

Aplicaciones del acelerador de electrones en la obtención de piel artificial para el uso en pacientes con quemaduras

Trajano Ramírez

Departamento de Ciencias Nucleares

Resumen

La piel humana puede sufrir lesiones de diferente grado por efecto de quemaduras producidas por agentes físicos, que deben ser protegidas durante el proceso de curado.

La modificación de polímeros y la síntesis de macromoléculas, utilizando las radiaciones ionizantes, es utilizada en la obtención de biomateriales de uso humano.

En el presente estudio se ha desarrollado un film plástico con la inclusión de colágeno y otros compuesto químicos nitrogenados polimerizables por electrones acelerados, permitiendo obtener un producto biocompatible, no tóxico, que puede ser utilizado como capa protectora o como piel sintética polimérica que ayude al tratamiento de pacientes con quemados.

El proyecto se inicia con la obtención de los monómeros y reticulantes que sean capaces de ser polimerizados por radiación ionizante y se establece una solución base poliamida-colágeno, a la cual se añaden agentes preservantes, monómeros y reticulantes polimerizables por electrones acelerados.

Las variables que se estudiaron son: composición de los compuestos químicos en la solución base poliamida-colágeno, dosis de irradiación y atmósfera de irradiación. Se cuantificó las características físicas, químicas y mecánicas del film obtenido.

El film obtenido es un biomaterial con la inclusión de colágeno con 50 % de agua, elongación del 90 al 100 %, resistencia a la tensión de 0.8 a 1.2 MPa, hidrófilo, con tacto húmedo, absorbe agua adicional hasta el 100 %, estéril y resistente al rasgado.

Palabras claves: Radiación, electrones, aceleradores, quemadores, piel humana, piel sintética para quemados, biomateriales, polímeros, monómeros, reticulantes

Abstract

Human skin can suffer injuries of varying degrees as a result of burns caused by physical agents that must be protected during the curing process.

The modification of polymers and the synthesis of macromolecules, using ionizing radiation is used in the production of biomaterials for human use.

In the present study has developed a plastic film with the inclusion of collagen and and other chemical compounds polymerizable nitrogen accelerated electrons, allowing a product biocompatible, nontoxic, it can be used as a protective coating or as a synthetic polymer that helps skin treatment patients with burns.

The project begins with the collection of monomers and crosslinkers that are capable of being polymerized by ionizing radiation and provides a polyamide-based collagen solution to which is added preservatives, crosslinking polymerizable monomers and accelerated electrons.

The variables studied are: composition of chemical compounds based on polyamide-collagen solution, irradiation dose and irradiation atmosphere. We quantified the physical, chemical and mechanical properties of film obtained.

The film obtained is a biomaterial with the inclusion of collagen with 50 % water, stretching from 90 to 100 %, tensile strength of 0.8 to 1.2 MPa, hydrophilic, tactfully wet, it absorbs additional water up to 100 % sterile resistant to tearing

1 Introducción

Los injertos de piel para tratamiento de quemados fueron desarrollados en primera instancia como una manera de proteger y curar. (1).

En desarrollo de la ciencia en el campo de la "Biotecnología" ha producido nuevos tipos de injertos de piel que son conocidos como autoinjertos epiteliales cultivados (CEA), que utiliza células vivientes de la piel del paciente quemado para crecer nuevas células de la piel en el laboratorio. (2) (6)

La piel creada por la compañía Intercytex, llamada ICX-SKN está formada de una matriz producida por las mismas células de la piel (células de fibroblasto humano), que son responsables de la formación del colágeno en la piel.

A pesar del desarrollo y los avances en la tecnología médica, la pérdida de tejidos u órganos como consecuencia de las quemaduras, sigue siendo un serio problema de salud a nivel mundial. Las técnicas de cultivo celular se han convertido en una opción para este fin (5).

Paralelamente al desarrollo de esta forma de producir tejido de piel, se ha estudiado y se está investigando en la producción de biomateriales sintéticos, en base a polímeros, para la obtención de piel artificial o tejido de protección con características muy similares a los tejidos vivos de piel humana, pero a precios muy reducidos (2) (3) (7).

Estos materiales sintéticos pueden estar constituidos también por una capa superior de polisiloxano (siliconas) y una capa inferior formado por una matriz de fibras entrelazadas de colágeno de animales (así de bovino), constituyendo en un sustituto dérmico. La capa de silicona de grado médico controla la pérdida de humedad de la sección o área de la quemadura. El autoinjerto epidérmico crecerá y formará un estrato córneo. (8) (9)

Por último, existen estudios recientes de obtención de piel sintética a partir de la polimerización únicamente de monómeros con partes constituyentes de la piel, como es el colágeno. Este tipo de piel es un producto especialmente útil en el tratamiento de pacientes con el 70 a 80 % de la superficie corporal quemada. (3) (4)

Esta nueva técnica, relativamente reciente, presenta importantes ventajas respecto a otros tipos de injertos dérmicos, tales como el bajo costo, las condiciones de almacenamiento no muy rigurosas, áreas de aplicación de mayor superficie, completamente estériles, etc.

Las investigaciones y los avances científicos han llevado al desarrollo de un tipo diferente de apósitos sintéticos con características de piel, disponible ya para uso clínico como piel artificial., como es el caso de la marca comercial **Omiderm**, que es una lámina sintética de poliuretano semipermeable, ampliamente usada como único tratamiento en quemaduras de segundo grado superficial. Otra marca comercial es **Integra**.

En 1996, la FDA aprobó una *piel artificial* para usarse en pacientes con graves quemaduras que habían perdido la dermis.

Dentro de este campo, la Escuela politécnica Nacio-

nal, por medio del Departamento de Ciencias Nucleares, ha iniciado el estudio sobre la investigación del desarrollo de un material polimérico biosintético, utilizando la radiación de electrones acelerados para la polimerización de monómeros radiosensibles, que puede ser aplicable como protector dérmico en quemados.

2 Métodos

La preparación de las formulaciones de los diferentes componentes químicos se basan en el escogimiento de los monómeros, polímeros, solventes y reticulantes adecuados para que, el polímero formado, por acción de la radiación de electrones acelerados, tenga las siguientes características:

1. Adquiera aproximadamente las características de la piel huimana.
2. Debe contener colágeno, que es uno de los componentes principales de la piel.
3. Tenga resistencia a la tensión y sea muy flexible.
4. Sea biocompatible con el tejido humano, con un alto porcentaje de humedad.
5. Posea una cierta insolubilidad en agua.
6. Sea polimerizable por la radiación beta producido por el acelerador de electrones.
7. No sean tóxico y el film formado contenga compuestos que proteja de la acción de los microorganismos.
8. El film formado debe ser estéril, ósea libre de cualquier tipo de micro-organismos.

Los monómeros y polímeros que se utilizaron para la obtención de un material biocompatible con el tejido humano fueron acrilamida, acrilato de butilo, metacrilato de isobutilo, ácido acrílico, solución poliamida-colágeno y etilenglicol. Los reticulantes de polimerización que se investigaron fueron trimetacrilato de 2 etil 2 hidroximetil, 1-3 propano diol; dimetacrilato de etilenglicol y diacrilato de 1-4 butano diol.

Una concentración saturada la poliamida de 40g/L en el colágeno comercial fue utilizada como solución base poliamida-colágeno, con una viscosidad de 430 cp, medido a 25°C con el reómetro Brookfield. Esta solución de poliamida-colágeno se tomó como base para la adición de monómeros y reticulantes en la conformación de las diferentes formulaciones ensayadas en el presente estudio.

La obtención de una o más formulaciones óptimas para la producción de piel artificial o película protectora para ser utilizada en pacientes con quemaduras, implica el establecer las combinaciones de las concentraciones de

monómeros y reticulantes a ser añadido a la solución base poliamida-colágeno, con el fin de que el producto final después del proceso de polimerización adquiera propiedades elásticas, resistencia a la tensión, contenido de agua elevado, biocompatibilidad con el tejido humano y que sea un material libre de microorganismos (estéril).

Las soluciones de las muestras preparadas bajo la mezcla de los diferentes compuestos químicos fueron irradiadas bajo el haz de electrones generados por el Acelerador Lineal de Electrones ELU.6U de 8 MeV a 4, 8, 14 y 20 kGy.

Las variables de obtención de films poliméricos biocompatibles que se tomaron en cuenta fueron: Concentración de los monómeros acrilamida, etilenglicol y ácido acrílico; concentraciones de los reticulantes Dimetacrilato de etilenglicol y trimetacrilato de 2 etil 2 hidroximetil,1-3 propanodiol ; porcentaje de óxido de zinc; dosis de irradiación; Irradiación en atmósfera a condiciones ambientales e irradiación en atmósfera de nitrógeno.

La resistencia a la tensión y elongación de la mayor parte de las muestras irradiadas fueron determinadas utilizando medidores de tensión tipo resorte de Laboratorio. La elongación se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Elongación (\%)} = (L_t - L_o) / L_o \times 100 \quad (1)$$

Donde: L_t , es la longitud a un tiempo determinado y L_o es la longitud inicial de la probeta.

El grado de gel fue otra de las características que se determinó, la misma que expresa el grado de polimerización y se expresada por medio de la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de Gel (\%)} = (P_f - P_o) / P_o \times 100 \quad (2)$$

Donde: P_f es el peso final después del proceso de inmersión en agua y P_o es el peso inicial de la muestra antes de la inmersión en agua.

El análisis del contenido del ión amonio formado en la película obtenida por el proceso de irradiación se determinó por el método Nesler, utilizando el espectrofotómetro DR-2000.

3 Resultados y discusión

3.1 Solubilidad de los monómeros y reticulantes la solución base poliamida-colágeno

Los monómeros compatibles con la solución base poliamida-colágeno son la acrilamida, etilenglicol y el ácido acrílico. Los reticulantes dimetacrilato de etilenglicol, trimetacrilato de 2 etil 2 hidroximetil, 1-3 propanodiol y diacrilato de 1-4 butadiol son muy poco solubles, incrementándose en presencia de etilenglicol. Los monómeros acrilato de butilo y metacrilato de isobutilo son insolubles en la solución base.

3.2 Resultados de las variables de estudio

Se consideraron cinco grupos de formulaciones para el estudio de la concentración de acrilamida, etilenglicol, reticulantes, óxido de cinc y atmósfera de irradiación. En la tabla 1 se expone el segundo grupo de formulaciones estudiadas para llegar a la optimización de la concentración de los diferentes compuestos químicos en la solución base poliamida-colágeno.

Tabla 1. Formulaciones de la combinación de la concentración del reticulante di metacrilato de entilen glicol en la solución base poliamida-colágeno, conteniendo colágeno hidrolizado adicional, acrilamida y etilenglicol.

COMPOSICIÓN	FORMULACIÓN						
	43	44	45	46	47	48	49
Poliamida-colágeno (%)	34,8	34,4	35	25	40	34,9	34,95
Acrilamida (%)	45	45	45	45	45	45	45
Etilenglicol (%)	10	10	10	10	10	10	10
Reticulante (DMEGL) (%)	0,2	0,6	—	—	—	0,10	0,05
Colágeno hidrolizado (%)	10	10	10	20	5	10	10

Las propiedades físico-químicas del film polimérico sintético obtenido por irradiación a dosis de 4, 8, 14 y 20 kGy para cada una de las formulaciones son estudiadas y analizadas para llegar a la formulación óptima de obtención de un producto biocompatible para ser utilizado como protección o como piel artificial en quemaduras. En la Tabla 2 se expone los resultados de las propiedades físico-químicas del film obtenido por irradiación utilizando la solución de la formulación 44.

Uno de los resultados de la resistencia a la tensión-elongación se expone en la figura 1

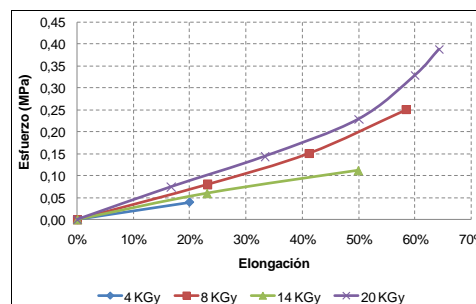


Figura 1. Resultados de las pruebas de resistencia tensión-elongación para films obtenidos por irradiación de la solución con la formulación 40, dosis de irradiación de 4, 8, 14 y 20 kGy, espesor 1.5mm.

Tabla 2. Influencia de la concentración del reticulante dimetacrilato de etilenglicol menores al 1 % en las propiedades físico-químicas del polímero obtenido por irradiación de la solución básica poliamida - colágeno, conteniendo etilenglicol y colágeno hidrolizado, dosis de irradiación 4, 8, 14 y 20 kGy.

Formulación	Dosis (kGy)	Porcentaje de gel (%)	[mgNH4+/g]	Características al tacto	Solubilidad en agua	Dureza	Calificación cualitativa	Observaciones
44	4	62,58	0,00	No pegante, gelatinoso, elástico y tacto húmedo	Insoluble	Baja	Muy buena	La mezcla con acrilamida es endotérmica, formación de film transparente, no se disgrega al frotar, resistencia al rasgado.
	8	49,13	0,00	No pegante, gelatinoso, elástico y tacto húmedo	Insoluble	Baja	Buena	La mezcla con acrilamida es endotérmica, resistencia al rasgado formación de film transparente, ligera reacción exotérmica, no se disgrega al frotar.
	14	45,45	0,00	No pegante, gelatinoso, elástico y tacto húmedo.	Insoluble	Baja	Buena	La mezcla con acrilamida es endotérmica, resistencia al rasgado, formación de film transparente, ligera reacción exotérmica
	20	19,35	0,00	No pegante, gelatinoso, elástico y tacto húmedo.	Insoluble	Baja	Más buena	La mezcla con acrilamida es endotérmica, resistencia al rasgado, formación de film transparente, ligera reacción exotérmica.

La determinación de la resistencia a la tensión-elongación se realizó únicamente para los films que presentaban polimerización, que no sean pegajosos y que la superficie sea seca al tacto, considerando también que la película formada no sea dura y que mantenga una cierta elasticidad.

4 Conclusiones

1. Un porcentaje mayor al 20 % del monómero acrilamida en la formulación de la solución a ser irradiada es necesario para iniciar el proceso de polimerización, catalizado por el haz de electrones.
2. El agua presente en la solución de la formulación permanece como parte del polímero formado o parcialmente se evapora en los casos que el calor desarrollado por la reacción de polimerización es elevada
3. La presencia de ión amonio en la solución irradiada es alta cuando no se obtiene polimerización del monómero acrilamida, debido al efecto de los radicales libres formando durante la radiólisis. Cuando el porcentaje de polimerización se incrementa sobre el 70 %, no se tiene la presencia de ión amonio, lo cual es un factor muy relevante en las características que debe tener el film biocompatible, ya que no se tendrá la presencia de compuestos nocivos de bajo peso molecular en el film formado.
4. La presencia de etilenglicol en la composición de las formulaciones permite incrementar la flexibilidad de la película polimerizada por la radiación de electrones acelerados y la fluidez de la solución, cuando la concentración del monómero acrilamida supera los valores de 40 %.
5. El porcentaje de etilenglicol entre el 10 al 20 % favorece a una mayor elongación, llegando a valores cercanos al 100 % de elongación, cuando la concentración de etilenglicol es del 20 %.
6. La presencia del reticulante disminuye muy notablemente la resistencia al rasgado de la película polimérica formada después del proceso de irradiación, siendo esta más pronunciada conforme se aumenta el porcentaje del reticulante. Sin embargo, mejora el acaba-

do de la superficie de la película formada, dando un aspecto no pegante, seco y de consistencia húmeda al tacto.

7. El reticulante dimetacrilato de etilenglicol tiene mayor solubilidad en la solución base poliamida-colágeno que los reticulantes trimetacrilato de 2etil 2hidroximetil, 1-3 propano diol y diacrilato de 1-4 butano diol.
8. El reticulante dimetacrilato de etilenglicol no solamente que actúa como un agente de formación de enlaces covalentes transversales en el polímero formado por irradiación, sino que influye en la absorción de agua por parte del film, propiedad importante para el fin que se pretende en el presente estudio.
9. La introducción de monómeros acrílicos o metacrílicos en la solución polimérica a ser irradiada, tales como: metacrilato de isobutilo, ácido acrílico y acrilato de butilo no es conveniente, debido a que disminuyen las propiedades del film obtenido por irradiación.
10. La dosis de irradiación que se puede considerar óptima para la irradiación de la solución base poliamida-colágeno con los componentes químicos óptimos está entre 14 y 20 kGy.
11. El porcentaje de elongación de las películas poliméricas sintéticas obtenida en condiciones óptimas está alrededor del 90 al 100% y la resistencia a la tensión entre 0,5 a 0,9 MPa.
12. La irradiación en atmósfera de nitrógeno no influye significativamente en el incremento de las propiedades físico-químicas y mecánicas del film.
13. El polímero sintético obtenido es un polímero muy hidrófilo con un contenido de agua del 47 al 50%, con una elasticidad entre el 90 al 100%, con resistencia a la tensión de 0.8 a 1.2 MPa, tacto húmedo, resistencia al rasgado, estéril y con agentes de protección microbiana, lo cual imparte al film sintético en un material biocompatible que se puede utilizar en la protección o como piel sintética en pacientes con quemados.

Referencias

- [1] Velázquez Diego A., Pineda Catalina, Cardona María E., Gómez Nicolás E, "Soluciones terapéuticas para la reconstrucción de la dermis y la dermis. Oportunidades en el medio Antioqueño", Revista Ingeniería Biomédica ISSN 1909-9762, volumen 2, número 3, Escuela de Ingeniería de Antioquia - Universidad CES, Medellín, Colombia, 2008, págs.77-107
- [2] www.burn-recovery.org/sgrafts.htm-9k
- [3] [http://www.secp.org/coldata/upload/revista/CirPed2001;14\(3\),91-94.pdf](http://www.secp.org/coldata/upload/revista/CirPed2001;14(3),91-94.pdf)
- [4] www.indexer.net/quemados/tratamiento_quirurgico_de_la_herida_quemadura.htm-87k
- [5] www.medilegis.com/BancoConocimiento/C/CirurgiaPlastica-V9No-
- [6] <http://www.genaltruista.com/notas/00000434.htm>
- [7] MCGILVERY, R. "Conceptos Bioquímicos" Capítulo 4, P.p.: 62 - 68, 1977. http://books.google.com.ec/books?id=A4FlhoNWTn8C&pg=PA57&lpg=PA57&dq=estructura+del+colageno+8429173668&source=bl&ots=fFr2mlJw0w&sig=n8oVYYqDfNiGGgFiIfJGLoxqlw&hl=es&ei=hcNpSs7RHNWvtgfYyuC5Cw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1
- [8] <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/proteins/colageno.html>
- [9] KA. Piez: Collagen types: a review. En: Development and Diseases of Cartilage and Bone Matrix. (1987) A.Riss Ed. pág 1-19