

MATERIALES METÁLICOS IMPLANTABLES BIODEGRADABLES: EFECTO BIOLÓGICO DE SUS IONES. APLICACIÓN INNOVATIVA DE INDOLAMINAS

Natalia S Fagali¹, Claudia Grillo¹, Ángel Catalá¹, Susana Puntarulo²,
Mónica Fernández Lorenzo de Mele¹

¹INIFTA, CCT La Plata – CONICET, Fac. de Cs Exactas, UNLP. Diagonal 113 y 64. CP (1900). La Plata. Buenos Aires.

²PRALIB, FFyB, UBA. Junín 956. Ciudad Autónoma de Bs. As.
nfagali@gmail.com

Introducción

Los materiales biodegradables, como Mg y Fe, constituyen una alternativa que busca evitar algunos de los efectos adversos de los biomateriales metálicos tradicionales. El Mg y el Fe empleados en la manufactura de placas de sostén y *stents* temporales, respectivamente, son susceptibles a la corrosión en medios biológicos por lo que, al degradarse, evitan problemas tales como la restenosis y la segunda intervención quirúrgica empleada para remoción de los biomateriales ortopédicos [1,2].

Sin embargo, el principal problema de los materiales degradables es que producen una importante liberación de iones al medio. Se ha reportado que dicha liberación puede producir estrés oxidativo en tejidos aledaños [3]. Una estrategia novedosa frente a este problema sería el empleo de melatonina, cuya actividad antioxidante, entre otros efectos benéficos, ha sido ampliamente descripta [4,5] aunque los resultados varían entre sistemas *in vitro* e *in vivo*.

Los objetivos de este trabajo fueron: analizar en un sistema modelo de membranas *in vitro*, la capacidad de los iones Fe²⁺, Fe³⁺ y Mg²⁺ de inducir peroxidación lipídica y evaluar la acción de melatonina como inhibidor del proceso de peroxidación.

Materiales y métodos

Se prepararon liposomas a partir de lípidos de retina bovina cuyo contenido en ácidos grasos poli-no-saturados (PUFAs) es elevado, lo que los hace susceptibles a la peroxidación lipídica. Los liposomas se incubaron por 180 min con cada uno de los iones ([FeSO₄], [FeCl₃]: 25 μM y [MgCl₂]: 20 mM). La reacción se monitoreó por determinación de productos de peroxidación (técnica de TBARS) [6]. Se evaluaron diferentes concentraciones de melatonina (1-20 μM) para analizar su influencia en este sistema, empleándose hidroxitolueno butilado (BHT) como antioxidante de referencia.

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos (Fig 1) indican que Fe²⁺ es un iniciador de peroxidación lipídica más eficiente que Fe³⁺, mientras que Mg²⁺ no presentó capacidad pro-oxidante, aún cuando la concentración utilizada de este ión fue muy superior a la de Fe²⁺ y Fe³⁺.

Como ya se ha descripto [9], el ión Fe²⁺ en solución acuosa y en presencia de O₂ se oxida a Fe³⁺ según la siguiente ecuación:



que origina una serie de especies radicalarias que pueden dar inicio al proceso de peroxidación lipídica. Por otro lado Fe²⁺ y Fe³⁺ producen fragmentación de hidroperóxidos lipídicos previamente formados dando lugar a la formación de radicales alcoxilo (LO•) y peroxilo (LOO•) que propagan la reacción en cadena de la peroxidación lipídica [10].

En la Fig. 2 se muestran los resultados de la presencia de BHT y melatonina en el sistema de liposomas cuya peroxidación fue iniciada por Fe^{2+} . Como era de esperarse el BHT inhibió la peroxidación lipídica, sin embargo la melatonina no presentó dicho efecto.

Estos resultados están de acuerdo con la hipótesis de que melatonina no posee un efecto antioxidante directo [7], es decir, no tiene la capacidad de secuestrar los radicales formados ($\text{LOO}\bullet$ y $\text{LO}\bullet$) durante la reacción de peroxidación iniciada por Fe^{2+} de los liposomas. Algunos investigadores han sugerido que la acción antioxidante *in vivo* de melatonina puede estar mediada por mecanismos indirectos tales como la estabilización de membranas celulares y la estimulación de enzimas antioxidantes [8]. Dado que en el presente trabajo no existen enzimas ni genes que puedan ser regulados, cobra mayor relevancia la hipótesis de que los efectos benéficos de melatonina descritos *in vivo*, se deben a mecanismos indirectos.

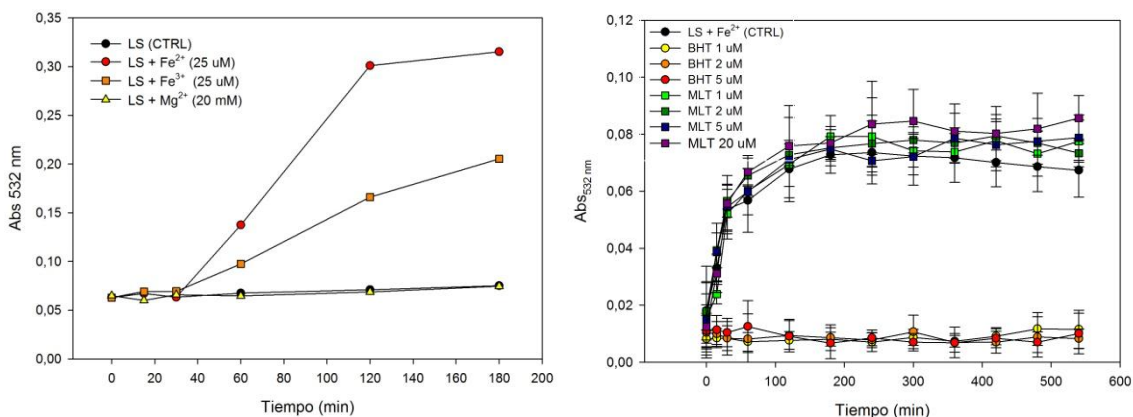


Figura 1. Producción de TBARS en función del tiempo de liposomas incubados con Fe^{2+} , Fe^{3+} y Mg^{2+} . **Figura 2.** Producción de TBARS en función del tiempo para liposomas incubados con Fe^{2+} y diferentes concentraciones de BHT y melatonina.

Estos resultados preliminares se refieren a nuestra primer etapa de evaluación que incluye únicamente la respuesta a nivel de membrana. Por lo que, en un futuro próximo se estudiará el efecto de los iones Fe^{2+} y Fe^{3+} en cultivos celulares, así como también la influencia de melatonina y otras indolaminas sobre los procesos de peroxidación lipídica en dichos sistemas más complejos.

Referencias

- 1) Witte F, Hort N, Vogt C, Cohen S, Kainer KU, Willumeit R, Feyerabend F. 2008. Degradable biomaterials based on magnesium corrosion. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. 12: 63-72.
- 2) Hermawan H, Dubé D, Mantovani D. 2010. Developments in Metallic biodegradable stents. *Acta Biomaterialia*, 6(5):1693-7.
- 3) Purnama A, Hermawan H, Couet J, Mantovani D. 2010. Assessing the biocompatibility of degradable metallic materials: state-of-the-art and focus on the potential of genetic regulation. *Acta Biomaterialia* 6 1800–1807.
- 4) Guardia J, Gómez-Moreno G, Ferrera MJ, Cutando A. 2009. Evaluation of Effects of Topic Melatonin on Implant Surface at 5 and 8 Weeks in Beagle Dogs. *Clinical implant dentistry and related research*, 1-7.

- 5) Muñoz F, López-Peña M, Miño N, Gómez-Moreno G, Guardia J, Cutando A. 2009. Topical Application of Melatonin and Growth Hormone Accelerates Bone Healing around Dental Implants in Dogs. *Clinical implant dentistry and related research*. 1-10.
- 6) Camejo G, Wallin B, Enojärvi M. 1998. Analysis of oxidation and antioxidants using microtiter plates. *Free Radical and Antioxidant Protocols*. *Methods in Molecular Biology*. 108 (ed. D. Armstrong), 377-386. Totawa, NJ: Humana Press Inc.
- 7) Galano A. 2011. On the direct scavenging activity of melatonin towards hydroxyl and a series of peroxy radicals. *Phys Chem Chem Phys*. 13, 7178-7188.
- 8) Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. 2008. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *J. Biomed. Sci*. 7: 444-458.
- 9) Stumm W, Fred Lee G. 1961. Oxygenation of ferrous ion. *Industrial and engineering chemistry*. 53 143-146
- 10) Nacka F, Cansell M, Meleard P, Combe N. 2001. Incorporation of alpha-tocopherol in marine lipid-based liposomes: in vitro and in vivo studies. *Lipids*. 36: 1313–1320.