

GUILHERME MAIA MULDER VAN DE GRAAF

Avaliação da resistência mecânica à compressão axial de diferentes formulações de poliuretano de mamona com carbonato de cálcio e de quitosana com fosfato de cálcio

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção de título de Mestre em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de Concentração:

Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. André Luis do Valle De Zoppa

De acordo: _____

Orientador

São Paulo

2012

Obs: A versão original se encontra disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

RESUMO

VAN DE GRAAF, G. M. M. **Avaliação da resistência mecânica à compressão axial de diferentes formulações de poliuretana de mamona com carbonato de cálcio e de quitosana com fosfato de cálcio.** [Biomechanical strength evaluation of two different formulas of castor oil polyurethane with calcium carbonate and chitosan with calcium phosphate.]. 2012. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

As fraturas em equinos são responsáveis por grande prejuízo financeiro devido às dificuldades encontradas para instituir seu tratamento nessa espécie, principalmente em animais adultos. Entre as dificuldades técnicas no tratamento de fraturas em equinos estão a alta resistência óssea, que acarreta fraturas com grande transmissão de energia, e a escassez de materiais e técnicas de osteossíntese específicos para a espécie, gerando mau prognóstico em muitos casos. Estas fraturas, quando cominutivas acarretam em falhas ósseas, criando um espaço entre os fragmentos de maior tamanho e ainda extensa lesão de tecidos adjacentes, o que dificulta e prolonga o tempo de consolidação óssea. Atualmente a terapia com células tronco vem sendo bastante estudada em ortopedia, contudo o ambiente onde essas células são depositadas determina o caminho para onde elas vão se diferenciar. Para a utilização de células tronco em ortopedia, estas devem ser implantadas junto a um suporte tridimensional, por exemplo os biopolímeros, que além de fornecer um meio para a multiplicação e diferenciação dessas células, também deve apresentar características biomecânicas semelhantes ao tecido a ser reparado, que no caso da ortopedia é o tecido ósseo. O objetivo desse estudo foi avaliar as propriedades biomecânicas de dois biopolímeros a poliuretana de mamona com carbonato de cálcio e uma formulação de quitosana com fosfato de cálcio. Foram preparadas duas formulações diferentes de cada biopolímero, em corpos de prova cilíndricos de 12 mm de comprimento e 6 mm de diâmetro, sendo: poliuretana de mamona porosa e compacta, e quitosana com secagem a 38 e 60 graus Celsius. Essas formulações foram submetidas a ensaios compressivos nos momentos 3, 24, 48 e 72 horas após o preparo e avaliadas quanto sua resistência à compressão, deformação relativa e módulo de elasticidade. A poliuretana de mamona compacta apresentou o maior valor de resistência à compressão (45,805

N/mm²) após 48 horas. A fórmula de quitosana com secagem a 38 °C apresentou a menor deformação relativa (3,952 %) após 72 horas de preparo e o maior valor de módulo de elasticidade encontrado foi na poliuretana de mamona compacta após 72 horas (1354,284 N/mm²). Sendo assim a poliuretana de mamona compacta apresenta maior resistência à compressão do que o osso esponjoso de terceiro metacarpiano equino e semelhante aos substitutos ósseos comerciais mais resistentes. A fórmula de quitosana 38^o C apresentou valores similares aos observados no osso esponjoso equino. Podemos concluir com esses dados que a poliuretana de mamona compacta e a fórmula de quitosana 38^o C apresentam características biomecânicas desejáveis nos materiais para enxerto ósseo.

Palavras-chave: Poliuretana de mamona, quitosana, scaffold, enxerto ósseo.

ABSTRACT

VAN DE GRAAF, G. M. M. **Biomechanical strength evaluation of two different formulas of castor oil polyurethane with calcium carbonate and chitosan with calcium phosphate.** [Avaliação da resistência mecânica à compressão axial de diferentes formulações de poliuretano de mamona com carbonato de cálcio e de quitosana com fosfato de cálcio]. 2012. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Equine fractures are responsible for great economic losses due to difficulties in establishing their treatment, mainly regarding adult animals. Among technical difficulties faced in the equine fractures treatment, there are high bone strength, which results in high energy fractures and the lack of materials and specific osteosynthesis techniques for the specimen, resulting bad prognostic in many cases. When cominutives, these fractures result in bone gaps, creating spaces between bigger fragments and still extensive surrounding tissue damages, which difficults and extends time for bone consolidation. Nowadays, therapy with stem cells is focused in orthopedy, but environment where these cells are established determines the path they will take. For the use of stem cells in orthopedy, they must be implanted together with a tridimensional support such as biopolymers which, besides offering conditions for replication and differentiation of these cells, they must present biomechanic characteristics similar to the tissue to be healed, which is the bone. The target of this study was to evaluate biomechanic properties of two biopolymers, a castor oil polyurethane with calcium carbonate and a formulation of chitosan with calcium phosphate. Two different formulations of each biopolymer were prepared, in cilindric parts of 12mm length and 6mm diameter: porous and compact castor oil polyurethane, and chitosan drying at 38oC and 60oC. These formulations were submitted to compressed tests at 3, 24 and 72 hours after preparation and evaluated for compressive strength, relative deformation and modulus of elasticity. The compact castor oil polyurethane presented greater compressive value (45,805 N/mm²) after 48 hours. Chitosan formulation drying at 38oC presented lower relative deformation (3,952%) 72 hours after prepared, and the highest value for modulus of elasticity found was compact castor oil polyurethane after 72 hours (1354,284 N/mm²). Thus, compact castor oil polyurethane presents higher compressive

strenght than trabecular bone of the third equine metacarpal and similar to strenghter comercial bone grafts. The formulation chitosan 38^o C presented similar values to those observed in equine trabecular bone. With these data, we can conclude that the compact castor oil polyurethane and the formulation of chitosan 38^o C present desirable biomechanic characteristics in materials for bone grafts.

Keywords: Castor oil polyurethane. Chitosan. Scaffold. Bone graft.

1 INTRODUÇÃO

Nos equinos adultos, os ossos têm grande resistência para poder sustentar seu peso corporal e, por isso, para que ocorra fratura nesses ossos é necessário que haja a aplicação de grande quantidade de energia. Essa grande quantidade de energia aplicada sobre o osso normalmente resulta em fraturas cominutivas e grande lesão de tecidos moles ao redor do foco de fratura (MARKEL, 1996).

Na grande maioria das vezes os materiais ortopédicos utilizados para a correção de fraturas em Medicina Veterinária são materiais confeccionados para uso em Medicina Humana que também podem ser utilizados em animais, contudo esses materiais e os métodos de fixação conhecidos, muitas vezes, são insuficientes para fornecer estabilidade às fraturas em animais de grande porte (NIXON, 1996).

Atualmente o uso de células tronco em ortopedia vem sendo bastante estudado, no entanto é necessário que essas células sejam implantadas e semeadas num suporte biológico ou sintético, conhecido como *scaffold*, que forma um meio, ou microambiente, adequado para essas células se organizarem em estruturas funcionalmente similares ao tecido original (OLSSON et al. 2008).

Somando os fatos de, na maioria das vezes, as fraturas em equinos adultos serem cominutivas, os métodos de estabilização de fraturas muitas vezes serem insuficientes para estabilizar a fratura de animais pesados e a terapia com células tronco ser uma forma de tratamento bastante promissora, justifica-se o estudo biomecânico de um material capaz de cultivar células tronco, que possa preencher a falha óssea criada pela fratura cominutiva e ainda fornecer resistência adicional para auxiliar os implantes ortopédicos na fixação de fraturas em equinos.

7 CONCLUSÃO

O grupo mamona compacta apresenta maior resistência à compressão e módulo de elasticidade dentre os grupos estudados, sendo essas características mecânicas desejáveis para um substituto ósseo e semelhantes ao encontrado em osso trabecular equino.

A quitosana 38 apresenta menor deformação relativa, o que deve propiciar menor deformação no seu local de implantação, caso a tensão a que for submetida não ultrapasse seu limite de resistência.

O aumento de temperatura para 60 °C da quitosana não foi benéfico para suas características biomecânicas ao longo do tempo.

REFERÊNCIAS

ALHADLAQ, A.; MAO, J. J. Mesenchymal stem cells: isolation and therapeutics. **Stem Cells and Development**. n.13, p. 436-448, 2004

ASAHI KOGAKU KOGYO KABUSHIKI KAISHA. Composition for forming calcium phosphate type hardening material and process for producing such hardening material. European Patent EP 0 298 501 B1, 08 apr. 1992.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 5833**: implantes para cirurgia – cimentos de resina acrílica. Rio de Janeiro, 2004.

AUER, J. A. Emergency treatment and transportation of equine fracture patients. In: **Equine Surgery**. St. Louis: Saunders, 2006. p. 972-981.

BOLSON J.; SCHOSSLER J. E.; ORNES R. C.; MOTTIN V.; ALBERTI T. Análise clínica, radiológica, macroscópica e histológica do úmero de codornas domésticas (*Coturnix japônica*), submetido ao implante da poliuretana derivada do polímero de mamona (*Ricinus communis*). **Ciência Rural**. v. 35, n. 5, p.1123-1130, 2005.

CALORI, G. M.; MAZZA, E.; COLOMBO, M.; RIPAMONTI, C.; The use of bone-graft substitutes in large bone defects: any specific needs? **J. Care Injured**. v. 42 . p. 56–63, 2011

DASH, M.; CHIELLINI, R. M.; OTTENBRITE, E.; CHIELLINI, Chitosan - A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, n. 36, p. 981-1014, 2011.

DEL CARLO, R. J.; KAWATA, D.; VILORIA, M. I. V.; Oliveira, D. R.; SILVA, A. S.; MARCHESI, D. R.; GALVÃO, S. R.; AZEVEDO, P.; MONTEIRO, B. S. Polímero derivado de mamona acrescido de cálcio, associado ou não à medula óssea autógena na reparação de falhas ósseas. **Ciência Rural**, v. 33, n. 6, p. 1081-1088, 2003.

FACKELMAN, G. E.; AUER, J. A.; NUMAMAKER, D. M. **AO Principles of Equine Osteosynthesis**. Davos: AO Publishing, 2000.

FERNEDA, A. B.; COSTA, R. R.C.; TITA, V.; PROENÇA, S. P. B.; CARVALHO, J.; PURQUERIO, B. M. Compression tests of castor oil polimer. **Materials Research**. v. 9, n. 3, p. 327-334, 2006.

GUN-II, I. M.; YONG-WOON, S.; KEE-BYUNG, L. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.13, p. 845-853, 2005.

IGNÁCIO H.; MAZZER, N.; BARBIERI, C.H.; CHIERICHI, G. Uso da poliuretana derivada do óleo de mamona para preencher defeitos ósseos diafisários segmentares do rádio: estudo experimental em coelhos. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 32, n. 10, p. 815-821, 1997.

IGNÁCIO H.; MAZZER, N.; BARBIERI, C.H.; CHIERICHI, G. utilização da poliuretana da mamona nas formas compacta e porosa no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em cães. **Revista Brasileira de Ortopedia**. v. 32, n. 10, p. 815-821, 2002.

JACQUES, J. W.; FAGUNDES, D. J.; FIGUEIREDO, A. S.; INOUE, C. M.; SCAPULATEMPO, R. P.; SASSIOTO, M. C. P. O papel da poliuretana de mamona como substituto do enxerto ósseo autógeno em coelhos. **Revista do Colégio Brasileiro Cirurgia**, v. 31, n. 4, p. 236-241, 2004.

LARANJEIRA, M. C. M.; DE FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 187-191, 2009.

LEE, Y. M.; PARK, Y. J.; LEE, S. J.; KU, Y.; HAN, S. B.; CHOI, S. M.; KLOKKEVOLD, P. R.; CHUNG, C. P. Tissue engeneered bone formation using chitosan/tricalcium phosphate sponges. **Journal of Periodontology**, v. 71, N. 3, P. 410 – 417, 2000.

LEONEL, E. C. F.; MANGILINI, P. D.; RAMALHO, L. T. O.; ANDRADE SOBRINHO, J. A importância da porosidade interna do polímero de mamona durante a neoformação óssea: estudo em ratos. **Ciência Odontológica Brasileira**. v.6, n.3, p.19-25, 2003.

LIESHOUT, E. M. M. V.; KRALINGEN, G. H. V.; EL-MASSOUDI, Y.; WEINANS, H.; PATKA, P. Microstructure and biomechanical characteristics of bone substitutes for trauma and orthopaedic surgery. **BMC Musculoskeletal Disorders**, v. 12, n. 34, p 1-14, 2011.

LIMA, A. F. M.; RAHAL, S. C.; MULLER, S. S.; CORREA, M. C. E.; PADOVANI, C. R. Propriedades mecânicas do cimento ósseo e da poliuretana de mamona com e sem catalizador. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.60, n.5, p.1061-1068, 2008.

LIU, H.; LI, H.; CHENG, W.; YANG, Y.; ZHU, M.; ZHOU, C. Novel injectable calcium phosphate/chitosan composites for bone substitute materials. **Acta Biomaterialia**, n. 2, p. 557 – 565, 2006.

MARKEL, M. D. Fracture biomechanics. In: NIXON, A. J. **Equine fracture repair**, p.10-18, 1996.

MALTA, L. C.; SCARTON, R. B.; GOMES, A. G.; NÓBREGA, F. S.; BECK, C. A. C.; ALIEVI, M. M.; OLIVEIRA, L. O.; ROCHA, A. L. A.; FERREIRA, M. P. Atendimentos realizados na clínica de grandes animais no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande Do Sul no período de Janeiro de 2006 à dezembro de 2007. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008. **Anais eletrônicos**. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0408-1.pdf>

MEINEL, L.; KARAGEORGIU, V.; FAJARDO, R.; SNYDER, B.; SHINDE-PATIL, V.; ZICHNER, L.; KAPLAN, D.; LANGER, L.; VUNJEK-NOVAKOVIC, G. Bone tissue engineering using human mesenchymal stem cells: effects of scaffold material and medium flow. *Annals of Biomedical Engineering*. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 32, n. 1, p. 112–122, 2004.

MOREIRA, R. C.; PEREIRA, C. A. M.; FRAZÃO, P. J. R.; SELIM, M. B.; SILVA, L. C. L. C.; ZOPPA, A. L. V. D. Evaluation of bone biomechanical properties in different regions of the equine third metacarpus. **Journal of Musculoskeletal Research**, v. 15, n. 3, 1250017-1 – 1250017-10, 2012.

NANDI, S. K.; ROY, S.; MUKHERJEE, P.; KUNDU, B.; DE, D. K.; BASU, D. Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: a review. **Indian Journal of Medical Research**, v. 132, p. 15-30, 2010.

NORDIN, M.; FRANKEL, V. H. **Biomecânica Básica do Sistema Musculoesquelético**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

NIXON, A. J. General considerations in selecting cases for fracture repair. In: Nixon, A. J. **Equine Fracture Repair**, p. 30-35, 1996.

OLIVIER, V.; FAUCHEUX, N.; HARDOUIN, P. Biomaterial challenges and approaches to stem cell use in bone reconstructive surgery. **DDT**, v. 9, n. 18, 2004.

OLSSON, D. C.; PIPPI, N. L.; TORGOLI, G. K. RAISER, A. G. Comportamento biológico de matriz scaffold acrescida de células progenitoras na reparação óssea. **Ciência Rural**, v. 38, n.8, p. 2403-2412, 2008.

PARTRIDGE, K.; YANG, X.; CLARKE, N. M. P.; OKUBO, Y.; BESSHO, K.; SEBALD, W.; HOWDLE, S. M.; SHAKESHEFF, K. M.; OREFFO, R. O. C. Adenoviral BMP-2 transfer in mesenchymal stem cells: in vitro and in vivo bone formations on biodegradable polymer scaffolds. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 292, p. 144-142, 2002.

PIEREZAN, F.; RISSI, D. R.; RECH, R. R.; FIGHERA, R. A.; BRUM, J. S.; BARROS, C. S. L. Achados de necropsia relacionados com a morte de 335 eqüinos: 1968-2007. 2009. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29(3), p. 275-280, 2009.

PRIESTER, W. A.; MANTEL, N. Occurrence of Tumors in Domestic Animals. Data From 12 United States and Canadian Colleges of Veterinary Medicine. **Journal of National Cancer Institute**, v. 47, n. 6, p. 1333-1345, 1971.

REDDI, A. H. Morphogenesis and tissue engineering of bone and cartilage: Inductive Signals, Stem Cells, And Biomimetic Biomaterials. **Tissue Engineering**, v. 6, n. 4, p. 351-365, 2000.

REYES, M.; LUND, T.; LENVIK, T.; AGUIAR, D.; KOODIE, L.; VERFAILLIE, C. M. Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitors cells. **Blood**, v. 98, n. 9, p. 2615-2625, 2001.

SOUSA, S. A. Ensaio mecânicos de materiais metálicos. São Paulo: Edgar Blüncher, 1995.

SPIN-NETO, R.; PAVONE, C.; FREITAS, R. M.; MARCANTONIO, R. A. C.; MARCANTONIO-JÚNIOR, E. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 37(2): p. 155-161, 2008.

SUMNER-SMITH, G. Bone in clinical orthopedics. Dübendorf: **AO Publishing**, 2002.

VIDAL, M. A.; KILROY, G. E.; JOHNSON, J. R.; LOPEZ, M. J.; MOORE, R. M.; GIMBLE, J. M. Cell growth characteristics and differentiation frequency of adherent equine bone marrow-derived mesenchymal stromal cells: adipogenic and osteogenic capacity. **Veterinary Surgery**, v. 35, p. 601-610, 2006.

ZHANG, Y.; ZHANG, M. Three-dimensional macroporous calcium phosphate bioceramics with nested chitosan sponges for load-bearing bone implants. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 61, n. 1, p. 1-8, 2002.