

ESTUDIO DE HIDROGELES DE POLI(ACRILAMIDA) Y POLI(ACRILAMIDA-CO-ÁCIDO ITACÓNICO) CARGADOS CON ANTIBIÓTICO Y CON CALCIO

Blanca Rojas de Gáscue^{1*}, Daniel Contreras¹, Arnaldo Ramírez^{1,2}, José L. Prin¹, Henry Astudillo¹, Luisa Rojas¹, Yeliza Figueroa¹, Carlos Palomo³, Alejandro J. Müller⁴ e Issa Katime⁵

1: Universidad de Oriente, Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas "Dra. Susan Tai", IIBCA-UDO, Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela.

2: Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar, Unidad de Estudios Básicos, Ciudad Bolívar, Edo. Bolívar, Venezuela

3: Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" (HUAPA), Unidad de Traumatología, Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela.

4: Grupo de Polímeros USB, Departamento de Ciencia de los Materiales, Universidad Simón Bolívar, Apdo. 89000, Caracas 1080-A, Venezuela.

5: Universidad del País Vasco, Grupo de Nuevos Materiales y Espectroscopia Supramolecular, Facultad de Ciencia y Tecnología, Campus de Leioa, España.

*e-mail: blanca_gascue@yahoo.com

RESUMEN

En este trabajo se obtuvieron hidrogeles (HG) con potenciales aplicaciones en el tratamiento de infecciones óseas, sintetizados a partir de poli(acrilamida) y poli(acrilamida-co-ácido itacónico). Los HG fueron sintetizados y caracterizados para determinar su capacidad de absorción de calcio y de interaccionar con un antibiótico. El grado de hinchamiento de los hidrogeles fue monitoreado en agua desionizada y en sales de calcio. También fue medido su hinchamiento en un antibiótico comercial (Tygacil, Tigeciclina). Se utilizó Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-OES) para analizar las variaciones en la concentración de calcio y los hidrogeles se observaron por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Los resultados obtenidos arrojaron evidencias de una recepción eficiente de los iones Ca^{2+} por parte de los polímeros, especialmente del hidrogel de poli(acrilamida-co-ácido itacónico) sintetizado a partir de una alimentación del 20% de ácido itacónico. El análisis morfológico de la porosidad reveló tamaños de poros que oscilaban entre 200 nm y 1600 nm, en función de la cantidad de ácido itacónico usada en la síntesis del HG. También se detectaron muchos poros interconectados, lo cual es importante porque se ha reportado que la presencia de poros abiertos es necesaria para asegurar una rápida colonización, cuando hay implante, con los vasos sanguíneos y las células óseas.

Palabras Claves: Hidrogeles, Antibiótico, Calcio, Grado de hinchamiento, MEB, ICP-OES.

ABSTRACT

In this work hydrogels (HG) with potential applications in the treatment of bone infections were obtained from poly (acrylamide) and poly (acrylamide-co-itaconic acid). The HG were synthesized and characterized to determine their capacity for calcium absorption and antibiotic interaction. The hydrogels swelling degree was measured in deionized water and in calcium salts solutions. Also it was measured in a commercial antibiotic (Tygacil, Tigeciclina). Inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP-OES) was used to analyze the aqueous calcium solutions. Hydrogels were observed by scanning electron microscope (SEM). Results obtained show evidence of an efficient reception of Ca^{2+} ions by the polymers, especially poly (acrylamide-co-itaconic acid) hydrogels containing 20% of itaconic acid. The porosity morphology revealed pore sizes ranging between 200 nm and 1600 nm, depending of the itaconic acid amount used in the hydrogel synthesis. Moreover interconnected pores were detected, which is important because it has been reported that an open porosity would be necessary to ensure rapid colonization when an implant is considered, with blood vessels and bone cells.

Keywords: Hydrogels, Antibiotic, Calcium, Swelling degree, SEM, ICP-OES.

1. INTRODUCCIÓN

La necesidad de solucionar los deterioros óseos es un problema significativo que enfrenta actualmente la medicina ortopédica, donde los biomateriales, tales como los polímeros, se utilizan cada vez más como ayudantes en la ingeniería del tejido óseo. Por otra parte, los derivados de calcio, son utilizados frecuentemente en la cirugía ortopédica, de manera que tal combinación ha promovido su aplicación como sustitutos óseos,

debido a su buena biocompatibilidad y propiedades de osteo-integración.

Los hidrogeles (HG) son materiales poliméricos consistentes de cadenas macromoleculares entrecruzadas, de manera que forman una estructura que proporciona una matriz porosa ideal para la retención de fármacos [1]. Al comenzar la difusión de un fluido compatible termodinámicamente al interior del HG, ocurre un hinchamiento en el polímero, el cual es la evidencia macroscópica de la transición que ocurre en el HG desde el estado vítreo seco al estado hinchado, evidenciando el relajamiento que ocurre en las cadenas por la presencia del fluido que plastifica el polímero. Cuando el medio de liberación, entra en contacto con el hidrogel las moléculas del fluido acuoso penetran e invaden la superficie del hidrogel, de forma que el fármaco disuelto se difunde hacia el medio externo que lo recibe [2,3].

Polímeros como el poli (metacrilato de metilo) (PMMA) cargado con antibióticos han sido utilizados para el tratamiento combinado de infecciones en artroplastias, osteomielitis y fracturas abiertas en huesos [4]. Los antibióticos cargados en el PMMA (denominado comercialmente cemento acrílico óseo) migran desde la superficie y las microfisuras que funcionan como poros. Se ha reportado que las características de liberación varían, pero a pesar de la rigidez de la matriz, se ha demostrado que se presentan características favorables de elución capaces de tratar las infecciones con altas concentraciones locales de los antibióticos pero que requieren tiempos largos de liberación. En la búsqueda de alternativas con polímeros más porosos, este trabajo presenta polímeros hidrogeles obtenidos a partir de poli(acrilamida) y poli(acrilamida-co-ácido itacónico) sintetizados y caracterizados para determinar su capacidad de absorber calcio e interactuar con un antibiótico comercial.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Los hidrogeles copolímeros de acrilamida (AAm) y ácido itacónico (AI), fueron reticulados con N, N-metilenbisacrilamida sintetizados en proporciones alimentadas de AAm / AI, 100/0, 90/10, 80 /20 y 70/30. El grado de hinchamiento de los hidrogeles se midió en agua desionizada y en soluciones de nitrato de calcio. Se sumergieron los HG también en una solución (5 mg/L) de un antibiótico comercial, denominado Tygacil (Cia. Wyeth), utilizado en algunas intervenciones quirúrgicas en el Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá (HUAPA) de Cumaná, en casos donde el germen involucrado ya es resistente a varios antibióticos. La Tigeciclina es un antibiótico estructuralmente similar a las tetraciclinas (Figura 1), disponible en polvo. La espectrometría de emisión óptica con plasma inductivamente acoplado (ICP-OES) se utilizó para analizar las variaciones en la concentración de calcio. Para ello se preparó una solución de nitrato de calcio (20 mg/l) y en ella se colocó una pastilla seca del gel con 0,1 g de masa, la cual se mantuvo en agitación constante. Transcurrido el tiempo de 24 horas se extrajo el HG de la solución de nitrato de calcio. Se utilizó un espectrofotómetro inductivamente acoplado a un plasma marca Perkin Elmer, modelo optima 5300 DV, con 15 l/min en el flujo de gas argón para el arrastre de la solución de calcio, 0,8 L/min de gas se utilizó para nebulizar la solución de nitrato y cuantificar la cantidad de calcio iónico antes y después de estar en contacto con el hidrogel en la solución. Los HG también se evaluaron mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) (Hitachi S-800).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las concentraciones de calcio absorbido por los polímeros medidos en ICP-OES de las soluciones después de haber estado en contacto con el hidrogel, se presentan en la Figura 2. Los resultados obtenidos indican que el HG de poli(acrilamida-co-ácido itacónico) tiene una eficiente absorción de los iones de calcio (13,69 mg Ca²⁺/g hidrogel), mientras que el de poli(acrilamida) sólo absorbió 3,83 mg Ca²⁺/g hidrogel. La mayor capacidad para captar el calcio de la solución de los hidrogeles de poli(acrilamida-co-ácido itacónico) se explica por la formación de complejos con los grupos ácidos del HG, la cual es promovida por el intercambio entre el calcio (Ca²⁺) en la solución externa y el protón de los grupos -COOH del ácido itacónico en la cadena polimérica [5]. Los grupos al estar ionizados interactúan con los iones calcio que difunden a través de la estructura porosa. En la solución donde estaban presentes los iones de Ca²⁺ el hinchamiento máximo de los polímeros disminuyó, corroborando el entrecruzamiento iónico que ocurre cuando interactúan los iones Ca²⁺ y los grupos hidrófilos del hidrogel [6].

Los HG sumergidos en la solución de antibiótico no revelaron diferencias significativas de peso respecto a su

masa cuando se sumergieron en agua por más de 150 horas (ver Tabla 1); lo cual indicó que el grado de hinchamiento, que determina la capacidad máxima de absorción (M_{∞}) del HG, no había sido afectado por las interacciones hidrogel-antibiótico. Estos resultados revelan que la difusión de la Tigeciclina en los geles está directamente relacionada con la dimensión de los poros. La morfología de los geles de poli(acrilamida) evaluada por MEB reveló tamaños de poro entre 210 nm y 1430 nm, que se incrementaron hasta 6900 nm cuando la AAm se copolimerizó con solo 20% de AI [7].

No obstante, la mayor capacidad de los geles copolímeros de AAm-co-AI para absorber antibiótico, se evidenció no sólo por la cantidad de solución absorbida, sino especialmente por el color remanente de la solución del antibiótico original, la cual se hacía incolora solamente en las soluciones donde se sumergieron los HG de poli(acrilamida-co-ácido itacónico), incluso con los geles de menores concentraciones de AI (10%), mientras que permanecía amarilla cuando se extrajeron los HG de poli(acrilamida) (Figura 3). Estos cambios están relacionados con la afinidad química hidrogel-antibiótico, favorecida por los grupos funcionales del Tygacil (Figura 1), y los grupos carboxílicos provenientes del AI en los copolímeros. Actualmente se están realizando estudios de liberación de este antibiótico y otros como la Gentamicina por parte de estos HG y de otros con MMA, que seguramente ayudarán a discernir las interacciones que dominan las propiedades en estos sistemas [8].

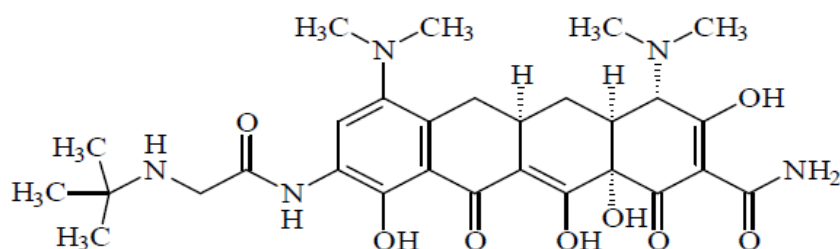


Figura 1. Representación esquemática de la estructura del antibiótico Tygacil donde fueron sumergidos los hidrogeles

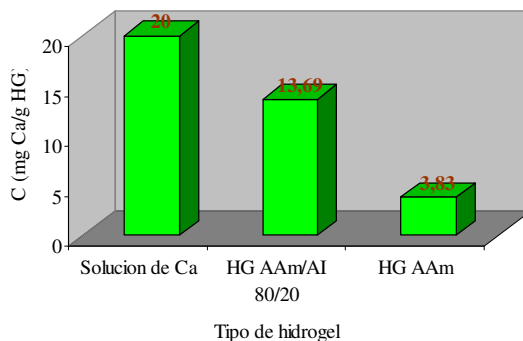


Figura 2. Concentraciones de calcio absorbidas por los polímeros medidas mediante ICP-OES en las soluciones después de haber estado en contacto con el hidrogel.

Tabla 1. Masa de los hidrogeles evaluada en agua y en solución de antibiótico después de estar sumergidos por 168 horas.

<i>Hidrogel</i>	<i>Masa en agua (g)</i>	<i>Masa en Tygacil (g)</i>
HG AAm	1,46	1,29
HG AAm/AI 90/10	3,15	3,62
HG AAm/AI 70/30	5,34	5,73

AAm: acrilamida, AI: ácido itacónico. La masa inicial para todos los hidrogeles evaluados fue de 0,10 g.

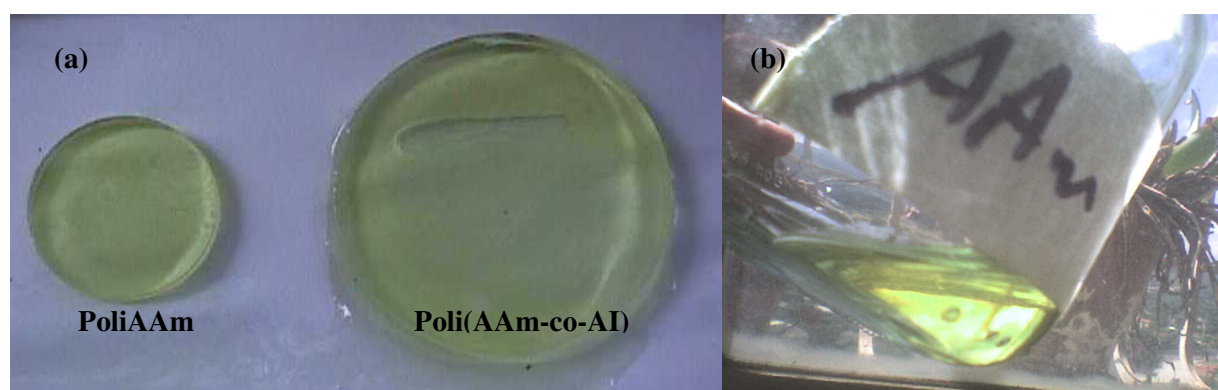


Figura 3. (a) Imagen de los hidrogeles después de estar sumergidos 24 h en la solución de Tygacil (b) Coloración amarilla típica del antibiótico que permanece en la solución remanente donde fueron sumergidos los hidrogeles de poliacrilamida (mientras que la solución donde estuvieron los copolímeros se tornó transparente).

4. REFERENCIAS

- [1]. Bajpai AK, Shukla SK, Bhanu S, Kankane S. Prog. Polym. Sci. 2008 ; 1088–1118
- [2]. Shukla S, Bajpai AK, Bajpai J. Macromol. Res. 2003;11: 273–82.
- [3]. Davidson III GWR, Peppas NA. J. Control. Release. 1986; 3: 243–58.
- [4]. Jaebon T. J Am Acad Orthop Surg 2010;18: 297-305
- [5]. Katime I, Rodríguez E. J. Macromol. Sci. Pure. Appl. Chem. 2001; 38:543-558.
- [6]. Ramírez A, Benitez J, Contreras D, Guzman P, Rojas de Gáscue B. Rev. Iberoam. Polim. 2011; 12(6): 308-316
- [7]. Contreras D. Evaluación de la Capacidad de Absorción y Liberación de Calcio, Fósforo y Fertilizante (NPK) en Hidrogeles de Poli(acrilamida) y Poli(acrilamida-co-ácido itacónico) en suelos ácidos, Tesis de grado. Cumaná (Venezuela): Universidad de Oriente, 2012
- [8]. Moreno R, Rojas de Gascue B, Penott E, Palomo C, Müller A.J. Resultados en proceso aun no publicados

5. AGRADECIMIENTOS.

Se agradece la colaboración e interés de la Unidad de Traumatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (HUAPA) ubicado en Cumaná, Estado. Sucre, Venezuela, en esta investigación científica. También se agradece a la OPSU el financiamiento a través del Proyecto POA PN 15.1/2010 y del proyecto de Fortalecimiento AC-2010-20722 de la UDO. Finalmente se agradece al Consejo de Investigación de la UDO por el financiamiento a través del Proyecto N°: C1-2-040400-1673-10.