

XII Coloquio Venezolano de Polímeros, Universidad de Oriente, Cumana 2007

## CARACTERIZACIÓN DE LA INTERACCIÓN COLÁGENO-HIDROXIAPATITA

**Rodolfo Jesús González-Paz<sup>1</sup>, Ana Marina Ferreira<sup>2</sup>, Karem Noris-Suarez<sup>2</sup>, José Luis Feijoo<sup>1</sup>**

1) Departamento de Ciencia de los Materiales, GPUSB, Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela. Correos electrónicos: [osarsip@gmail.com](mailto:osarsip@gmail.com), [jfeijoo@usb.ve](mailto:jfeijoo@usb.ve)

2) Departamento de Biología Celular, Laboratorio de Bioquímica Clínica y Molecular, Universidad Simón Bolívar (USB). Caracas, Venezuela. Correos electrónicos: [anaferreira81@gmail.com](mailto:anaferreira81@gmail.com), [knoris@usb.ve](mailto:knoris@usb.ve)

### 1. INTRODUCCIÓN

El tejido óseo esta constituido por una fase mineral y una fase orgánica. La fase mineral esta formada por cristales de calcio y fosfato, organizados en la forma cristalina conocida como hidroxiapatita. Alrededor del 70% de la masa del hueso lo constituye el mineral mientras que un 30% lo representa la matriz orgánica, constituida en un 90% por la proteína colágeno. El colágeno pertenece a una familia grande de proteínas, definidas por su capacidad de formar estructuras supramoleculares altamente organizadas en la matriz extracelular de tejidos conectivos. Está conformado básicamente por tres cadenas polipeptídicas, plegadas en forma de una triple hélice, capaz de organizarse en una estructura supramolecular altamente entrecruzada. A pesar de que la estructura y las propiedades del tejido óseo representa uno de los mayores campos de estudio, en la actualidad sigue siendo de interés comprender la interacción de estas estructuras cristalinas con la matriz de colágeno, a fin de poder desarrollar biomateriales cada vez más adecuados y funcionales en el área de prótesis óseas [1]. El objetivo del presente trabajo es caracterizar térmicamente la estabilidad de la matriz de colágeno a diferentes niveles de mineralización del tejido óseo.

### 2. PARTE EXPERIMENTAL

**2.1. Materiales.** Cuatro conejos adultos *New Zealand*, fueron sacrificados. Los fémures y tibias fueron diseccionados de las patas posteriores. Se eliminaron los tejidos blandos y la médula ósea mediante lavados con agua destilada y metanol.

El hueso limpio, se cortó en láminas de aproximadamente 20 mm x 5 mm x 1 mm con un disco de diamante.

**2.2. Procedimiento.** El proceso de descalcificación se llevó acabo empleando una solución de EDTA 0,5 M (ácido etileno diamino tetraacético) a pH 7,5. Las muestras óseas

XII Coloquio Venezolano de Polímeros, Universidad de Oriente, Cumana 2007

fueron sumergidas en la solución, retirando una lámina cada 12 horas. El peso de las láminas fue registrado antes y después de ser sumergidas en la solución, obteniendo de esta forma distintos niveles de contenido mineral en la matriz del biopolímero. La temperatura de desnaturización del colágeno a distintos grados de mineralización, fue determinada empleando un calorímetro *Perkin-Elmer DSC-7*, el rango de estudio fue de 30 a 300°C, a una velocidad de calentamiento de 60 grados/min, las muestras fueron previamente molidas y liofilizadas por 24 horas para eliminar el agua y luego ser encapsuladas en crisoles de Aluminio, con pesos entre 10 - 25 mg.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el diagrama de barras (Figura 1) se observa cómo cada 12 horas el contenido de mineral disminuye gradualmente, mostrando a las 72 horas una pérdida de 52% de la masa inicial, esta perdida de masa se atribuye completamente a la hidroxiapatita.[2]

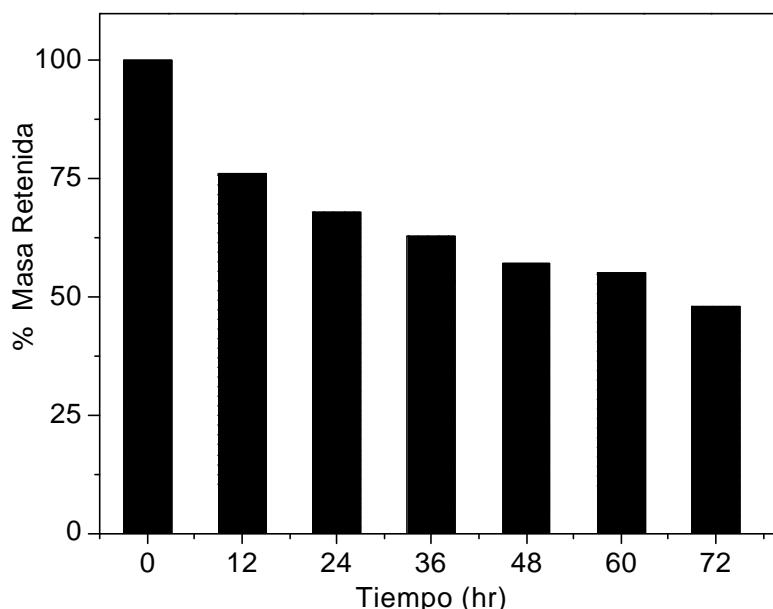


Figura 1. Masa retenida (%) en función del tiempo de desmineralización.

En la Figura 3, se ve claramente que a medida que se elimina el mineral del hueso, la endoterma que corresponde al pico de desnaturización del colágeno en 166°C disminuye hasta 113°C a las 72 horas de tratamiento y además comienza a aparecer una pequeña endoterma relacionada con la degradación del colágeno a 250 que disminuye a 230°C a las 72 horas. Este resultado indica que la triple hélice de colágeno que se encuentra ensamblada

XII Coloquio Venezolano de Polímeros, Universidad de Oriente, Cumana 2007

dentro de la superestructura de la fibra pierde su estabilidad térmica al eliminar las interacciones con la hidroxiapatita que lo rodea [3].

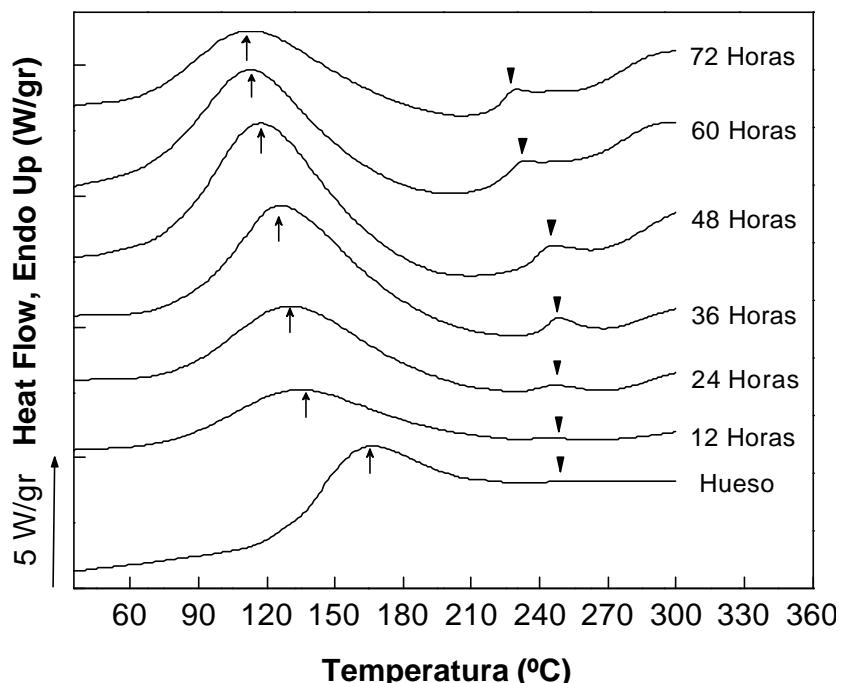


Figura 3. Curvas calorimétricas de hueso y huesos desmineralizados cada 12 horas.

Mediante este estudio se ha demostrado que la pérdida de la fase mineral de hidroxiapatita contribuye a disminuir la estabilidad térmica de la macromolécula de colágeno [4], como consecuencia de la perdida de la interacción entre los cristales de hidroxiapatita y la matriz de colágeno óseo.

**Agradecimientos.** El financiamiento otorgado por el DID-USB a través del programa GID-02 y al Laboratorio de Ciencia e Ingeniería de Materiales, Departamento de Ingeniería, (IVIC).

## BIBLIOGRAFÍA

- 1 Broz JJ, Simske SJ, Greenberg AR, *J. Biomech.*, **28**, 1375 (1995)
2. Noris-Suarez K, Romanello M, Bettica P, Moro L, *Calcif. Tissue Int.*, **58**, 65 (1996)
3. Trebacz H, Wójtowicz K, *Int. J. Biological Macromol.*, **37**, 257 (2005)
4. Noris-Suarez K, Lira-Olivares J, Ferreira A, Feijoo JL, Suarez N, Hernández M, Barrios E, *Biomacromolecules*, **8**, 941 (2007)