

Diseño y evaluación de sustitutos óseos basados en hidroxiapatita, nanopartículas de plata e Immunepotent-CRP

Juan José Martínez Sanniguel, Diana Ginette Zarate Triviño, Rene Hernández Delgadillo, Moisés Franco Molina, Sergio Arturo Galindo Rodríguez, Diana Caballero Hernández Cristina Rodríguez Padilla.

¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México.

² Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México.

Palabras clave: Hidroxiapatita. Plata. Hidrogel. Bioactiva.

Introducción

Los crecientes requisitos de las terapias de regeneración ósea para remediar el trauma, enfermedades degenerativas, rechazo inmunológico, impulsado por un envejecimiento demográfico y agravado por un entorno económico austero representa un desafío para la ortopedia. La hidroxiapatita (HA) formada por cristales de calcio y fosfato, constituye un 70% de la masa ósea de los vertebrados y presenta buenas propiedades como biomaterial al ser biocompatible, bioactiva y osteoconductiva¹. Al añadir un componente antimicrobiano a los biomateriales como las nanopartículas de Plata con reportes de actividad osteogénica hace posible extender su funcionalidad principalmente en aquellas zonas que son susceptibles a infecciones². El sistema inmunológico juega un rol importante en la regeneración ósea. Altas concentraciones de citocinas inflamatorias son potentes inductores de la reabsorción ósea³. El IMMUNEPOTENT-CRP es un extracto dializable de leucocitos de bazo bovino que ha demostrado efectos inmunomoduladores, antiinflamatorios y antioxidantes⁴. El objetivo de este trabajo es obtener un hidrogel de hidroxiapatita-nanopartículas de plata (HA-NPs Ag) para la regeneración ósea en combinación con IMMUNEPOTENT-CRP (ICRP) un extracto dializable leucocitario bovino como un modulador del sistema inmune para favorecer la actividad de osteoblastos.

Parte experimental

Se sintetizó HA con NPs de Ag por el método de co-precipitación. Se determinó la concentración no citotóxica y genotóxica de HA/NPsAg por el método de viabilidad celular MTT, y el ensayo cometa sobre células MG-63. Se diseñaron hidrogeles de Quitosano a base de HA/NPsAg e ICRP, para ensayos de degradación del compuesto mediante la pérdida de peso respecto al tiempo, así como la nucleación de apatita al incubarse distintos periodos en fluido corporal simulado (SBF) analizada por microscopía (SEM). Se midió la liberación de Ca²⁺ hacia el medio por el método de la cresoftaleina por diferentes periodos de tiempo, y se determinó la concentración mínima inhibitoria contra *E.coli*.

Resultados y discusión

Se identificó la presencia de los grupos químicos funcionales y ángulos de difracción característicos de la HA/NPsAg. Las micrografías muestran partículas irregulares de HA con tamaños de 1µm y NPsAg de 20 nm agregadas sobre su superficie. Las partículas de HA/NPsAg permitieron la formación de capas de apatita en su superficie a los 21 días de incubación. Las concentraciones analizadas mostraron poca toxicidad, concentraciones inferiores a 15µg/ml no son citotóxicas ni genotóxicas a las 48hrs de incubación. La concentración de Ca²⁺ liberado fue de 0.330 mmol/mg a los 21 días de incubación. El biocomposito presentó un 500% de hinchamiento a los 30 min de incubación, y a los 30 días presentó un 370% de degradación. Y muestran actividad antimicrobiana contra *E. coli* del 80% a las concentraciones no citotóxicas.

Conclusión

Este biomaterial ha demostrado que induce la mineralización bajo condiciones simuladas de fluido corporal, puede utilizarse como un hidrogel inyectable para la regeneración ósea.

Referencias

1. Zhou, H. and J. Lee, *Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering*. Acta biomaterialia, 2011. 7(7): p. 2769-2781.
2. Qin, H., et al., *Silver nanoparticles promote osteogenic differentiation of human urine-derived stem cells at noncytotoxic concentrations*. International journal of nanomedicine, 2014. 9: p. 2469.
3. Franco-Molina, M., et al., *Bovine dialyzable leukocyte extract modulates cytokines and nitric oxide production in lipopolysaccharide-stimulated human blood cells*. Cytotherapy, 2007. 9(4): p. 379-385.
4. Frost, Anders, et al. "Inflammatory cytokines regulate proliferation of cultured human osteoblasts." *Acta Orthopaedica Scandinavica* 68.2 (1997): 91-96.