

ESTUDIOS DE COMPATIBILIDAD Y DETERMINACIÓN DE MONÓMERO RESIDUAL EN CEMENTOS ÓSEOS MODIFICADOS

M. R. Virto¹, P. Frutos¹, Susana Torrado¹ y G. Frutos²

¹Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense, 28040 Madrid.

²Departamento de Estadística e Investigación Operacional, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense, 28040 Madrid.

Introducción

Una de las principales complicaciones que se puede presentar en cirugía ortopédica es la osteomielitis. Si esta se produce puede dar lugar al fracaso de la prótesis e incluso la muerte del paciente. En los años setenta Buchholz introdujo el concepto de la terapia local antibacteriana, en forma de cementos óseos impregnados con antibióticos para el tratamiento de infecciones locales tanto de huesos como de tejidos blandos. La principal ventaja que presentan frente a la terapia sistémica es que se ceden altas concentraciones del antibacteriano en la zona evitándose la aparición de efectos secundarios como nefrotoxicidades, ototoxicidades y complicaciones alérgicas. Para el presente estudio se ha seleccionado como cemento óseo el polimetilmetacrilato (PMMA) puesto que actualmente es el que más se utiliza en clínica. Investigaciones clínicas y datos experimentales demuestran que la cantidad del polímero polimetilmetacrilato utilizada no produce toxicidad, si bien el monómero residual que queda después de la polimerización puede producir efectos citotóxicos a nivel local. Así, uno de los objetivos de este trabajo es la cuantificación del monómero que queda en el momento de implantar este tipo de cementos en el organismo.

Para nuestro estudio se seleccionó como antibiótico la gentamicina. En estudios previos, la liberación del sulfato de gentamicina, contenido en el cemento óseo acrílico comercial, es pequeña y difícilmente controlable (1, 2). Para mejorar dicha cesión se han preparado

formulaciones con diferentes proporciones de gentamicina (4-8%) y moduladores de la cesión tales como lactosa e hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) (10-20%) (3). Así, otro de los objetivos de este trabajo ha sido estudiar la compatibilidad gentamicina- matriz ósea- modulador de la cesión de dichas formulaciones.

Materiales y Métodos

El sulfato de gentamicina empleado en nuestra experimentación fue generosamente donado por los laboratorios C.E.P.A, S.A. Los cementos óseos (CMW1[®] Radiopaque y CMW1[®] Gentamicina) se compraron a DePuy Ibérica S.A. La lactosa (Pharmatose[®] 325 M) empleada se compró a los laboratorios DMV International y la HPMC (Metolose[®] 65 SH 400) empleada fue comprada a los laboratorios ISISA. El cloroformo deuterado utilizado para la determinación por Resonancia Magnética Nuclear del monómero residual se obtuvo de los laboratorios SDS.

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) se utilizó para estudiar la compatibilidad antibiótico - matriz ósea y modulador de la cesión. El peso de las muestras estuvo comprendido entre 5,0 y 10,0 mg. Para realizar el ensayo se emplearon cápsulas de aluminio y las muestras se midieron en atmósfera de nitrógeno, con una velocidad de calentamiento de 10°C/min. El equipo (DSC-820 Mettler Toledo) se calibró usando Indio. Las muestras se analizaron por duplicado.

Para caracterizar la superficie de las muestras se empleó la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido.

La determinación del monómero residual se realizó mediante Resonancia Magnética Nuclear

130 VI Congreso SEFIG y 3^{as} Jornadas TF

RMN de protón ¹H (4). Los espectros de resonancia se registraron en un espectrómetro Briker AC-250, a 250 MHz para ¹H. Se determinó la cantidad de monómero residual presente en los cementos comerciales, en el momento en que se implantan en el organismo (5 minutos después de la polimerización) y en el momento en que se produce el endurecimiento del cemento (10 minutos después de la polimerización). Se tomaron por duplicado pequeñas muestras de los cementos y se colocaron en un tubo de ensayo con 2 ml de Cloroformo deuterado. Una vez disueltas las muestras, se registraron los espectros de RMN junto con las integrales de las regiones vinilo (δ 5,50-6,20) y metoxilo (δ 3,38-3,87). El porcentaje de monómero presente en la muestra se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ monómero} = [(1,5 \times A_V) / A_M] \times 100$$

donde,

A_M = Media de dos determinaciones de la integral de metoxilo.

A_V = Media de dos determinaciones de la integral de vinilo.

1,5 = Factor de conversión que relaciona el número de protones en la región vinilo "2" con el grupo metoxilo "3".

Resultados y Discusión

Estudios de compatibilidad

Antes del ensayo, la gentamicina se mantuvo durante tres horas en una estufa a 100°C para que perdiera el agua que pudiera contener, ya que es un antibiótico muy higroscópico. Aún así en el termograma de la gentamicina se puede observar un pico endotérmico amplio alrededor de 180°C debido a la pérdida del agua residual que queda después del calentamiento. También se puede observar un gran pico endotérmico a 245°C que corresponde al punto de fusión.

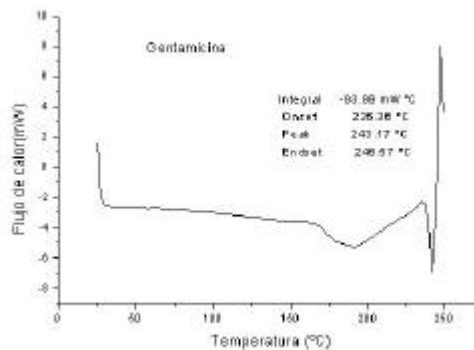


Figura 1. Termograma de la gentamicina.

El termograma de la lactosa monohidrato presenta un pico de deshidratación a 150°C y un pico de fusión a 220°C.

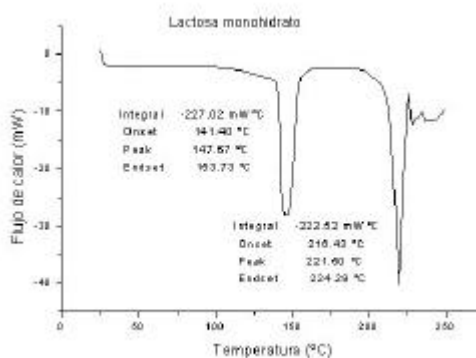


Figura 2. Termograma de la lactosa monohidrato.

El termograma de la HPMC presenta un pico muy ancho entre 60-100°C que corresponde a la pérdida de humedad. A 160°C se puede observar la T_g (Temperatura de transición vítrea) de la HPMC. Por último se observa el pico de degradación de la HPMC a 280°C.

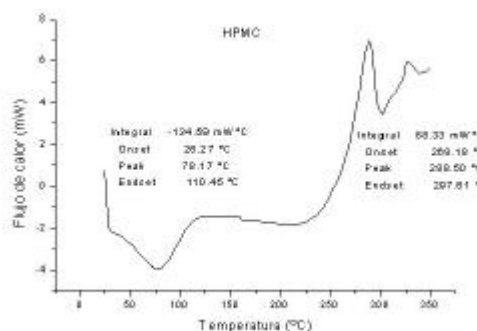


Figura 3. Termograma de la HPMC.

Tanto el termograma del componente en polvo del cemento como el del cemento CMW1® Radiopaque ya fraguado presentan una Tg muy pronunciada a 150°C, que se corresponde con la Tg del PMMA. Se puede observar que el pico de degradación en el componente en polvo del cemento es a 250°C y sin embargo en el cemento CMW1® Radiopaque es a 380°C. Esto se debe a que el peróxido de benzoilo presente en el componente en polvo acelera la degradación.

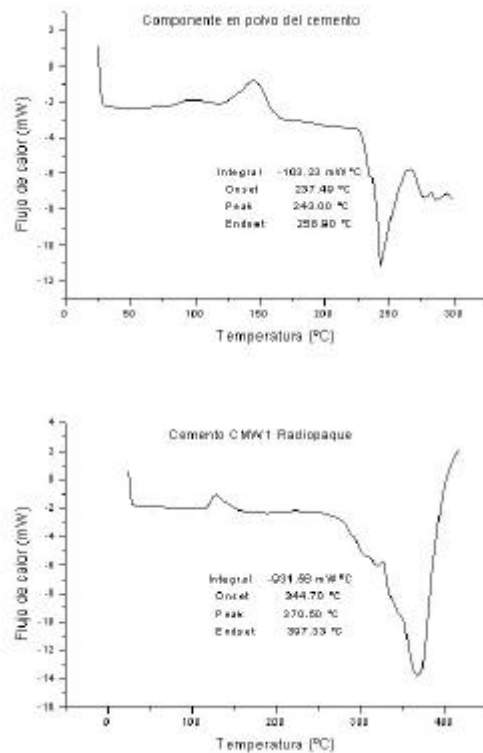


Figura 4. Termogramas del componente en polvo del cemento y del cemento CMW1® Radiopaque fraguado.

Cuando se comparan los cementos ya fraguados tanto comercial como los modificados, se puede observar como la Tg del polímero aparece también en los modificados excepto en el cemento modificado que contiene un 20% de HPMC. Además en el cemento modificado con un 20% de HPMC el pico de degradación de este modulador de la cesión se superpone con el de la degradación del polímero y aparece a 310°C lo que demuestra que existe una interacción entre el modulador de la cesión

HPMC y la matriz ósea lo que podría interferir en la polimerización del cemento. Estudiando los DSC de los cementos modificados con lactosa no se observa ningún tipo de interacción entre la lactosa y la matriz ósea, por lo que la lactosa es un excipiente compatible con los cementos de PMMA. En ninguno de los DSC se observa un pico correspondiente a la gentamicina. Esto se debe a que la gentamicina está en tan pequeña cantidad que no se detecta por esta técnica.

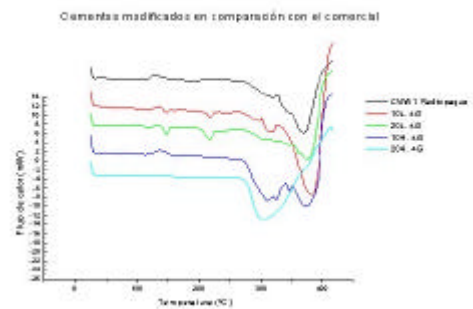


Figura 5. Termogramas de los cementos modificados en comparación con el comercial.

Morfología superficial del cemento

La superficie del cemento modificado con lactosa es más porosa que la del cemento modificado con HPMC. Además, este cemento que incluye HPMC presenta una superficie escamosa característica.

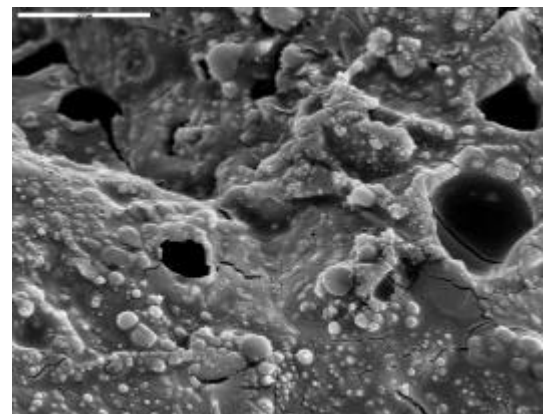


Figura 6. Superficie del cemento modificado con lactosa (x1000).

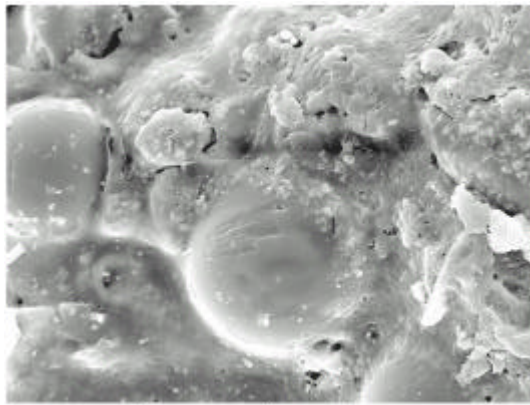


Figura 7. Superficie del cemento modificado con la HPMC (x1000).

Determinación del monómero residual

En la tabla 1 se recogen los resultados obtenidos para todas las formulaciones.

Los cementos comerciales presentan alrededor de un 22% de monómero residual a los 5 minutos. El porcentaje de monómero en los cementos modificados a este mismo tiempo osciló entre un 23 y un 29%. Las muestras de los cementos comerciales tomadas a los 10 minutos presentaron un 18% de monómero residual, mientras que este porcentaje fue entre un 17-25% en los cementos modificados. Por lo que sería conveniente realizar estudios de citotoxicidad en fibroblastos con los cementos modificados que presenten un mayor porcentaje de monómero residual.

Tabla 1. Porcentaje medio de monómero residual.

L: Lactosa. H: Hidroxipropil metilcelulosa.

G: Gentamicina.

FORMULACION	% MONÓMERO
Monómero solo	99.22
CMW 1 [®] R, 5 min	22.63
CMW 1 [®] R, 10 min	19.78
CMW 1 [®] G, 5 min	21.15
CMW 1 [®] G, 10min	16.80
CMW1 (10L, 4G, 5 min)	23.78
CMW1 (10L, 4G, 10min)	20.30
CMW1 (10L, 8G, 5min)	26.70
CMW1 (10L, 8G, 10min)	22.81
CMW1 (15L, 6G, 5min)	25.07
CMW1 (15L, 6G, 10min)	21.60
CMW1 (20L, 4G, 5min)	27.13
CMW1 (20L, 4G, 10min)	24.12
CMW1 (20L, 8G, 5min)	28.48
CMW1 (20L, 8G, 10min)	23.33
CMW1 (10H, 4G, 5 min)	23.24
CMW1 (10H, 4G, 10min)	20.12
CMW1 (10H, 8G, 5min)	24.00
CMW1 (10H, 8G, 10min)	19.75
CMW1 (15H, 6G, 5min)	23.05
CMW1 (15H, 6G, 10min)	17.55
CMW1 (20H, 4G, 5min)	23.46
CMW1 (20H, 4G, 10min)	21.48
CMW1 (20H, 8G, 5min)	29.19
CMW1 (20H, 8G, 10min)	25.64

Bibliografía

1. Frutos P, Díez E, Barrales-Rienda JM, Frutos G. Validation and "in vitro" characterization of antibiotic-loaded bone cement release. *Int J Pharm*; 209,15, 2000.
2. Torrado S, Frutos P, Frutos G. Gentamicin bone cements: characterisation and release ("in vitro" and in vivo assays). *Int J Pharm*; 217, 57, 2001.
3. Virto, M. R., Frutos, P., Torrado, Susana and Frutos, G. Gentamicin release from modified acrylic bone cements with lactose and hydroxypropylmethylcellulose. *Biomaterials*; 24, 79, 2003.
4. Sheinin, E. B., Benson, W. R. and Brannon, W. L. Determination of methyl methacrylate in surgical acrylic cement. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 65, 280, 1976.

Autor de contacto:

M^a Rosa Virto García

rosa30@farm.ucm.es

Facultad de Farmacia. UCM.

Plza. Ramón y Cajal s/n. Madrid.

Telf: 91-394-17-27. Fax: 91-394-17-36.