ao se comparar as micrografias dos arcabouços com e sem ranelato de estrôncio, tanto da região de superfície quanto da fratura,

não se verificaram alterações relevantes na morfologia, ou seja, o arcabouço contendo SrR continua com porosidade adequada, justificado seu uso potencial como um biomaterial para enxerto ósseo.

Figura 1. Micrografias do arcabouço ChHA, em diferentes aumentos, obtidas no MEV.



4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A metodologia utilizada para a preparação dos arcabouços ChHA, bem como daqueles carregados com 0,5mM em massa de ranelato de estrôncio foi eficaz, conseguindo-se obter arcabouços porosos. Ao se comparar os arcabouços não se verificou alterações morfológicas causadas pela inserção do fármaco, comprovando que este tipo de arcabouço apresenta uso potencial como enxerto ósseo. Contudo, ensaios in vitro precisam ser realizados para avaliar o comportamento de células ósseas frente a esse material, bem como teste de liberação do fármaco.

Agradecimentos

Agradecemos a Coordenação de Pesquisa (COPES) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), pela concessão de bolsa de iniciação científica.

5. REFERÊNCIAS

1. Almeida R.D.S., Ribeiro I.Í.D.A., Silva M.H.P.D. et al. Rev. Cienc. Med. Biol. 2014, 13, 331.
2. Oliveira L.S.D.A.F., Oliveira C.S., Machado A.P.L. et al. Rev. Cienc. Med. Biol. 2010, 9, 37.
3. C.X. Resende, Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.
4. Silva G.A.B., Bertassoli B.M., Sousa C.A. et al. JBMR. 2018, 36, 73.
5. E.H.M. Dantas; C.A.S. Santos. Aspectos Biopsicossociais do Envelhecimento e a Prevenção de Quedas na Terceira Idade. Revista Unoesc Ed, Brasil, 2017.
6. H.E. Syddall, M. Evandrou, E.M. Dennison, C.Cooper, A.A. Sayer. Arch Osteoporos. 2012, 7, 37.
7. Loures M.A.R., Zerbini C.A.F., Danowski J.S. et al. Rev. Bras. Reumatol. 2017, 57, s497.
8. Querido W., Farina M. Cell Tissue Res. 2013, 354, 573.
9. Tian A., Zhai J.J., Peng Y. et al. Int. J. Oral Maxillofac. Implants. 2014, 29, 1446.
10. Liu M., Zheng H., Chen J. et al. Carbohydr. Polym. 2016, 152, 832.