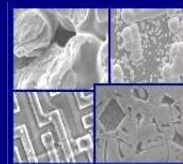




PUCRS

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

Faculdade de Engenharia
Faculdade de Física
Faculdade de Química



PGETEMA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE POLIURETANOS BIOESTÁVEIS COM POTENCIAL APLICAÇÃO NA ÁREA CARDIOVASCULAR

EMANUELLI LOURENÇO CABRAL

QUÍMICA INDUSTRIAL

**DISSERTAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM ENGENHARIA
E TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

Porto Alegre

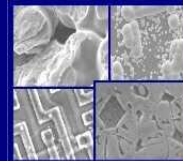
Janeiro, 2012



PUCRS

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

Faculdade de Engenharia
Faculdade de Física
Faculdade de Química



PGETEMA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE POLIURETANOS BIOESTÁVEIS COM POTENCIAL APLICAÇÃO NA ÁREA CARDIOVASCULAR

EMANUELLI LOURENÇO CABRAL

QUÍMICA INDUSTRIAL

ORIENTADOR: PROF(a). Dr(a). ROSANE LIGABUE

CO-ORIENTADOR: PROF(a). Dr(a). VANUSCA DALOSTO JAHNO

Dissertação de Mestrado realizada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais (PGETEMA) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Tecnologia de Materiais.

**Porto Alegre
Janeiro, 2012**

“Destino não é uma questão de sorte, mas uma questão de escolha; não é uma coisa que se espera, mas que se busca”.
(William Jennings Bryan)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a toda minha família, em especial ao meu marido Bruno, meus pais, João e Maria, e meu irmão Diogo, pelo incentivo e apoio que tive em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por tudo que me foi oferecido, família, amizades verdadeiras, trabalho e estudo.

Agradeço ao meu marido Bruno, pelo apoio, companheirismo, compreensão e muito amor sempre! Aos meus pais, João e Maria, por terem me feito ser quem sou e por me mostrarem que a vida nos dá vários caminhos, e quem escolhe qual seguir, somos nós. E ao meu irmão Diogo, pelo carinho de sempre e maturidade que fomos adquirindo um com o outro.

Agradeço a toda a minha família, vó Nena, vó Bigode (*in memorian*), vó Rinda (*in memorian*), madrinha Nilza, Pinha, tios, tias, primos e primas, pessoas maravilhosas que com suas forças e fraquezas me fazem ter muito orgulho de fazer parte dela.

Também tenho muito a agradecer a família que adquiri, Rose, seu Roberto (*in memorian*), Betinho, vó Neusa, tios, tias, primos e primas, dessa família linda, que só fez me acolher cada dia mais.

Agradeço aos meus amigos queridos de sempre e para sempre, pessoas que são para todos os momentos, Liz, Lucas, Bruna, Thomaz, Ana, Kleiton, Juliana, Lauren, Kalinka, Bárbara, Adriana, Guilherme, Eduardo, Tainara, Diego, Matheus...

Agradeço à orientação da professora Rosane Ligabue, que com paciência e confiança me incentiva e me fornece grandes oportunidades, da mesma forma como a co-orientação da professora e amiga Vanusca Jahno, que desde o meu início como iniciação científica me apóia e incentiva em todos os momentos, tanto profissionais quanto pessoais. Muito obrigada!

Agradeço aos meus colegas de trabalho pela ajuda e pelos momentos divertidos dentro e fora do laboratório, Viviane, Renata, Tatiana, Aline, Juliana,

Camila, Mireli, Gustavo... e, principalmente, ao Guilherme, pelas inúmeras sínteses e análises.

Agradeço aos professores Ana Luiza Ziulkoski e Fernando Spilki do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Feevale e a todo pessoal dos seus grupos de trabalho que sempre são muito gentis e solícitos, abrindo espaço para o desenvolvimento de uma parte deste trabalho. E não poderia deixar de agradecer, em especial, à Patrícia e Nathalia que trabalham muito para que os experimentos ocorram.

Agradeço à A.S.Technology por acreditar no meu trabalho, aos professores Sandra Einloft, Jeane Dullius, Carlos Carone e Tiziano Dalla Rosa pela ajuda e ensinamentos no laboratório ou em sala de aula, à CAPES pela bolsa no Programa de Pós-Graduação, à Faculdade de Química da PUCRS e ao Centro de Microscopia e Microanálises (CEMM) da PUCRS.

Muito obrigada a todos!

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	4
AGRADECIMENTOS	5
SUMÁRIO	7
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE QUADROS.....	14
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	15
RESUMO	17
ABSTRACT	18
1. INTRODUÇÃO	19
2. OBJETIVOS	21
2.1. Objetivos Específicos	21
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
3.1. Biomateriais Poliméricos	22
3.2. Membranas Cardiovasculares	24
3.2.1. PTFE	26
3.2.2. Dacron	27
3.3. Poliuretanos.....	29
3.4. Avaliação da citotoxicidade	33
3.5. Avaliação da bioestabilidade	34
4. MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1. Materiais.....	36
4.2. Síntese dos poliuretanos.....	37
4.3. Técnicas de Caracterização	38
4.3.1. Espectroscopia de Infravermelho (IV).....	38
4.3.2. Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)	38
4.3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	38
4.3.4. Análise Termogravimétrica (TGA).....	39

4.3.5. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	39
4.3.6. Análise Dinâmico-mecânica (DMA)	40
4.4. Avaliação da citotoxicidade <i>in vitro</i>	40
4.4.1. Cultivos celulares.....	40
4.4.2. Meio de extração	41
4.4.3. Ensaio de citotoxicidade	41
4.5. Testes de bioestabilidade <i>in vitro</i>.....	43
4.5.1. Degradação Hidrolítica	44
4.5.2. Degradação Enzimática.....	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1. Síntese e caracterização dos poliuretanos.....	46
5.1.1. Espectroscopia de Infravermelho (IV).....	46
5.1.2. Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)	47
5.1.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	49
5.1.4. Análise Termogravimétrica (TGA).....	50
5.1.5. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	52
5.1.6. Análise Dinâmico-mecânica (DMA)	54
5.2. Caracterização dos materiais comerciais	56
5.2.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	56
5.2.2. Análise Termogravimétrica (TGA).....	56
5.2.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	57
5.2.4. Análise Dinâmico-Mecânica (DMA)	59
5.3. Avaliação da citotoxicidade <i>in vitro</i> dos poliuretanos e materiais comerciais (Dacron e PTFE).....	60
5.3.1. Viabilidade celular.....	60
5.3.2. Proliferação celular	64
5.4. Caracterização da bioestabilidade dos poliuretanos e materiais comerciais	65
5.4.1. Degradação hidrolítica	65
5.4.2. Degradação enzimática	72
6. CONCLUSÕES	77
7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS.....	80
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81

ANEXOS 91

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Número de células após 8 semanas de implantação no ventrículo direito de ratos adultos. As membranas estudadas foram de PTFE, gelatina (GEL), PGA, poli (caprolactona-lactide) (PCLA1 e PCLA2) (Ozawa, 2002).	25
Figura 3.2. (a) Estrutura química do PTFE e (b) figura ilustrativa do PTFE comercial (Cohen, 2009).	26
Figura 3.3. Micrografia do e-PTFE (Catanese, 1999).	27
Figura 3.4. (a) Estrutura química do Dacron e (b) figura ilustrativa do Dacron comercial (Cohen, 2009).	27
Figura 3.5. Micrografia do Dacron – Gelseal™ (Chandy, 2000).	28
Figura 3.6. Reação genérica da formação do poliuretano (Dodge, 2003).	29
Figura 3.7. Cortes histológicos da parede do miocárdio de ratos com infarto (a) e com a membrana de poliuretano (b) após 8 semanas de implantação; corados com hematoxilina e eosina. As setas pretas indicam a área de PU implantado (Fujimoto, 2007).	33
Figura 5.1. Espectro de infravermelho típico de poliuretano (PU-1).	46
Figura 5.2. Micrografias dos poliuretanos sintetizados (a) PU-1, (b) PU-2, (c) PU-3, (d) PU-5, (e) PU-6 e (f) PU-7; com aumento de 1000x.	50
Figura 5.3. Termogramas dos poliuretanos sintetizados.	51
Figura 5.4. Curva de DSC das amostras dos poliuretanos sintetizados com as representações da T_g e T_m dos poliuretanos.	52
Figura 5.5. Curva de DSC das amostras dos poliuretanos sintetizados com os picos referentes a temperatura de cristalização.	52
Figura 5.6. Curva de tensão-deformação dos poliuretanos sintetizados.	54
Figura 5.7. Micrografias dos materiais comerciais (a) Dacron e (b) PTFE; aumento de 1000x.	56
Figura 5.8. Termogramas dos materiais comerciais.	57

- Figura 5.9. Curva de DSC das amostras dos materiais comerciais com as temperaturas de transição vítrea (Dacron) e de fusão (Dacron e PTFE).58
- Figura 5.10. Curva de DSC das amostras dos materiais comerciais com os picos das temperaturas de cristalização.58
- Figura 5.11. Curva de tensão-deformação dos materiais comerciais.59
- Figura 5.12. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do poliuretano PU-6.....61
- Figura 5.13. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do poliuretano PU-4.....61
- Figura 5.14. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do material comercial Dacron.62
- Figura 5.15. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do material comercial PTFE.62
- Figura 5.16. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do poliuretano PU-4.....63
- Figura 5.17. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do material comercial Dacron (*representa uma diferença estatística).63
- Figura 5.18. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do material comercial PTFE.64
- Figura 5.19. Proliferação celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do poliuretano PU-4.....65
- Figura 5.20. Variação da massa (%) dos materiais com o tempo de degradação (0 a 270 dias).66
- Figura 5.21. Variação do pH das soluções da degradação dos filmes de 0 a 270 dias.....67
- Figura 5.22. Variação da temperatura de fusão (T_m), de cristalização (T_c) e de transição vítrea (T_g) dos poliuretanos sintetizados em relação ao tempo de degradação hidrolítica.68
- Figura 5.23. Variação da temperatura de fusão (T_m), de cristalização (T_c) e de transição vítrea (T_g) dos materiais comerciais em relação ao tempo de degradação hidrolítica.69

- Figura 5.24. Micrografia dos materiais a) PU-1; b) PU-2; c) PU-3; antes (esquerda) e após (direita) 270 dias de degradação; com aumento de 1000x.70
- Figura 5.25. Micrografia dos materiais a) Dacron; b) PTFE; antes (esquerda) e após (direita) 270 dias de degradação; com aumento de 1000x.71
- Figura 5.26. Variação da massa (%) e da massa molar M_w (g/mol) do PU-6 submetido a 30 dias de exposição à degradação enzimática.72
- Figura 5.27. Variação do pH das soluções da degradação dos filmes de PU-6 submetidos a 30 dias de exposição.73
- Figura 5.28. Micrografia dos materiais a) PU-2; b) PU-6; c) Dacron e d) PTFE antes (esquerda) e após (direita) 30 dias de degradação; com aumento de 1000x.74
- Figura 5.29. Micrografia de um filme de PCL/PLA (Li, 2003).75

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1. Principais diisocianatos e polióis usados na síntese de poliuretanos. ...	31
Tabela 4.1. Reagentes utilizados nas sínteses dos poliuretanos.....	36
Tabela 4.2. Materiais utilizados na síntese dos poliuretanos.	37
Tabela 5.1. Atribuições das bandas referentes aos espectros dos poliuretanos sintetizados.	47
Tabela 5.2. Massas molares e polidispersidade dos poliuretanos sintetizados.	48
Tabela 5.3. Temperaturas inicial (T_i) e final (T_f) de decomposição e % de perda de massa dos PUs.	51
Tabela 5.4. Temperaturas de fusão (T_m), cristalização (T_c), transição vítrea (T_g) e calor de fusão (ΔH_f) obtidas para os poliuretanos sintetizados.	53
Tabela 5.5. Módulo elástico, tensão de ruptura, alongação máxima e M_w obtidos para os poliuretanos.....	55
Tabela 5.6. Temperaturas inicial (T_i) e final (T_f) de decomposição e % de perda de massa para os materiais comerciais.	57
Tabela 5.7. Temperaturas de fusão (T_m), cristalização (T_c), transição vítrea (T_g) e calor de fusão (ΔH_f) obtidas para os materiais comerciais.....	59

LISTA DE QUADROS

Quadro 4.1. Testes de citotoxicidade ao qual cada material foi submetido.	42
Quadro 4.2. Técnicas de caracterização ao qual cada material foi submetido.	45

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ASTM	<i>American society for testing and materials</i>
CMF	Solução salina livre de cálcio e magnésio (<i>Calcium and Magnesium Free</i>)
DBTDL	Dibutildilaurato de estanho
DMA	Análise dinâmico-mecânica
DMEM	Meio de Eagle modificado por Dulbecco (<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>)
DMSO	Dimetilsulfóxido
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
e-PTFE	Poli (tetrafluoretileno) expandido
GPC	Cromatografia de Permeação em Gel
H ₁₂ MDI	4,4-Diciclohexilmetileno diisocianato
HDI	1,6-Hexametileno diisocianato
IV	Espectroscopia de infravermelho
IP	Índice de polidispersidade
LDI	Lisina diisocianato
MDI	4,4-Difenilmetano diisocianato
ME	Meio de extração
MEK	Metiletilcetona
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MTT	3-(4,5-Dimetilazol-2il)-2,5-difeniltetrazólio
M _n	Massa molar numérica média
M _w	Massa molar ponderal média
OD	Densidade ótica
PBS	Solução tampão fosfato
PCL	Poli (caprolactona) diol
PDO	Poli (dioxanona)
PEG	Poli (etilenoglicol)
PGA	Poli (ácido glicólico)
PLA	Poli (ácido L-láctico)
PTFE	Poli (tetrafluoroetileno)
PU	Poliuretano

SFB	Soro fetal bovino
TDI	2,6-Tolueno diisocianato
TGA	Análise termogravimétrica
USP	<i>United States pharmacopeia</i>
VN	Vermelho neutro

RESUMO

CABRAL, Emanuelli Lourenço. **Síntese e caracterização de poliuretanos bioestáveis com potencial aplicação na área cardiovascular**. Porto Alegre. 2012. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL.

A procura por materiais que possam substituir ou restaurar tecidos danificados deve-se à busca por melhor qualidade de vida da população. Levando em consideração que doenças cardiovasculares são as principais causas de mortes no Brasil (Banco de Saúde, 2010), necessita-se de dispositivos que possuam eficácia na regeneração cardíaca, abordando questões de segurança à longo prazo e promovendo a cicatrização de vasos vasculares (PR Newswire, 2010). Neste sentido, o presente trabalho desenvolveu a síntese de poliuretanos bioestáveis a partir da reação de policaprolactona diol (PCL) com diferentes diisocianatos (HDI e H₁₂MDI), caracterizando-os por meio de análise morfológica (MEV), térmica (TGA e DSC), mecânica (DMA) e estrutural (IV), como também, avaliando sua citotoxicidade *in vitro*, através de testes para a avaliação da viabilidade celular (teste VN e MTT) e proliferação celular (teste Azul de Tripán) utilizando células fibroblásticas NIH-3T3, comparando-os com materiais comerciais, Dacron e PTFE. Os resultados obtidos mostraram que os poliuretanos sintetizados apresentaram massa molar ponderal média (M_w) variando entre 30000 e 263000 g/mol, bem como, uma plasticidade dependente do polioliol utilizado. O comportamento mecânico destes poliuretanos mostrou-se semelhante ou superior aos materiais comerciais, Dacron e PTFE. Os testes de bioestabilidade mostraram que houve perda de massa abaixo de 20% dos materiais expostos à degradação hidrolítica no período de 270 dias e abaixo de 5% na degradação enzimática no período de 30 dias. A viabilidade celular dos poliuretanos mostrou-se superior a 80%, consideradas não citotóxicas. Os poliuretanos avaliados neste estudo apresentaram resultados favoráveis para seu uso como biomaterial em possíveis aplicações cardiológicas.

Palavras-Chaves: biopolímeros, poliuretanos, membranas cardiovasculares.

ABSTRACT

CABRAL, Emanuelli Lourenço. **Synthesis and characterization of biostable polyurethanes with potential application in cardiovascular area**. Porto Alegre, 2012. Master. Graduation Program in Materials Engineering and Technology, PONTIFICAL CATHOLIC UNIVERSITY OF RIO GRANDE DO SUL.

The search for materials that can replace or restore damaged tissues is due to the search for better life quality of the population. Considering that cardiovascular diseases are the main causes of death in Brazil (Banco de Saúde, 2010), needs some devices that have efficacy in cardiac regeneration, addressing about issues of long-term safety and promoting the healing of vascular vessels (PR Newswire, 2010). In this sense, this paper developed the synthesis of biostable polyurethanes from the reaction of polycaprolactone diol (PCL) with different diisocyanates (HDI and H₁₂MDI), characterizing them by morphological analysis (MEV), thermal (TGA and DSC), mechanical (DMA) and structural (IV), but also evaluating their *in vitro* cytotoxicity, by testing for the evaluation of cell viability (MTT and VN test) and cell proliferation (Trypan Blue test) using NIH-3T3 fibroblast cells, comparing them with commercial materials, Dacron and PTFE. The obtained results showed that the synthesized polyurethanes had average molar weight (M_w) ranging between 30000 and 263000 g/mol, as well as a plasticity depended of polyol used. The mechanical behavior of polyurethanes showed similar or greater than the commercial material, Dacron and PTFE. The biostability tests showed that there was mass loss below 20% of the materials exposed to hydrolytic degradation in the period of 270 days and below 5% in the enzymatic degradation in the period of 30 days. The cell viability of polyurethanes was superior to 80%, considered non-cytotoxic. Polyurethanes in this study showed favorable results for its possible use as biomaterial in cardiac applications.

Key-words: biopolymers, polyurethanes, cardiovascular membranes.

1. INTRODUÇÃO

Avanços em biomateriais poliméricos têm ocorrido na busca de melhores implantes cardiovasculares, porque grande parcela da população mundial apresenta problemas associados com esta condição (Venkatraman, 2008). Segundo dados do DATASUS, cerca de 66000 pessoas morrem todos os anos devido ao infarto do coração em nosso País (Banco de Saúde, 2010), representando importante problema de saúde pública não só no Brasil, mas em todo o mundo (Gus, 2002), que apresentou 18 milhões de óbitos em 2005, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (2011). Sendo que, a reparação ou substituição da válvula do coração são opções para auxiliar a resolver os problemas cardíacos da população (Mohammadi, 2011). Além de que, um aumento do número de procedimentos cirúrgicos e intervencionistas na área cardiovascular demonstra a busca pelo desenvolvimento e a utilização de uma ampla gama de próteses e dispositivos médicos, incluindo válvulas cardíacas, enxertos vasculares, stents, entre outros (Schoen, 2010; Kushwaha, 2010).

O desenvolvimento de biomateriais mostra-se importante, no sentido que desse desenvolvimento possa ocorrer um aumento na expectativa e qualidade de vida da população. Durante as últimas décadas, materiais e dispositivos sintéticos têm sido desenvolvidos para serem usados na substituição de peças dos sistemas vivos no corpo humano, tendo biofuncionalidade e biocompatibilidade com mínima reação adversa ou rejeição pelo organismo (Cohen, 2009).

Segundo pesquisa de mercado publicado pela MarketsandMarkets em maio de 2011, o mercado de biomateriais no Brasil deve chegar a 1,7 bilhões de dólares em 2015, com um crescimento de 19,5% entre 2010 a 2015. Sendo que, em 2009, o mercado ortopédico registrou receita de 236,5 milhões de dólares ou 37,5% do

mercado total de biomateriais, enquanto que o mercado cardiovascular contribuiu com 36% do mercado total de produtos, sendo o segundo maior mercado (MarketsandMarkets, 2011).

Hoje em dia, os materiais sintéticos mais utilizados para a fabricação de próteses vasculares são o Dacron (polietilenotereftalato) e o PTFE (politetrafluoroetileno), sendo materiais quimicamente estáveis após a implantação (Cohen, 2009; Mohammadi, 2011). Porém, nos últimos 20 anos têm tido um avanço no desenvolvimento de poliuretanos (Loh, 2008; Nair, 2007), utilizados desde marca-passo cardíaco até enxertos vasculares, devido a sua excelente biocompatibilidade e propriedade mecânica (Nair, 2007), sendo uma das alternativas para substituir e melhorar esses materiais que já existem.

No presente trabalho, foi estudada a síntese, caracterização, estudo de citotoxicidade *in vitro* e análise da bioestabilidade de poliuretanos com potencial aplicação na área cardiovascular como membranas para restauração de artérias e veias.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é a síntese de poliuretanos (PU) bioestáveis e seu estudo *in vitro* para utilização destes materiais na área médica, com possível aplicação cardiovascular.

2.1. Objetivos Específicos

O presente trabalho possui os seguintes objetivos específicos:

- Sintetizar poliuretanos bioestáveis a partir de diferentes misturas de diisocianatos: 1,6-hexametileno diisocianato (HDI) e 4,4-diciclohexilmetileno diisocianato (H₁₂MDI) e poliól policaprolactona diol (PCL) com diferentes massas molares;
- Caracterizar os poliuretanos sintetizados por meio de análise estrutural, térmica, mecânica e morfológica;
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* e a proliferação celular dos poliuretanos sintetizados e compará-los com os materiais convencionais, Dacron e PTFE;
- Avaliar a estabilidade de alguns dos poliuretanos sintetizados e compará-los com os materiais convencionais, Dacron e PTFE, frente à degradação *in vitro* hidrolítica e enzimática.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Biomateriais Poliméricos

Quando a estrutura biológica de um órgão ou tecido não pode ser reparada, a alternativa viável para o restabelecimento das funções normais do paciente é repô-la com um implante feito de um biomaterial (Barbanti, 2005). Os biomateriais são materiais usados em contato com tecidos vivos no intuito de restaurar ou substituir tecidos danificados, podendo ser definidos como uma substância de origem natural ou sintética, utilizada como um todo ou parte de um sistema que avalia, restaura ou substitui algum órgão, tecido ou função do corpo (Helmus, 2008).

Os biomateriais devem ser isentos de produzir qualquer resposta biológica adversa local ou sistêmica, ou seja: o material deve ser não-tóxico, não-carcinogênico, não-antigênico e não-mutagênico. Em aplicações sanguíneas, eles devem também ser não-trombogênicos. Podem ser classificados de acordo com o seu comportamento fisiológico em (Hench, 1993):

Biotoleráveis: materiais apenas tolerados pelo organismo, sendo isolados dos tecidos adjacentes através da formação de camada envoltória de tecido fibroso. Esta camada é induzida pela liberação de compostos químicos, íons, produtos de corrosão e outros por parte do material implantado. Os materiais biotoleráveis são praticamente todos os polímeros sintéticos assim como a grande maioria dos metais.

Bioinertes: materiais também tolerados pelo organismo, mas em que a formação de envoltório fibroso é mínima, praticamente inexistente. O material não libera nenhum tipo de componente ou, mais realisticamente, em quantidades

mínimas. A quantidade de células fagocitárias na interface é mínima, a resposta fagocítica será passageira e uma fina cápsula tomará lugar após o implante. Em alguns casos esta camada é praticamente imperceptível. Os materiais bioinertes mais utilizados são alumina, zircônio, titânio, ligas de titânio e carbono.

Bioativos: materiais em que ocorrem ligações de natureza química entre material e tecido ósseo (osteointegração). Em função da similaridade química entre estes materiais e a parte mineral óssea, os tecidos ósseos se ligam a estes materiais, permitindo a osteocondução através do recobrimento por células ósseas. Os principais materiais desta classe são os vidros e vitro-cerâmicas à base de fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita e os compostos de fosfato de cálcio.

Absorvíveis: materiais que após certo período de tempo em contato com os tecidos acabam sendo degradados, solubilizados ou fagocitados pelo organismo. Tais materiais são extremamente interessantes em aplicações clínicas em função de ser desnecessária nova intervenção cirúrgica para a retirada do material de implante. Os principais exemplos destes materiais são os biopolímeros, como o poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido glicólico) (PGA), entre outros.

Em função do tempo de permanência no corpo humano, os implantes podem ser classificados em dois grandes grupos, permanentes ou temporários. Implantes permanentes quase sempre geram fenômenos crônicos de inflamação, sendo uma resposta tipicamente benigna a um corpo estranho, mas que podem conduzir a complicações clínicas mais severas, como a contração dos tecidos. Dentre os materiais utilizados como implantes, os polímeros apresentam grande potencial de uso, pois são, geralmente, fáceis de produzir, manusear e apresentam características mecânicas semelhantes aos dos materiais biológicos (Barbanti, 2005).

Desde a década de 1940, com o início da utilização do poli (metilmetacrilato) como lente ocular artificial, polímeros têm contribuído consideravelmente para o avanço na Medicina, sendo historicamente o material de escolha para implantes, tendo sucesso em aplicações como câncer de próstata (Berger, 2005); câncer de

cérebro (Westphal, 2003); contracepção feminina (Westhoff, 2003); queimaduras na pele (Eaglstain, 1997), entre outros. As razões incluem a facilidade de produção, o controle sobre as propriedades do polímero e versatilidade de manipulação (Venkatraman, 2008) e por possuírem características capazes de se adequarem a diferentes situações (Soares, 2008).

Sendo que, para um polímero ser usado como um biomaterial, algumas condições devem ser cumpridas. Uma exigência primária é a biocompatibilidade que significa ausência de toxicidade (Dubois, 1991; Nair, 2007; Vert, 2008). Algumas das propriedades inerentes de biomateriais poliméricos que podem ter um efeito sobre sua biocompatibilidade incluem massa molar, solubilidade, forma e estrutura do implante, hidrofiliabilidade, hidrofobicidade e degradação, entre outros (Hench, 1993; Nair, 2007), podendo produzir um impacto significativo a curto e longo prazo no biomaterial implantado (Anderson, 2008).

3.2. Membranas Cardiovasculares

A complacência entre a artéria hospedeira e o enxerto vascular torna-se uma importante questão quando se trata de escolher o tipo certo de material para determinada implantação (Kidson, 1983). A capacidade de materiais poliméricos manterem ou simularem a hemodinâmica natural baseia-se no fato de terem uma estrutura flexível, que simula a rigidez exibida pelo tecido natural da válvula do coração e permite que eles se contraiam e expandam livremente em conformidade com o movimento da raiz da aorta durante o ciclo cardíaco para permitir um fluxo natural do sangue (Mohammadi, 2011). Sendo que, um estudo realizado por Kidson (1983), demonstrou a importância das propriedades mecânicas dos enxertos, em relação ao substrato biológico, pois se mostram menos propensos à oclusão, mantendo a complacência durante a implantação de enxertos de veia, Dacron e PTFE em modelo de baixo fluxo de revascularização da artéria canina femoral.

Atualmente os materiais sintéticos mais utilizados são o Dacron (politereftalato de etileno) e o PTFE (politetrafluoroetileno), produzidos pela DuPont™ (Dacron® e Teflon® PTFE) e/ou pela Gore (nome comercial do e-PTFE:

Gore-tex) (Cohen, 2009; Wong, 2008; Xue, 2003), como também, poliuretanos (PUs) (Loh, 2008; Nair, 2007), utilizados desde marca-passo cardíaco até enxertos vasculares (Nair, 2007) e próteses biológicas de pericárdio bovino (Marques, 2007).

O Dacron e PTFE são usados como implantes vasculares, porque são materiais biologicamente inertes, flexíveis e resistentes, não sofrem degradação biológica (Wong, 2008) e possuem alta cristalinidade (Xue, 2003). Os poliuretanos também podem ser utilizados para diferentes aplicações, como balão intraórtico (Gorna, 2002; Grad, 2003), pois suas características químicas e mecânicas dependem da combinação entre o diisocianato e o poliól usado em sua síntese (Gorna, 2002).

Contudo, estes materiais comerciais, Dacron e PTFE, possuem algumas limitações como trombogenicidade e calcificação (Iwai, 2004; Xue, 2003). De acordo com Ozawa e colaboradores (2002), em estudo no reparo do ventrículo direito do coração de ratos utilizando PTFE e polímeros baseados em poli (ácido glicólico) (PGA), poli (ácido L-láctico) (PLA) e poli (caprolactona) (PCL), as células hospedeiras não migraram para o biomaterial PTFE, ao contrário do ocorrido com os outros materiais, que favoreceram a colonização celular em suas matrizes, como mostra a Figura 3.1.

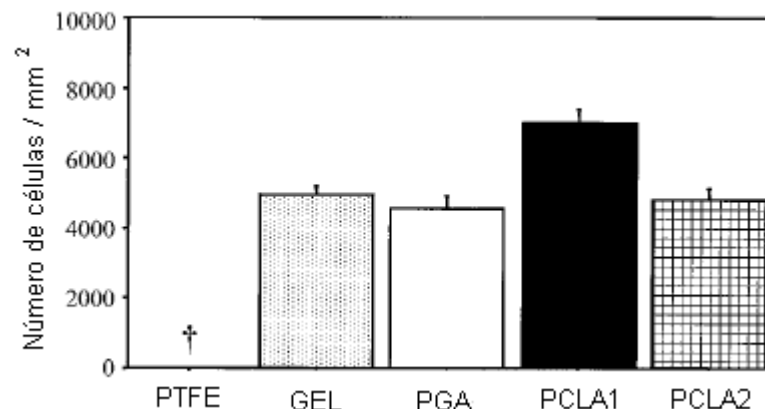


Figura 3.1. Número de células após 8 semanas de implantação no ventrículo direito de ratos adultos. As membranas estudadas foram de PTFE, gelatina (GEL), PGA, poli (caprolactona-lactide) (PCLA1 e PCLA2) (Ozawa, 2002).

Sendo que, para avaliar a adequação do material para a aplicação cardiovascular como um implante de longo prazo, por exemplo, o PCL que possui uma taxa de degradação lenta, permanecendo estável aproximadamente 36 meses (Barbanti, 2005; Asthon, 2011), os critérios de biocompatibilidade têm que incluir as reações que incidem sobre carcinogenicidade, toxicidade e bioestabilidade (Cohen, 2009).

3.2.1. PTFE

O PTFE (Figura 3.2) tem sido usado em muitas aplicações clínicas nas últimas décadas, tendo uma importante aplicação na substituição de tecidos moles e cirurgia reconstrutiva, tendo sua primeira aplicação médica de sucesso em próteses vasculares. É um homopolímero não-reativo e não-tóxico quando implantado em tecidos biológicos (Catanese et al, 1999; Xue, 2003).

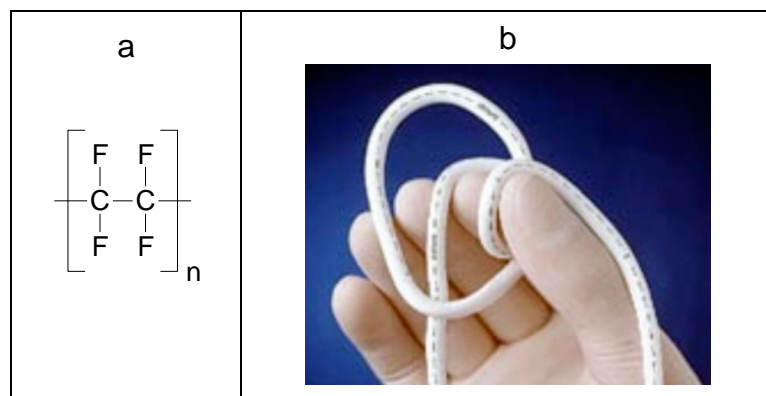


Figura 3.2. (a) Estrutura química do PTFE e (b) figura ilustrativa do PTFE comercial (Cohen, 2009).

O biomaterial PTFE é um polímero de fluorocarbono, formado por um processo de extrusão, produzindo um material com estrutura de fibras finas e nós sólidos, que se ligam entre si, com uma distância média internodal de 30 μm para um enxerto padrão, formando um material poroso (Xue, 2003; Cohen, 2009), conforme apresentado na Figura 3.3 (Catanese, 1999). Sendo que, a porosidade do enxerto está associada ao aumento da permeabilidade do crescimento tecidual (Xue, 2003).

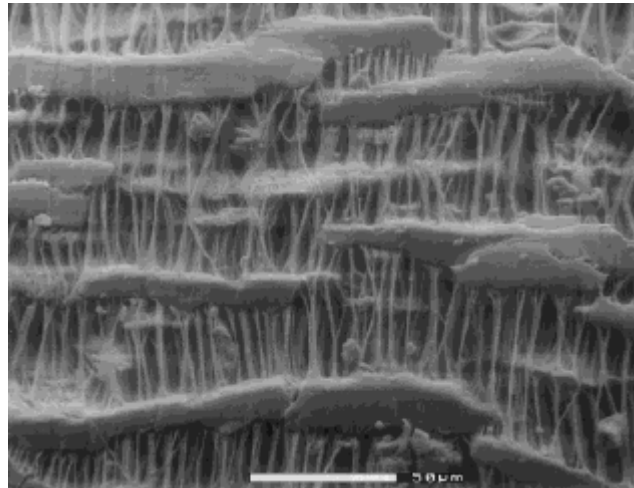


Figura 3. 3. Micrografia do e-PTFE (Catanese, 1999).

3.2.2. Dacron

O Dacron (Figura 3.4) é um poliéster aromático e linear fabricado pela primeira vez pela DuPont™, no começo dos anos 40. Suas aplicações incluem suturas, implantes vasculares entre outros. É um material bioestável, promovendo regeneração tecidual e possui uma longa história em implantações humanas. Apesar de sua eficácia na área de implantes vasculares, esses materiais apresentam algumas características que podem limitar seu uso como o módulo de elasticidade que difere dos tecidos arteriais e, em alguns casos, sua biocompatibilidade é menor podendo causar danos, como a trombose (Metzger, 1994).

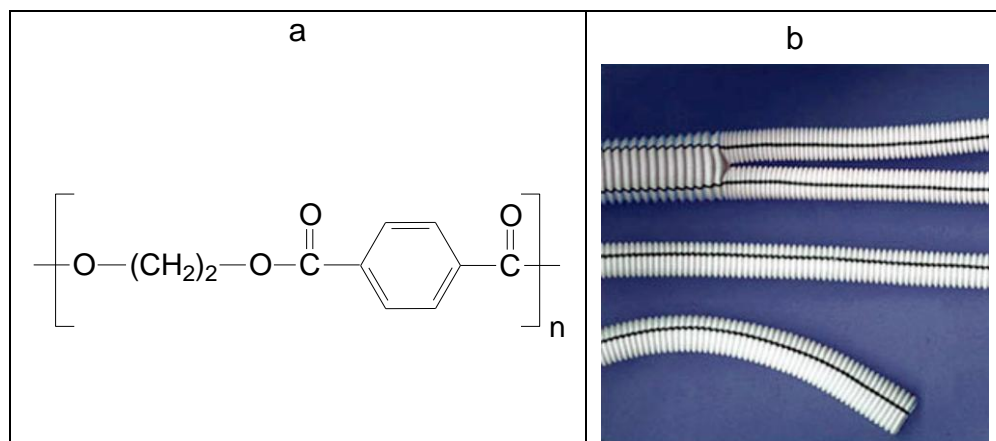


Figura 3.4. (a) Estrutura química do Dacron e (b) figura ilustrativa do Dacron comercial (Cohen, 2009).

O Dacron pode ser fabricado como um tecido ou uma malha. Sendo que, os enxertos em forma de tecido podem gerar resultados limitados em relação à porosidade. Por outro lado, os enxertos em forma de malha são feitos com uma técnica em que os fios geram alta porosidade (Xue, 2003), como apresentado na Figura 3.5 (Chandy, 2000).

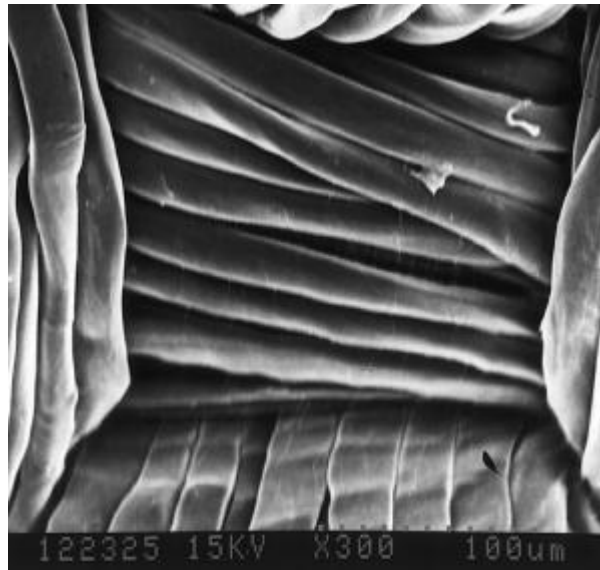


Figura 3.5. Micrografia do Dacron – Gelseal™ (Chandy, 2000).

Dados mostram que a porosidade é um fator chave para o crescimento de tecido através de próteses de Dacron, levando ao crescimento tecidual sobre toda a prótese, porém, exibiram estenose por 2 meses após a operação (Tsukada, 2004) e mostraram-se propensos a dilatar quando implantados no ambiente arterial (Xue, 2003).

Nem todos os poliésteres sofrem degradação, havendo raros exemplos da degradação de polietileno tereftalato (Dacron®), cuja utilização em próteses vasculares não demonstrou qualquer biodegradação clínica (Anderson, 2008), podendo ter sua estabilidade por mais de 10 anos após implantação (Xue, 2003).

Riepe e colaboradores (1997) citam que, Rudokova em 1979, previu a degradação completa de fibras de poliéster após 30 anos de implantação em humanos e cachorros. Com diminuição da resistência em 50% após 10 anos sob

condições similares, como também, ocorrem aneurismas de sutura, oclusão, infecção ou falha do enxerto.

3.3. Poliuretanos

Os poliuretanos foram descobertos em 1937 quando Heinrich Rinke sintetizou o 1,6-hexametileno diisocianato (HDI) e Otto Bayer desenvolveu o processo de poliadição de diisocianatos (Dodge, 2003). Sendo introduzidos pela primeira vez no mercado de dispositivos médicos, como compósitos de espuma de prótese mamária (Cohen, 2009; Handel, 2006; Maxwell, 2009; Santerre, 2005), porém, atualmente, possuem diversas aplicações (Gorna, 2002; Grad, 2003). Desde então, muito trabalho e desenvolvimento foram feitos para melhorar as suas características e bioestabilidade (Cohen, 2009), desenvolvendo-se poliuretanos altamente flexíveis e fortes. Sendo que, as propriedades mecânicas destes polímeros estão diretamente relacionadas à combinação dos constituintes das cadeias poliméricas, tamanho dos segmentos flexíveis, razão molar NCO/OH, tipo de extensor de cadeia e presença ou não de solventes na síntese (Gorna, 2002).

Estes polímeros podem ser formados através da reação de poliisocianatos e poliálcoois, além de extensores de cadeia como dióis, diaminas e disulfetos (Jahno *apud* Hori, 1992; Lazdina, 2006), formando o grupo uretano, como mostra a Figura 3.6 (Dodge, 2003; Nair, 2007).



Figura 3.6. Reação genérica da formação do poliuretano (Dodge, 2003).

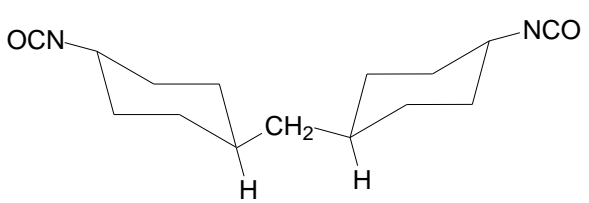
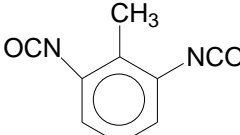
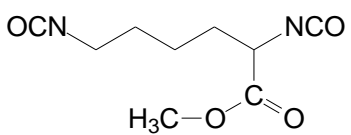
A cadeia uretânica consiste de uma sequência alternada de segmentos flexíveis (se devem aos polióis) e segmentos rígidos (se devem aos diisocianatos e extensores de cadeia) (Xue, 2003). Assim, as características de um polímero

poliuretano dependem diretamente da natureza do isocianato e do poliól utilizados na síntese, podendo ser preparados para aplicações específicas através da variação de parâmetros como: extensão, distribuição de segmentos flexíveis e rígidos, massa molar e grau de ramificação nas cadeias (Meyer, 2007; Bernacca, 2002).

Os polióis mais usados são basicamente de duas classes, derivados de poliéster e de poliéter. Os poliéteres são usados em maior abrangência devido à disponibilidade de ampla faixa de massa molar e características como viscosidade, composição e funcionalidade. Os poliésteres apresentam baixa estabilidade hidrofílica e degradação frente a álcalis, o que torna este tipo de poliól atrativo para uso na síntese de poliuretanos biodegradáveis (Vilar, 2008).

Os principais diisocianatos, alifáticos e aromáticos, utilizados na síntese de sistemas poliuretanos, como também exemplos de polióis estão apresentados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Principais diisocianatos e polióis usados na síntese de poliuretanos.

	Estruturas	
Diisocianatos	$\text{OCN}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NCO}$ <p>hexametileno diisocianato (HDI)</p>	
	$\text{OCN}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NCO}$ <p>4,4-difenilmetano diisocianato (MDI)</p>	
	 <p>4,4-diciclohexilmetileno diisocianato (H₁₂MDI)</p>	
	 <p>2,6-tolueno diisocianato (TDI)</p>	 <p>lisina diisocianato (LDI)</p>
	Polióis	$\text{HO}-\left[\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O} \right]_n-\text{H}$ <p>polietilenoglicol (PEG)</p>
$\text{H}-\left[\text{O}-\text{(CH}_2\text{)}_5-\text{C}(=\text{O})-\text{O} \right]_n-\text{O}-\text{(CH}_2\text{)}_2-\text{O}-\text{(CH}_2\text{)}_2-\text{O}-\left[\text{C}(=\text{O})-\text{(CH}_2\text{)}_5-\text{O} \right]_n-\text{H}$ <p>poli (caprolactona) diol (PCL)</p>		
$\left[\text{O}-\text{(CH}_2\text{)}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O}) \right]_n$ <p>poli (dioxanona) (PDO)</p>		

Jahno (2009) mostrou que filmes de PU-PCL obtiveram uma resposta inflamatória discreta, quando usados em tecidos para regeneração nervosa e óssea não causando necrose ou reação fibrótica nos tecidos adjacentes à lesão. Para a engenharia de tecidos moles, suportes elásticos são desejáveis, uma vez que são passíveis de condicionamento mecânico que poderia ser requerido durante o

desenvolvimento do tecido (Fujimoto, 2007), pois tecidos mais duros, como ossos, são mais bem tratados com metais e cerâmicas (Venkatraman, 2008). Dado a natureza termoplástica destes polímeros, há também a hipótese de poliuretanos serem fabricados em *scaffolds* flexíveis, usando uma variedade de técnicas, como *electrospinning*, lixiviação de solvente/sal e inversão de fase (Guan, 2005).

Um estudo com amostras de poli (éter-uretano) (PEU) demonstrou que este material possui degradação através do segmento flexível poliéter, levando a quebra das cadeias, reduzindo a massa molar e as propriedades mecânicas. Sendo que, estudos têm-se centrado na capacidade de macrófagos derivados de enzimas, possuírem a facilidade de degradar poliuretanos (Anderson, 2008).

A primeira geração de enxertos vasculares de PU foi desenvolvida utilizando poliéster, resultando em dispositivos, como Vascugraft, fabricado por B. Braun Melsungen AG (Melsungen, Alemanha), mostrando boa biocompatibilidade. Quando comparado com enxertos de PTFE, o enxerto de PU não mostrou nenhuma diferença significativa na formação neointimal no modelo de aorta canina (Xue, 2003), apresentando rápido crescimento tecidual sem reações adversas (Gunatillake, 2003).

Os implantes de prótese vascular têm sido usados como forma de minimizar ou reparar doenças cardiológicas como obstruções e lesões das válvulas cardíacas através da revascularização efetiva ou temporária até a neovascularização na área atingida além do processo obstrutivo (Chouin, 2008). Análogo ao efeito perseguido por Fujimoto e colaboradores (2007), demonstrando que a aplicação regional de uma membrana cardíaca de poliuretano elástico impediu a dilatação do ventrículo esquerdo e a função contrátil, melhorando um modelo de infarto subagudo em rato, como apresentado na Figura 3.7, em que apresenta cortes histológicos da parede miocárdica do coração destes ratos antes e depois de 8 semanas de implantação.

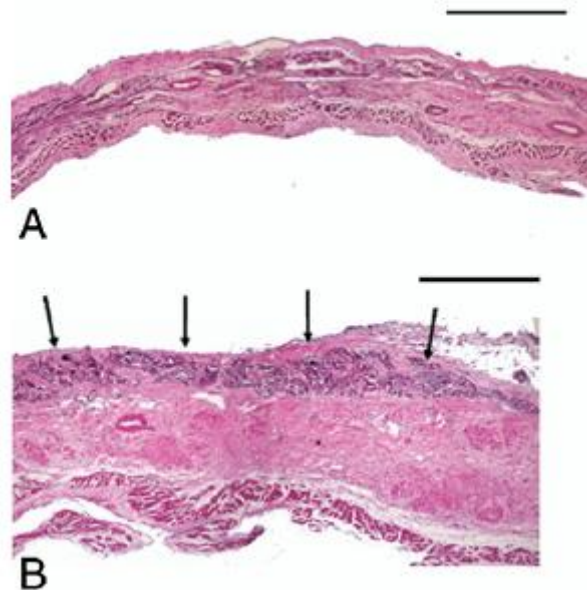


Figura 3.7. Cortes histológicos da parede do miocárdio de ratos com infarto (a) e com a membrana de poliuretano (b) após 8 semanas de implantação; corados com hematoxilina e eosina. As setas pretas indicam a área de PU implantado (Fujimoto, 2007).

3.4. Avaliação da citotoxicidade

O campo da Medicina regenerativa tenta encontrar soluções para a regeneração incompleta de tecidos no corpo humano, empregando células vivas, biomateriais ou uma combinação destas para restaurar a estrutura e propriedades funcionais do tecido normal (Bouten, 2011). O cultivo de células *in vitro* constitui uma valiosa ferramenta para se conhecer os mecanismos pelos quais os biomateriais podem produzir reações adversas a nível celular, sendo aceito como um ótimo método sensível para testes de biocompatibilidade (Viezza *apud* Briganti, 2006; Bhatia, 2008).

Os testes *in vitro* se dividem em dois tipos, o primeiro sendo o método de contato direto e o segundo um método de contato indireto. No primeiro, as células são colocadas em contato com o material em teste, sendo normalmente semeadas na forma de uma suspensão celular sobre o material, estes sendo de acordo com a norma da ASTM F-813-83. Já os métodos de contato indireto podem ser também divididos em dois tipos: aqueles em que o material a ser testado é separado das

células por uma barreira de difusão de ágar (baseada na norma ASTM F-895-84) e o segundo tipo, o teste por meio de extração (ME) baseado na ISO 10993-5 – Avaliação biológica de dispositivos médicos – Parte 5: Testes para citotoxicidade: métodos *in vitro* (1999).

A análise das respostas celulares dos biomateriais pode ser feita por meio da análise da morfologia celular, de teste de adesão, proliferação e diferenciação. Sendo que, os estudos de proliferação fornecem informações sobre o comportamento celular em relação a um material controle, assim, o fato das células proliferarem mais ou menos sobre o material do que no controle, indica que o material afeta, de algum modo, o comportamento celular (Jahno *apud* Anselme, 2000). Da mesma maneira, a avaliação da citotoxicidade pode ser feita pela contagem de células, utilizando-se um hemocitômetro (Jahno *apud* Costa, 1999).

Existem diferentes tipos de ensaios usados para verificar a viabilidade celular dos materiais, como o teste de MTT descrito primeiramente por Mossman (1983), que analisa a viabilidade mitocondrial (Silva, 2010; Guan, 2005), o Azul de Tripán, que analisa a viabilidade da membrana plasmática e proliferação celular, o Vermelho Neutro (VN), que analisa a viabilidade lisossomal (Borenfreund, 1984; Svendsen, 2004), e o teste de Proteínas, que analisa indiretamente a proliferação celular (Ziulkoski, 2011).

3.5. Avaliação da bioestabilidade

As últimas duas décadas do século XX mostraram um paradigma entre biomateriais bioestáveis e biomateriais biodegradáveis (hidroliticamente e enzimaticamente) em aplicações médicas (Nair, 2007).

O modo de biodegradação de biomateriais poliméricos envolve a quebra hidrolítica ou enzimática (Anderson, 2008) de suas cadeias. Biopolímeros degradados hidroliticamente são afetados pelo tamanho, hidrofobicidade e cristalinidade dos polímeros (Ashton, 2011), tendo como grupos funcionais suscetíveis a hidrólise, ésteres, carbonatos, amidas, entre outros (Nair, 2007).

Sendo que, muitos fatores determinam a resposta inflamatória e a taxa de degradação de polímeros biodegradáveis, entre eles: local de implante, solicitação mecânica, massa molar, distribuição da massa molar, composição química, cristalinidade, sua morfologia, envolvendo o tamanho e geometria do suporte desenvolvido, porosidade, rugosidade da superfície, pH, presença de aditivos e outros (Barbanti, 2005).

Ashton e colaboradores (2011) avaliaram que poliuretanos são mais complacentes, permitindo a permanência do implante em longo prazo, enquanto materiais que degradam rapidamente poderiam agir com sucesso na liberação controlada de drogas.

Dessa maneira, os testes de biodegradabilidade dos materiais foram realizados no intuito de verificar a estabilidade e o comportamento dos mesmos frente a ação da degradação hidrolítica, por meio da cisão das cadeias poliméricas pela presença de grupos susceptíveis a água (Gorna,2002; Schnabel, 1981), afetado pelo tamanho e cristalinidade do polímero, como pelo pH do meio (Ashton, 2011). Chan-Chan e colaboradores (2010) mostraram que algumas amostras de poliuretano sob ação da degradação hidrolítica obtiveram maior perda de massa do que o conteúdo de segmento flexível presente no polímero, sugerindo que o segmento rígido também foi degradado.

Assim como, verificar a estabilidade e o comportamento dos materiais frente a ação enzimática, que varia com o local de implante dependendo da concentração e viabilidade das enzimas (Ashton, 2011) encontradas quando o material é implantado *in vivo* (Chan-Chan, 2010). Sendo que, a taxa de degradação enzimática de polímeros baseados em PCL não foi catalisada pela ação da enzima lipase pancreática de porco (Peng, 2010), mostrando ser um material com boa estabilidade, apresentando perda de massa, devido ao ataque enzimático, de aproximadamente 12% em 45 meses (Ashton, 2011).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

As sínteses dos poliuretanos (PUs) e caracterizações destes e dos materiais comerciais, Dacron e PTFE, foram realizadas, respectivamente, no Laboratório de Organometálicos e Resinas (LOR) e no Laboratório de Caracterização de Materiais da Faculdade de Química da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). As análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram realizadas no Centro de Microscopia e Microanálises (CEMM) da PUCRS. Os testes de citotoxicidade foram feitos no Laboratório de Microbiologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Feevale.

4.1. Materiais

Tabela 4.1. Reagentes utilizados nas sínteses dos poliuretanos.

Produto	Origem	MM (g/mol)	Densidade (g/cm ³)
Policaprolactona diol (PCL)	Aldrich	2000	-
Policaprolactona diol (PCL)	Aldrich	10000	-
Hexametileno diisocianato (HDI)	Aldrich	168,20	1,05
Diciclohexilmetileno diisocianato (H₁₂MDI)	Bayer	262,34	1,07
Dibutildilaurato de estanho (DBTDL)	Miracema-Nuodex	631,56	1,06
Metiletilcetona (MEK)	Merck	72,10	0,82

*Os reagentes foram usados como recebidos.

4.2. Síntese dos poliuretanos

Os poliuretanos foram sintetizados por meio de uma única etapa, conforme descrito na literatura (Ligabue, 2009) onde o polímero poliuretano é obtido pela reação entre o poliól e o diisocianato (razão molar NCO/OH = 1,0 –1,1) em meio solvente (MEK, aproximadamente 60 mL), utilizando DBTDL (0,1% p/p) como catalisador a 50 °C. A reação foi acompanhada através da técnica de titulometria com N-dibutilamina (teor residual de NCO livre) conforme método descrito na literatura (ASTM D-1638).

A Tabela 4.2 mostra os diisocianatos e polióis utilizados nas sínteses dos polímeros, bem como a denominação dada a cada poliuretano obtido.

Tabela 4.2. Materiais utilizados na síntese dos poliuretanos.

Poliuretano	Diisocianato	Poliól
PU-1	HDI/H ₁₂ MDI (2:1)	PCL 2000
PU-2	HDI/H ₁₂ MDI (1:2)	PCL 2000
PU-3	H ₁₂ MDI	PCL 2000
PU-4	HDI	PCL 10000
PU-5	HDI/H ₁₂ MDI (1:2)	PCL 10000
PU-6	HDI/H ₁₂ MDI (2:1)	PCL 10000
PU-7	HDI/H ₁₂ MDI (5:1)	PCL 10000

4.3. Técnicas de Caracterização

4.3.1. Espectroscopia de Infravermelho (IV)

As moléculas simples ou macromoléculas são constituídas de átomos e formam uma estrutura tridimensional, sendo que, esta estrutura molecular é responsável pelas diferentes propriedades moleculares (Canevarolo, 2007), e dependendo dos materiais utilizados na sua síntese, podem modular ou inibir o processo de deformação e degradação destes poliuretanos (Anderson, 2008).

Os espectros de Infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin Elmer Instruments Spectrum One FT-IR, modo ATR, no intervalo de 4000 a 650 cm^{-1} , utilizando célula de SeZn.

4.3.2. Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

Durante a polimerização, dá-se o crescimento independente de cada cadeia polimérica, produzindo cadeias com comprimentos diferentes, gerando a distribuição de massa molar, podendo ser observada na análise de GPC (Canevarolo, 2007).

As análises por cromatografia de permeação em gel (GPC) foram realizadas com HPLC pump-1515 isocrático utilizando detector de índice de refração Waters Instruments 2412 e THF como eluente. As amostras foram preparadas através de uma solução do PU em tetrahidrofurano (THF) com uma concentração de 5 mg/mL.

4.3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para o estudo da estrutura fina e da morfologia de materiais, têm-se várias técnicas de microscopia eletrônica, sendo que, o MEV é geralmente utilizado para o estudo da morfologia da superfície (Li, 2003; Canevarolo, 2007).

Os filmes de poliuretano foram preparados através de uma solução de 15% de PU em THF e utilizando um extensômetro de 700 μm , os filmes foram secos à

vácuo por 4 horas para total retirada do solvente para os poliuretanos PU-1, PU-2 e PU-3. A preparação dos filmes dos poliuretanos PU-5, PU-6 e PU-7 foi realizada através de uma solução de 20% de PU em THF e utilizando uma câmara de evaporação de solvente por meio do arraste forçado pela ação de gás nitrogênio.

As análises da morfologia e superfície das amostras foram realizadas utilizando o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), PHILIPS modelo XL30 com resolução de 3,5 nm (no modo elétron secundário) e faixa de aumentos de 100 a 4000 vezes, tensão de aceleração de 20 kV, utilizando ouro para metalização das amostras.

4.3.4. Análise Termogravimétrica (TGA)

Para conhecer as alterações que o aquecimento pode provocar na massa dos materiais, pode-se utilizar a análise termogravimétrica, permitindo estabelecer, entre outros aspectos, a faixa de temperatura em que começam a se decompor, por meio da variação da massa da amostra (perda ou ganho) (Canevarolo, 2007), permitindo estabelecer sua temperatura de processamento (Marcos-Fernández, 2006).

As análises termogravimétricas (TGA) foram realizadas utilizando um equipamento TA Instruments modelo Q600, variando da temperatura ambiente até 1200 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min em atmosfera de nitrogênio.

4.3.5. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Algumas transições ocorrem nos materiais que são analisados, sendo verificadas pela transição vítrea, fusão e cristalização, entre outros eventos, observados pela análise de Calorimetria Exploratória Diferencial, que mede a diferença de temperatura entre a amostra e a referência, quando submetidos a uma programação controlada de temperatura (Canevarolo, 2007).

As análises de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foram feitas utilizando um equipamento TA Instruments modelo Q20, em um intervalo de

temperatura de -90 a 200 °C para os PUs e um intervalo de -90 a 400 °C para os materiais comerciais, com uma variação de 10 °C/min em atmosfera de nitrogênio.

4.3.6. Análise Dinâmico-mecânica (DMA)

As propriedades mecânicas dos polímeros são caracterizadas pelo modo com que esses materiais respondem às solicitações mecânicas aplicadas, dependendo da estrutura química, temperatura, tempo entre outros fatores (Canevarolo, 2006).

Os ensaios de tensão versus deformação foram feitos utilizando-se um analisador Dinâmico-mecânico (DMA) da marca TA Instruments modelo Q800, a temperatura ambiente, rampa de força de 1 N/min e tensão máxima de 18 N. Os corpos de prova de poliuretano foram preparados da mesma maneira conforme descrito no item 4.3.3, com as dimensões de 0,5 cm x 3 cm e com espessuras entre 0,1 a 1,20 mm. Os corpos de prova dos materiais comerciais (Dacron e PTFE) também foram preparados com as mesmas dimensões, porém com espessura entre 0,8 a 1,20 mm. As análises foram feitas em quadruplicata.

4.4. Avaliação da citotoxicidade *in vitro*

4.4.1. Cultivos celulares

A linhagem celular utilizada foi a NIH-3T3, células fibroblásticas de camundongo. As células foram mantidas em garrafas de 25 cm² contendo meio de cultura DMEM (*Dulbeccos Modified Eagle Medium*) suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB) e gentamicina 0,1 mg/mL, a 37 °C, em atmosfera úmida com 5% de CO₂. Esse meio de cultivo é denominado meio de cultivo padrão.

4.4.2. Meio de extração

Para a realização dos testes foram utilizadas amostras dos materiais com área de $0,5 \text{ cm}^2$, as quais permaneceram 24 horas em 5 mL de meio DMEM com 10% de SFB. Após esse período, os meios foram filtrados com filtros de $0,22 \mu\text{m}$ para remoção de partículas e manutenção da esterilidade. Os meios assim obtidos foram denominados de meio de extração (ME) e foram utilizados a 100% ou misturados com igual volume de meio padrão, obtendo-se ME a 50%, para todos os polímeros avaliados.

4.4.3. Ensaios de citotoxicidade

Todos os testes de citotoxicidade foram avaliados nos tempos de 24, 48 e 72 horas em hexaplicata. Paralelamente, foram mantidas culturas apenas no meio de cultivo padrão, utilizadas como controle negativo.

Após a confluência as células foram plaqueadas em quatuplicata na densidade de 1×10^3 células por poço em placas de cultura de 96 poços (utilizadas para a análise com Dacron e PTFE) e na densidade de 4×10^3 células por poço em placas de cultura de 24 poços (utilizadas para a análise dos poliuretanos). Após o período de incubação as células expostas ao ME foram comparadas com o controle e avaliadas quanto à morfologia e atividade metabólica pelo teste de MTT [3-(4,5-dimetilazol-2il)-2,5-difeniltetrazólio], Vermelho Neutro (VN) e Azul de Tripán, pois o Grupo de Citotoxicidade pertencente ao ICS da Universidade Feevale trabalha apenas com estes testes. Todas as amostras foram repetidas três vezes e os dados obtidos foram tratados com teste estatístico ANOVA de 1 via e as diferenças foram avaliadas pelo pós-teste de Duncan ($p < 0,05$). O Quadro 4.1 apresenta os testes realizados para cada material.

Quadro 4.1. Testes de citotoxicidade ao qual cada material foi submetido.

Materiais	Testes
Dacron	VN, MTT
PTFE	VN, MTT
PU-4	VN, MTT, Azul de Tripan
PU-6	VN

O teste VN foi realizado para os poliuretanos PU-4 e PU-6 por apresentarem diferença na massa molar em relação aos outros polímeros sintetizados, como também, para os materiais comerciais, Dacron e PTFE. O teste de MTT foi realizado para os materiais comerciais e para o poliuretano PU-4 em função do tempo necessário, como também, devido às células estarem envelhecidas para analisar o PU-6. O teste Azul de Tripan foi realizado somente para o polímero PU-4, devido aos bons resultados de citotoxicidade obtidos pelos testes VN e MTT.

O teste Vermelho Neutro verifica a viabilidade lisossomal, em que, o corante é captado pelas células e, à medida que perde a coloração, a viabilidade diminui. Após exposição do material ao ME nos tempos determinados (24, 48 e 72 horas), todo o meio foi removido de cada poço da placa de cultura e adicionado uma solução contendo uma concentração de 50 µg/mL de VN e meio DMEM sem soro. Estes foram incubados em estufa à 37 °C durante 3 horas. Em seguida, os meios foram removidos e lavados 2 vezes com solução tampão fosfato (PBS), seguido de uma lavagem com uma solução contendo 1% de cloreto de cálcio em formaldeído 0,5%. Após o descarte, adicionou-se 200 µL de uma solução de 1% de ácido acético em 50% de etanol. As amostras foram agitadas em placa agitadora e transferidas alíquotas para uma placa de leitura, em que, utilizando-se o espectrofotômetro obteve-se a viabilidade celular dos materiais.

O teste de MTT é um ensaio colorimétrico quantitativo, sensível e de confiança que mensura a viabilidade mitocondrial pela redução do sal de formazan. Após exposição do material ao ME (24, 48 e 72 horas), adicionou-se 28 µL de MTT em uma concentração de 5 mg/mL em cada poço da placa de cultura e incubou-se em estufa à 37 °C durante 2 horas. Após o tempo de incubação, o meio foi removido e adicionou-se 200 µL de DMSO, observando uma coloração roxa. As alíquotas

foram transferidas para uma placa de leitura e, então, a conversão do produto de MTT (medida da viabilidade celular) foi mensurada por meio da densidade ótica (OD), utilizando-se um espectrofotômetro de microplacas equipado com filtro a 570 nm. A média da OD para o controle negativo (DMEM) representa 100% de viabilidade celular.

O teste Azul de Tripán verifica a integridade da membrana plasmática e proliferação celular, por contagem em hemocitômetro devido a concentração do corante na membrana plasmática das células viáveis. Após o tempo de exposição do material ao ME, todo o meio foi removido de cada poço da placa de cultura, sendo lavados 2 vezes com solução salina livre de cálcio e magnésio (CMF), adicionado 150 μL de tripsina e incubado em estufa à 37 °C durante 5 minutos. Dessa maneira, as células descolaram da parede do poço e foram homogeneizadas. Em seguida, os 150 μL de tripsina e as células descoladas foram colocados em um eppendorf contendo 300 μL de DMEM e 50 μL de tripsina. Dessa solução, 10 μL foram transferidas para um hemocitômetro para contagem das células viáveis e mortas utilizando microscópio ótico.

4.5. Testes de bioestabilidade *in vitro*

A bioestabilidade dos poliuretanos sintetizados, bem como, dos materiais comerciais (Dacron e PTFE), foi avaliada através de ensaios de biodegradação *in vitro*, a fim de analisar o comportamento destes em meio corpóreo simulado.

Para tanto, as amostras de PU e dos materiais comerciais depois dos tempos determinados sob ação da degradação *in vitro* foram caracterizadas por Espectroscopia de Infravermelho e Cromatografia de Permeação em Gel (somente os PUs) Microscopia Eletrônica de Varredura, Calorimetria Exploratória Diferencial e perda de massa, além de medidas de pH dos meios.

4.5.1. Degradação Hidrolítica

Os testes de degradação hidrolítica destes materiais foram realizados baseados na norma ASTM F1635 (2010), onde, dentro de tubos de ensaio, filmes dos poliuretanos, Dacron e PTFE, após serem esterilizados por óxido de etileno, foram imersos em solução tampão fosfato salino, PBS, (pH 7,4). Após, os tubos foram expostos a um banho termostatizado à 37 °C durante um tempo pré determinado (7 a 270 dias). Após cada período de tempo (7, 14, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 e 270 dias), as amostras foram retiradas do banho, lavadas com água destilada e secadas à vácuo em dessecador até obterem massa constante.

4.5.2. Degradação Enzimática

Os testes de degradação enzimática destes materiais foram realizados baseados no método descrito na literatura (Peng, 2010), em que filmes das amostras de tamanho 2x2 cm², após serem esterilizados por óxido de etileno, foram colocadas em um tubo de ensaio contendo 10 mL de solução tampão fosfato salino, PBS, (pH 7,4) contendo lipase pancreática de porco em uma concentração de 0,1 mg/mL e azida sódica em uma concentração de 0,02 % (p/v) como agente bacteriostático. A solução salina foi trocada todo dia para manter a atividade da enzima. Os tubos de ensaio foram mantidos à 37 °C em um banho termostatizado durante 30 dias. Após períodos pré-determinados de exposição (5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias), as amostras foram retiradas, lavadas com água destilada e secadas à vácuo em dessecador até obterem massa constante.

Para uma melhor compreensão das análises e ensaios feitos nos poliuretanos sintetizados e nos materiais comerciais, o Quadro 4.2 apresenta essas informações.

Quadro 4.2. Técnicas de caracterização ao qual cada material foi submetido.

Materiais	Técnicas
PU-6	IV MEV TGA DSC DMA Citotoxicidade Degradação hidrolítica e enzimática
PU-4	IV MEV TGA DSC DMA Citotoxicidade Degradação hidrolítica
PU-1 PU-2 PU-3	IV MEV TGA DSC DMA Degradação hidrolítica
PU-5 PU-7	IV MEV TGA DSC DMA
Dacron PTFE	MEV TGA DSC DMA Citotoxicidade Degradação hidrolítica e enzimática

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Síntese e caracterização dos poliuretanos

5.1.1. Espectroscopia de Infravermelho (IV)

A espectroscopia de infravermelho possibilitou a identificação e determinação dos grupos funcionais confirmando a síntese dos poliuretanos. A Figura 5.1 e Tabela 5.1 apresentam o espectro de IV do PU-1 e as atribuições do mesmo. Os demais espectros dos poliuretanos sintetizados encontram-se no Anexo A.

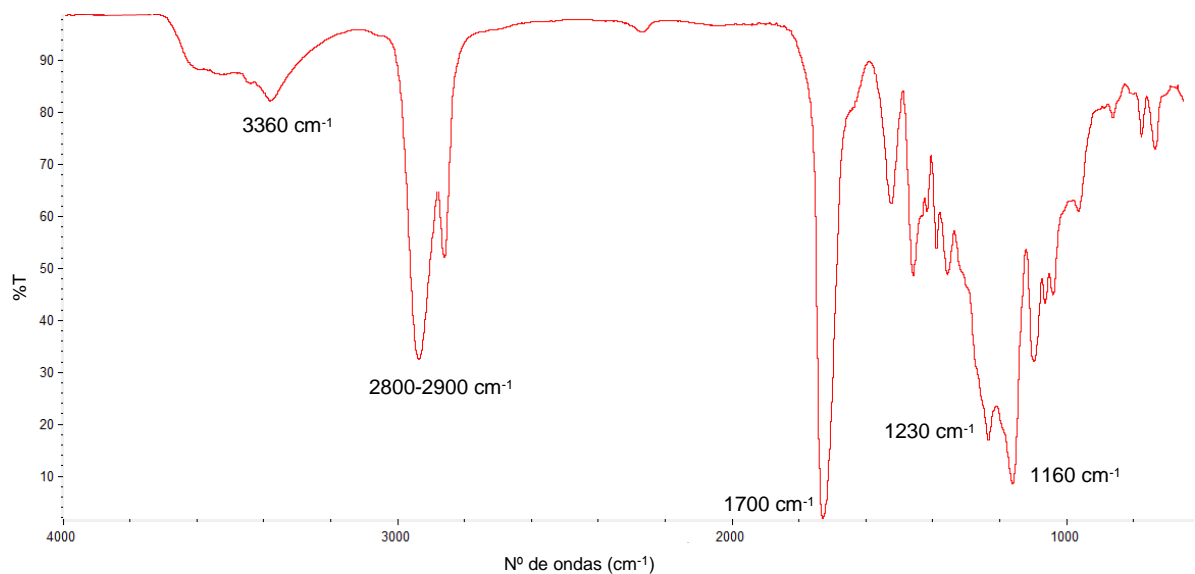


Figura 5.1. Espectro de infravermelho típico de poliuretano (PU-1).

Tabela 5.1. Atribuições das bandas referentes aos espectros dos poliuretanos sintetizados.

Grupo funcional	Nº de ondas (cm ⁻¹)	Atribuição
N—H	~3360	ν_s NH (uretano)
—CH ₂	~2900	ν_{as} CH ₂
—CH ₂	~2800	ν_s CH ₂
C=O	~1700	ν C=O (uretano e éster)
—CH ₂	~1450	δ_{as} CH ₂
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C}-\text{O} \end{array}$	~1230	ν CO-O (éster)
C—O	~1160	ν C-O (éster)

ν =estiramento; s=simétrica; as=assimétrica; δ =deformação.

Foram observados espectros característicos de poliuretano por meio de bandas em torno de 3368-3449 cm⁻¹ que caracteriza o grupo NH pertencente ao grupo uretano, banda entre 2936-2870 cm⁻¹, característica, respectivamente, da vibração assimétrica e simétrica do grupo CH₂, banda em torno de 1723-1731 cm⁻¹ atribuída ao grupo C=O dos grupos uretano e éster, banda entre 1455-1470 cm⁻¹ característica da vibração assimétrica da ligação CH₂, banda em torno de 1232-1242 cm⁻¹ atribuída ao grupo CO-O do éster, como também, banda entre 1162-1165 cm⁻¹ característica da ligação C-O do éster, corroborando com os resultados encontrados por Chen (2000), Nagle (2007) e Silva (2010).

5.1.2. Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

Os poliuretanos sintetizados foram caracterizados pela técnica de GPC, pela qual se obteve suas respectivas massas molares e polidispersidade, descritos na Tabela 5.2.

Tabela 5.2. Massas molares e polidispersidade dos poliuretanos sintetizados.

Poliuretano	Diisocianato	Poliól	M _n (g/mol)	M _w (g/mol)	IP
PU-1	HDI/H ₁₂ MDI (2:1)	PCL 2000	34876	72144	2,07
PU-2	HDI/H ₁₂ MDI (1:2)	PCL 2000	44794	81836	1,83
PU-3	H ₁₂ MDI	PCL 2000	11475	30323	2,64
PU-4	HDI	PCL 10000	158540	263132	1,65
PU-5	HDI/H ₁₂ MDI (1:2)	PCL 10000	65730	117733	1,80
PU-6	HDI/H ₁₂ MDI (2:1)	PCL 10000	118111	225571	1,90
PU-7	HDI/H ₁₂ MDI (5:1)	PCL 10000	88731	157340	1,77

M_n=massa molar numérica média; M_w=massa molar ponderal média; IP=índice de polidispersidade.

O aumento da massa molar de um poliuretano influencia nas suas características mecânicas (flexibilidade, alongação, etc.), de estabilidade, entre outras, podendo ser modificado em função de uma aplicação específica (Meyer, 2007). No caso da estabilidade, esta pode ser modificada pela quebra das ligações dos oligômeros de baixa massa molar presentes na cadeia polimérica (Jahno *apud* Barbanti, 2005).

Observa-se que os materiais sintetizados com o poliól PCL de massa molar 2000 g/mol, apresentaram massas molares inferiores em relação aos polímeros sintetizados com PCL de massa molar 10000 g/mol. Todos os poliuretanos sintetizados com misturas de diisocianatos (HDI/H₁₂MDI) apresentaram massa molar ponderal média (M_w) maior que 70000 g/mol. Entretanto, quando realizada a síntese utilizando-se somente o diisocianato H₁₂MDI (PU-3), foi obtido um polímero com massa molar menor (M_w~30000 g/mol). Também se observou que a síntese utilizando somente o diisocianato HDI (PU-4) mostrou um aumento na massa molar (M_w~260000 g/mol) quando comparado com os outros poliuretanos sintetizados. Este resultado é similar ao descrito pela literatura, na qual foi sintetizado um

poliuretano utilizando o diisocianato HDI que apresentou massa molar ponderal média (M_w) em torno de 200000 g/mol (Ligabue, 2009).

Nas sínteses realizadas variando a proporção dos diisocianatos, verificou-se que o poliuretano PU-1 (proporção 2:1 de HDI/ H_{12} MDI) mostrou diminuição da massa molar em relação ao PU-2 (proporção 1:2 de HDI/ H_{12} MDI), sendo ambos sintetizados com PCL de massa molar 2000 g/mol, enquanto que o poliuretano PU-6 (proporção 2:1 de HDI/ H_{12} MDI) mostrou aumento na massa molar em relação ao PU-5 (proporção 1:2 de HDI/ H_{12} MDI), ambos sintetizados com PCL de massa molar 10000 g/mol.

5.1.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A partir da análise das micrografias dos filmes dos PUs sintetizados (Figura 5.2), pode-se observar que os poliuretanos sintetizados com o PCL de massa molar 2000 g/mol, Figura 5.2 (a), (b) e (c), mostraram uma morfologia mais lisa, quando comparados aos poliuretanos sintetizados com o PCL de massa molar 10000 g/mol, Figura 5.2 (d), (e) e (f). A formação de poros observada para os últimos está associada à forma de preparação dos filmes (utilizando a câmara de evaporação de solvente descrito no item 4.3.3), fazendo com que a evaporação do solvente THF ocorra de maneira mais homogênea. O poliuretano PU-6 (Figura 5.2e) apresentou tamanho de poro variando entre 346 nm a 5,37 μ m e o poliuretano PU-7 (Figura 5.2f) entre 2,25 a 5,02 μ m, sendo que, matrizes porosas promovem espaço adequado para o crescimento celular e produção de matriz extracelular, facilitando o crescimento tecidual (Jahno *apud* Sliedregt, 1994; Mikos, 2000).

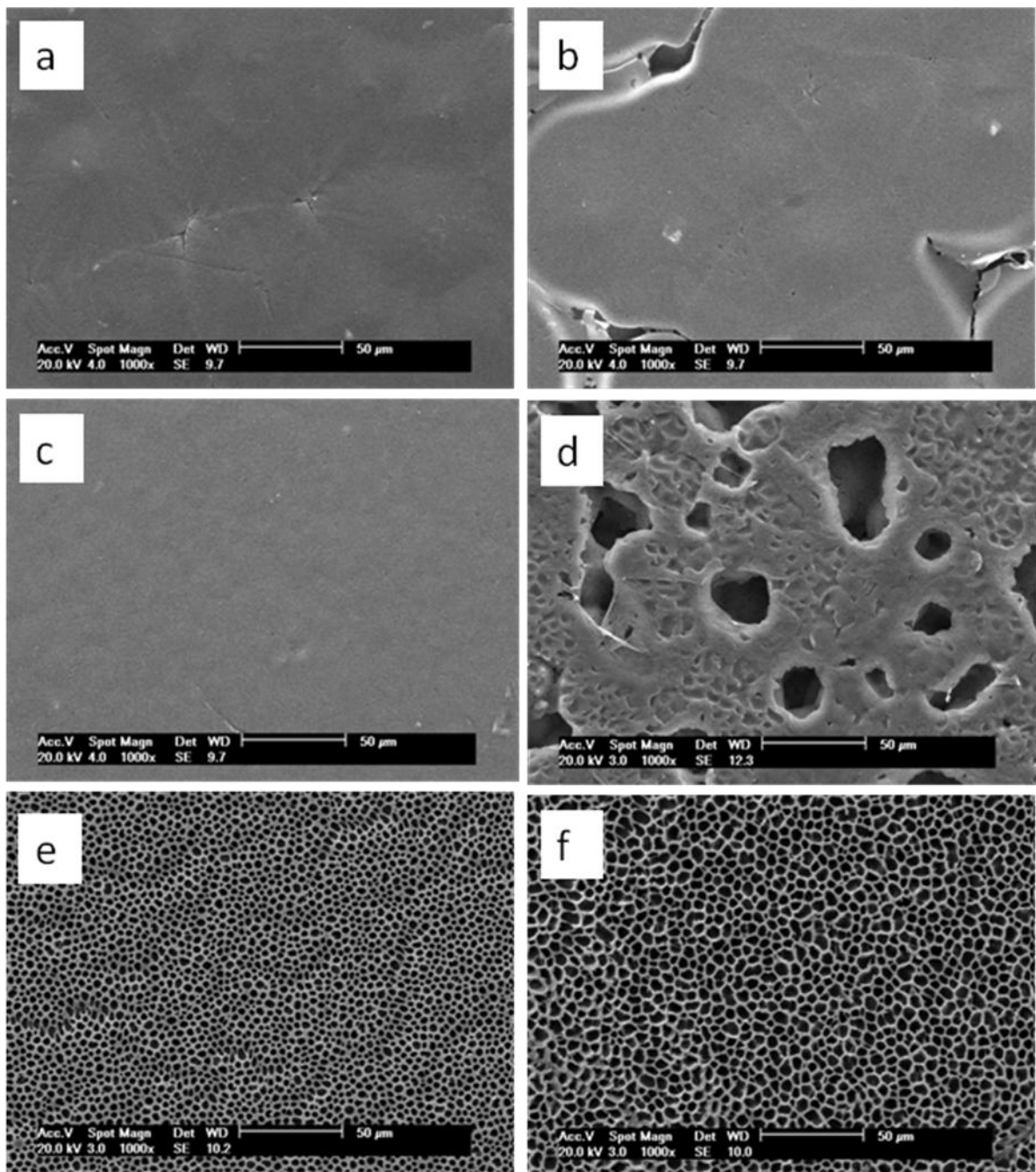


Figura 5.2. Micrografias dos poliuretanos sintetizados (a) PU-1, (b) PU-2, (c) PU-3, (d) PU-5, (e) PU-6 e (f) PU-7; com aumento de 1000x.

5.1.4. Análise Termogravimétrica (TGA)

A Figura 5.3 mostra as curvas termogravimétricas dos poliuretanos sintetizados.

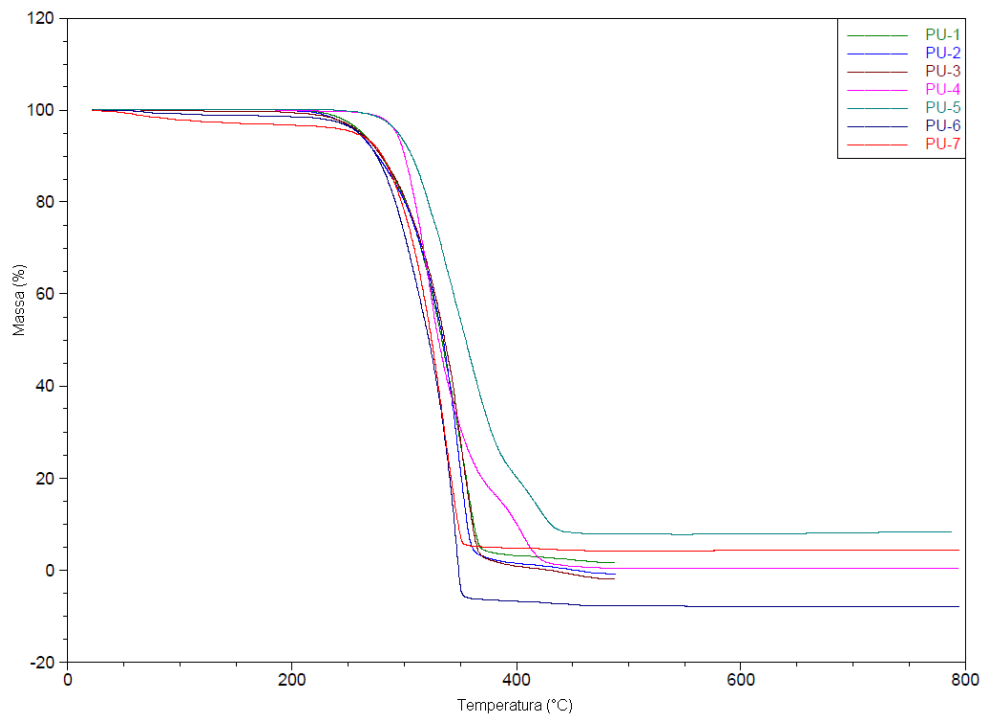


Figura 5.3. Termogramas dos poliuretanos sintetizados.

A Tabela 5.3 mostra os valores das temperaturas iniciais e finais de decomposição, como também, o percentual de perda de massa.

Tabela 5.3. Temperaturas inicial (T_i) e final (T_f) de decomposição e % de perda de massa dos PUs.

Poliuretano	T_i (°C)	T_f (°C)	Perda de Massa (%)
PU-1	201,18	374,40	96,08
PU-2	216,41	370,60	96,71
PU-3	205,14	374,66	97,01
PU-4	253,30	434,79	98,38
PU-5	231,25	450,71	91,95
PU-6	215,85	367,21	104,6
PU-7	213,46	363,22	91,48

Os materiais sintetizados possuem uma temperatura inicial de degradação térmica variando entre 201 a 253 °C, com valores similares ao encontrados na literatura que descreve essa degradação de poliuretanos à base de PCL em torno de 200 °C (Fiorio, 2009). A temperatura final de degradação variou entre 363 a 450 °C, com perda de massa total acima de 90%.

5.1.5. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Figura 5.4 e 5.5 mostra as curvas de DSC com as respectivas temperaturas de transição vítrea (T_g), temperatura de fusão (T_m) e temperatura de cristalização (T_c) dos poliuretanos sintetizados.

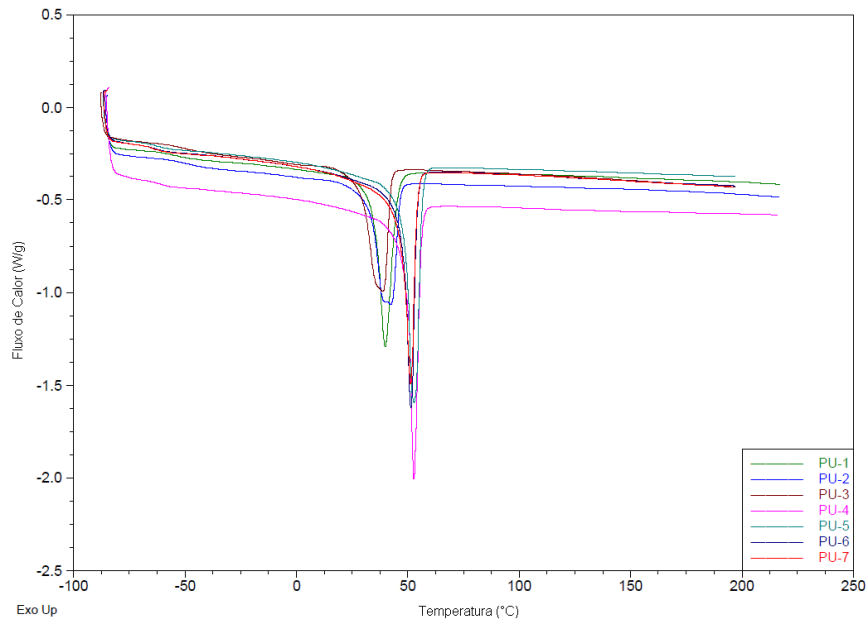


Figura 5.4. Curva de DSC das amostras dos poliuretanos sintetizados com as representações da T_g e T_m dos poliuretanos.

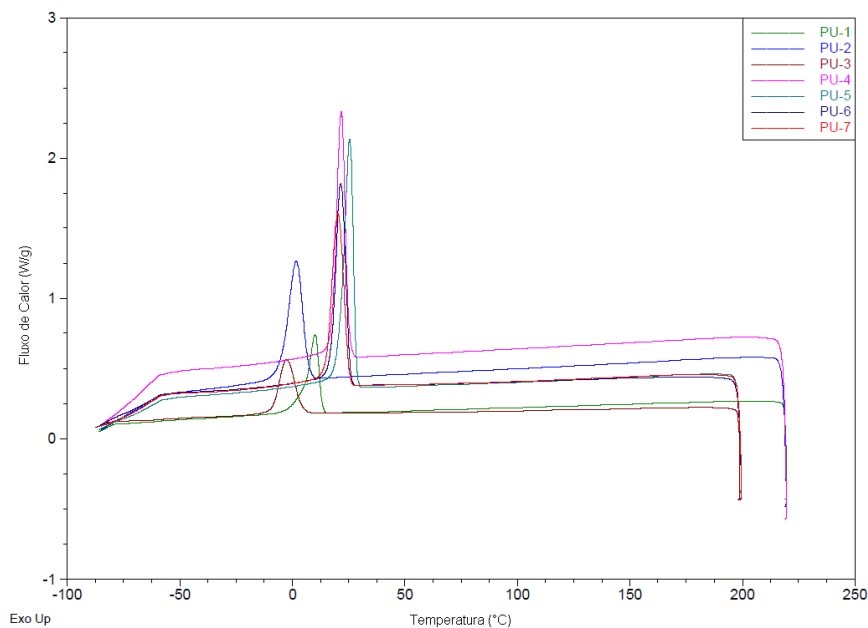


Figura 5.5. Curva de DSC das amostras dos poliuretanos sintetizados com os picos referentes a temperatura de cristalização.

Os valores correspondentes as temperatura de fusão, cristalização e de transição vítrea, bem como, o calor de fusão, variam conforme a composição dos polímeros, como mostra a Tabela 5.4.

Tabela 5.4. Temperaturas de fusão (T_m), cristalização (T_c), transição vítrea (T_g) e calor de fusão (ΔH_f) obtidas para os poliuretanos sintetizados.

Poliuretano	T_m (°C)	T_c (°C)	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)
PU-1	39,88	10,05	-55,24	56,82
PU-2	42,31	1,70	-50,96	50,93
PU-3	38,92	-2,85	-49,90	41,90
PU-4	52,78	21,80	-61,15	42,93
PU-5	52,86	25,51	-62,30	48,90
PU-6	51,47	21,57	-64,66	47,53
PU-7	51,38	20,26	-65,03	48,50

Pela análise das Figuras 5.4 e 5.5, foi possível observar que os poliuretanos sintetizados com PCL de massa molar 2000 g/mol (PU-1, PU-2 e PU-3) apresentaram pico de fusão mais largo e pico de cristalização diferente em relação aos poliuretanos sintetizados com PCL de massa molar 10000 g/mol (PU-4, PU-5, PU-6 e PU-7). Os PUs sintetizados apresentaram valores de T_m variando entre 38 e 53 °C, similares aos encontrados na literatura que são entre 30 e 55 °C (Gorna, 2002).

A T_g mostrou um aumento para os poliuretanos PU-1, PU-2 e PU-3 (em torno de -50 °C) em relação aos outros polímeros sintetizados (PU-4, PU-5, PU-6 e PU-7), cuja a T_g foi em torno de -60 °C. De acordo com a literatura, a utilização de PCL com massa molar menor (PCL de massa molar 530 g/mol) produz um PU com T_g maior (em torno de -21 °C) quando comparado com os PUs obtidos com PCL de massa molar maior (PCL de massa molar 2000 g/mol, T_g em torno de -56 °C) (Gorna, 2002).

Os PUs obtidos com PCL de massa molar 10000 g/mol (PU-4, PU-5, PU-6 e PU-7) apresentaram entalpias de fusão mais baixas daqueles poliuretanos obtidos

com PCL de massa molar 2000 g/mol, como consequência do aumento de segmentos flexíveis na cadeia do PU, gerando maior número de regiões amorfas.

5.1.6. Análise Dinâmico-mecânica (DMA)

A Figura 5.6 apresenta as curvas de tensão-deformação dos poliuretanos sintetizados.

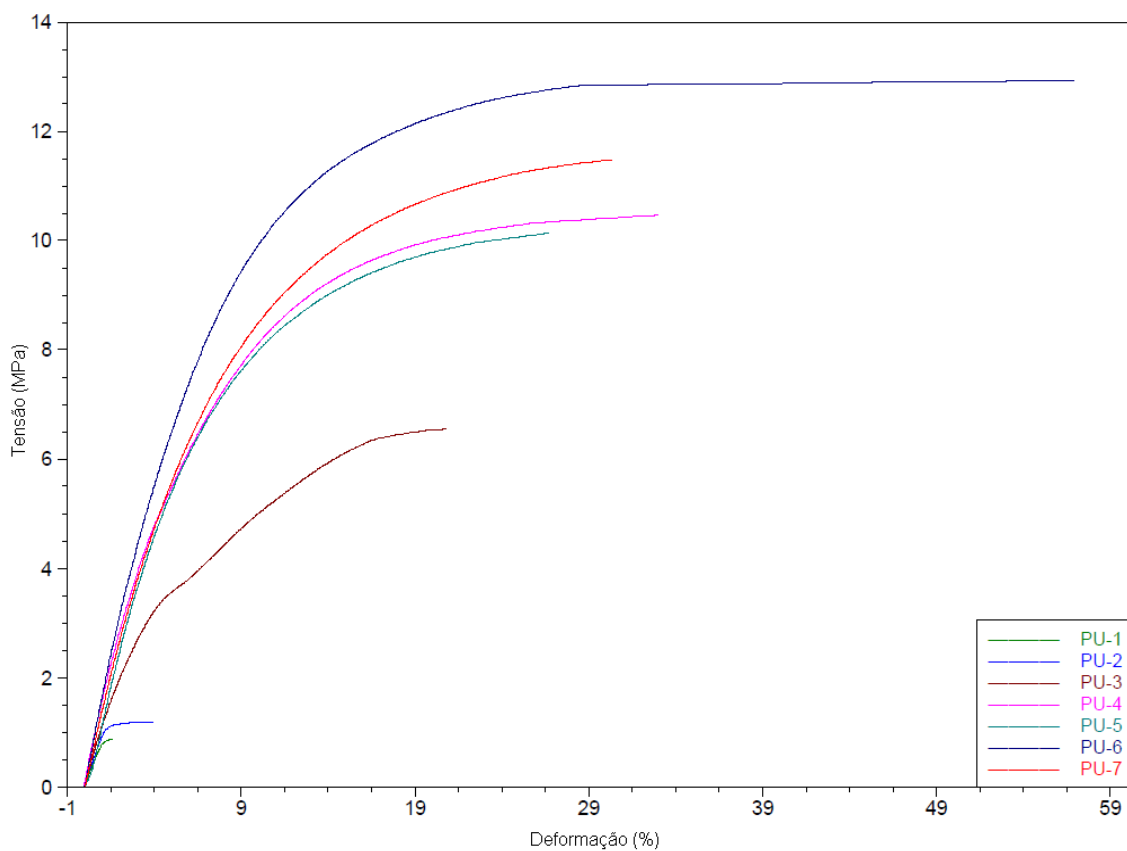


Figura 5.6. Curva de tensão-deformação dos poliuretanos sintetizados.

A Tabela 5.5 mostra os resultados de módulo elástico, tensão na ruptura e alongação máxima dos PUs, relacionando-os com sua massa molar ponderal média (M_w).

Tabela 5.5. Módulo elástico, tensão de ruptura, alongação máxima e M_w obtidos para os poliuretanos.

Poliuretano	Módulo elástico (MPa)	Tensão na ruptura (MPa)	Elongação máxima (%)	M_w (g/mol)
PU-1	0,84	0,87	1,36	72144
PU-2	1,04 ± 0,18	1,19 ± 0,30	3,76 ± 0,43	81836
PU-3	1,20 ± 0,19	6,55 ± 2,75	20,8 ± 4,00	30323
PU-4	2,03 ± 0,35	10,5 ± 0,72	32,9 ± 1,52	263132
PU-5	0,65 ± 0,34	10,1 ± 0,60	26,7 ± 2,21	117733
PU-6	1,49 ± 0,20	*	56,8 ± 3,33	225571
PU-7	1,35 ± 0,07	11,5 ± 0,15	30,3 ± 1,01	157340

* Polímero não rompeu.

Os poliuretanos sintetizados com PCL de massa molar 2000 g/mol (PU-1, PU-2 e PU-3) mostraram possuir maior fragilidade, resistindo a baixas tensões com pequena deformação.

Materiais de baixo módulo elástico sob ação de altas tensões podem estar sujeitos a graus indesejáveis de tensões, resultando em pouca durabilidade, como no caso de válvulas cardíacas, em que o material tem uma tendência a acumular tensão durante a abertura e fechamento da válvula (Bernacca, 2002).

Contudo, os polímeros sintetizados com PCL de massa molar 10000 g/mol (PU-4, PU-5, PU-6 e PU-7) apresentaram maior resistência e possibilidade de deformações maiores, sendo que, o PU-6 não rompeu com a tensão aplicada, apresentando maior alongação máxima. Pela análise de DSC, a utilização do PCL de massa molar 10000 g/mol aumentou a região amorfa, podendo ser observado pelos valores maiores de T_g e uma menor entalpia de fusão (ΔH_f) em relação aos outros poliuretanos analisados.

5.2. Caracterização dos materiais comerciais

5.2.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os materiais comerciais, Dacron e PTFE, foram caracterizados da mesma maneira como os poliuretanos sintetizados. A seguir, são apresentadas as micrografias com as morfologias dos materiais na Figura 5.7.

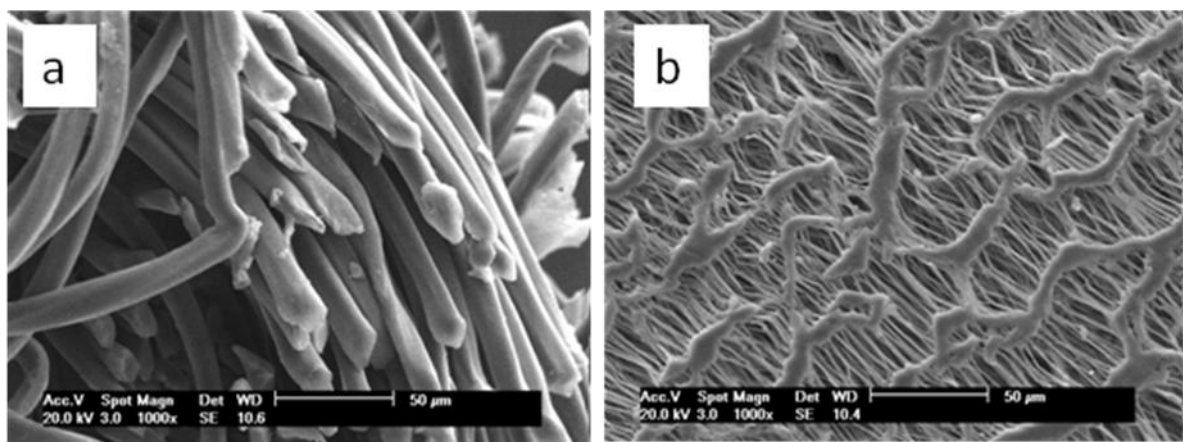


Figura 5.7. Micrografias dos materiais comerciais (a) Dacron e (b) PTFE; aumento de 1000x.

Pode-se observar que estes materiais possuem uma morfologia em forma de fibras, em que o PTFE mostra interligações entre essas fibras formando poros (Catanese, 1999), enquanto que o Dacron mostra fibras com espessura maior (Chandy, 2000).

5.2.2. Análise Termogravimétrica (TGA)

A Figura 5.8 apresenta o comportamento de degradação térmica dos materiais comerciais, Dacron e PTFE, quando submetidos a uma taxa de aquecimento controlado. Sendo que, a Tabela 5.6 mostra os valores das temperaturas iniciais e finais de degradação, bem como, seus respectivos percentuais de perda de massa.

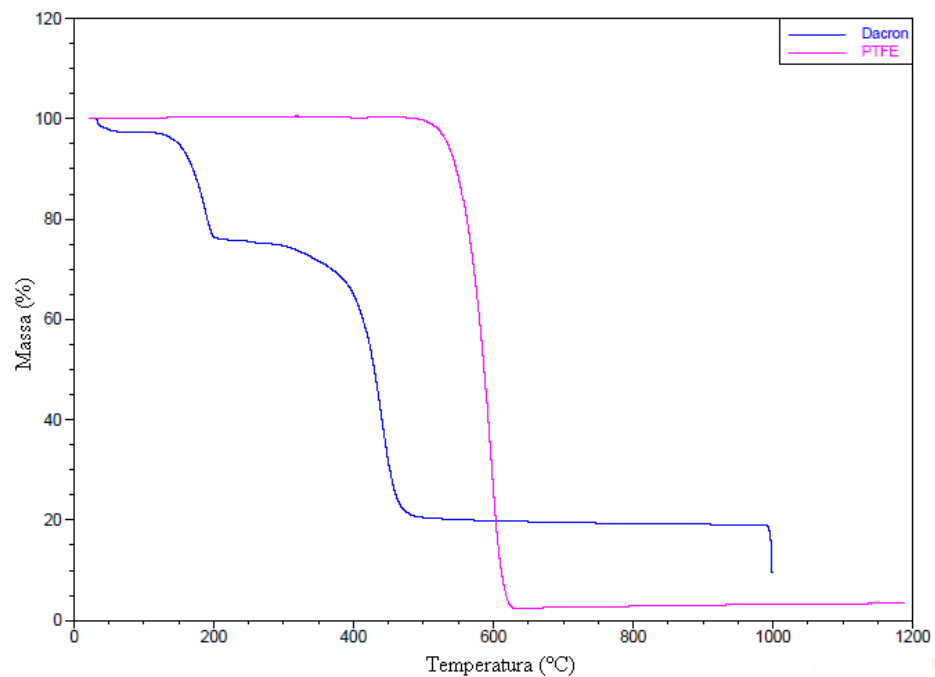


Figura 5.8. Termogramas dos materiais comerciais.

Tabela 5.6. Temperaturas inicial (T_i) e final (T_f) de decomposição e % de perda de massa para os materiais comerciais.

Materiais	T_i (°C)	T_f (°C)	Perda de Massa (%)
Dacron		113,12	21,29
		499,71	55,51
PTFE	479,67	626,49	97,75

De acordo com os dados da Figura 5.8 e Tabela 5.6, observa-se que o material PTFE mostra perda de massa em uma única etapa, entretanto, o material Dacron apresenta perda de massa em duas etapas, sugerindo a presença de algum outro componente em sua composição, provavelmente acrescentado no processamento do dispositivo de Dacron.

5.2.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As Figuras 5.9 e 5.10 e a Tabela 5.7 mostram as curvas de DSC com as respectivas temperaturas de transição vítrea (T_g), temperatura de fusão (T_m), temperatura de cristalização (T_c) e entalpia de fusão dos materiais comerciais, Dacron e PTFE.

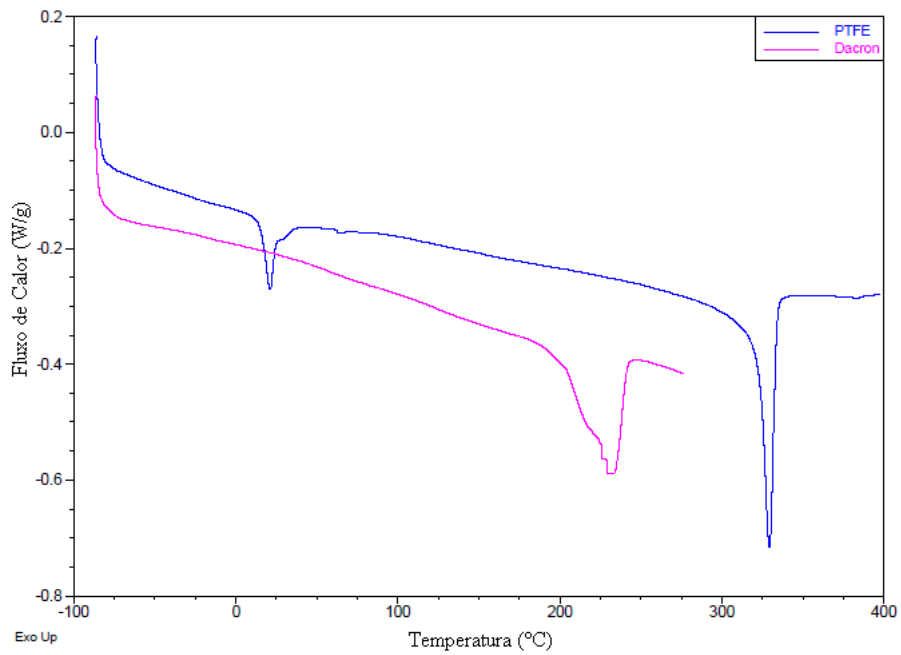


Figura 5.9. Curva de DSC das amostras dos materiais comerciais com as temperaturas de transição vítrea (Dacron) e de fusão (Dacron e PTFE).

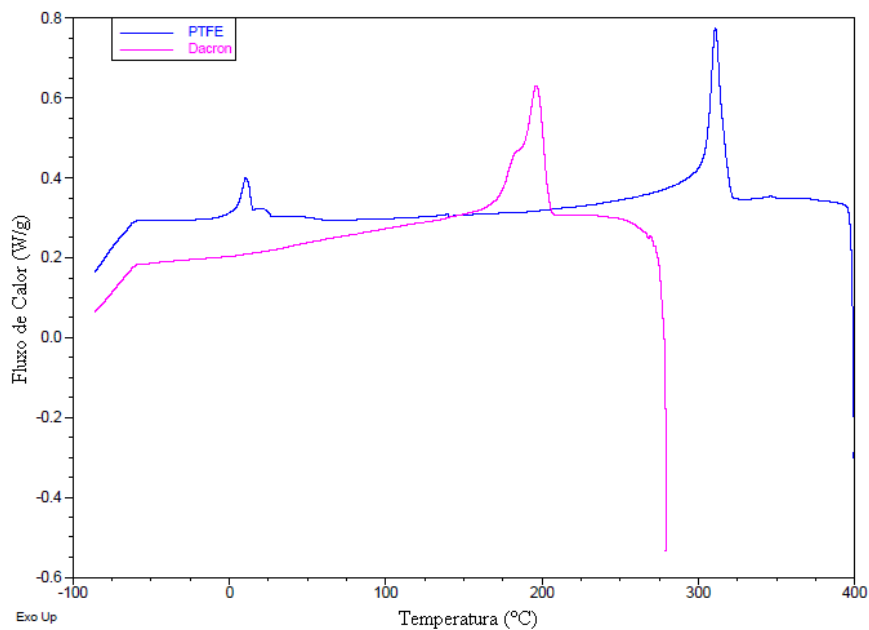


Figura 5.10. Curva de DSC das amostras dos materiais comerciais com os picos das temperaturas de cristalização.

Tabela 5.7. Temperaturas de fusão (T_m), cristalização (T_c), transição vítrea (T_g) e calor de fusão (ΔH_f) obtidas para os materiais comerciais.

Materiais	T_m (°C)	T_c (°C)	T_g (°C)	ΔH_f (J/g)
Dacron	229,93	196,20	56,70	29,22
PTFE	20,93	10,43	-	2,972
	329,50	310,98	-	18,35

A curva de DSC referente ao 2º aquecimento do Dacron (Figura 5.9) apresentou um pico alargado correspondente a temperatura de fusão em torno de 230 °C, próximo ao descrito na literatura, devido aos anéis aromáticos presentes na estrutura do polietileno tereftalato (Wong, 2008; Kint, 1999). O pico alargado de fusão indica a presença de uma mistura de compostos, corroborando com os resultados de TGA para este produto comercial. Para a amostra do PTFE (Figura 5.9), foi observado que este possui duas temperaturas de fusão, sendo o último valor de acordo com a literatura (Baquey, 2008).

5.2.4. Análise Dinâmico-Mecânica (DMA)

A Figura 5.11 apresenta as curvas de tensão-deformação obtidas para os materiais comerciais.

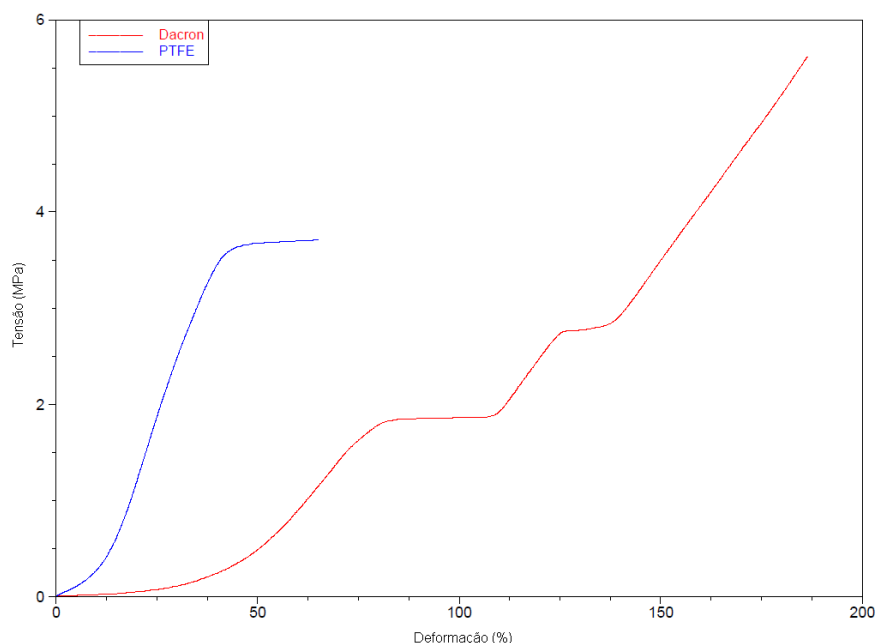


Figura 5.11. Curva de tensão-deformação dos materiais comerciais.

Pode-se observar que o PTFE possui maior resistência à deformação, apresentando alongação máxima de 64,91% quando comparado ao Dacron, que apresenta alongação máxima de 186,3%. Apesar dos anéis aromáticos pertencentes à estrutura do Dacron contribuírem para uma alta resistência, observa-se um comportamento diferente, quando comparado com outros tipos de dispositivos médicos, como o PTFE (Wong, 2008). Sendo que, ambos não sofreram ruptura com a tensão máxima aplicada pelo equipamento (18 N).

Quando comparados aos poliuretanos, apresentam morfologia, composição e propriedades térmicas e mecânicas diferentes, embora possam possuir a mesma finalidade, sendo que, os polímeros sintetizados PU-6 e PU-4 mostraram boa resistência mecânica em relação aos outros PUs, podendo vir a serem utilizados como possíveis materiais para dispositivos vasculares.

5.3. Avaliação da citotoxicidade *in vitro* dos poliuretanos e materiais comerciais (Dacron e PTFE)

5.3.1. Viabilidade celular

Foi utilizado o meio condicionado do material em diferentes concentrações (50 e 100%) e a viabilidade celular foi avaliada após 24, 48 e 72 horas. O teste inicial usado foi o Vermelho Neutro (VN), onde foi analisada a viabilidade lisossomal das células por meio da liberação da coloração vermelho neutro. Este teste foi realizado para os poliuretanos PU-4 e PU-6 por apresentarem maior massa molar em relação aos outros PUs, como também para os materiais comerciais, Dacron e PTFE, como mostram as Figuras 5.12 a 5.15.

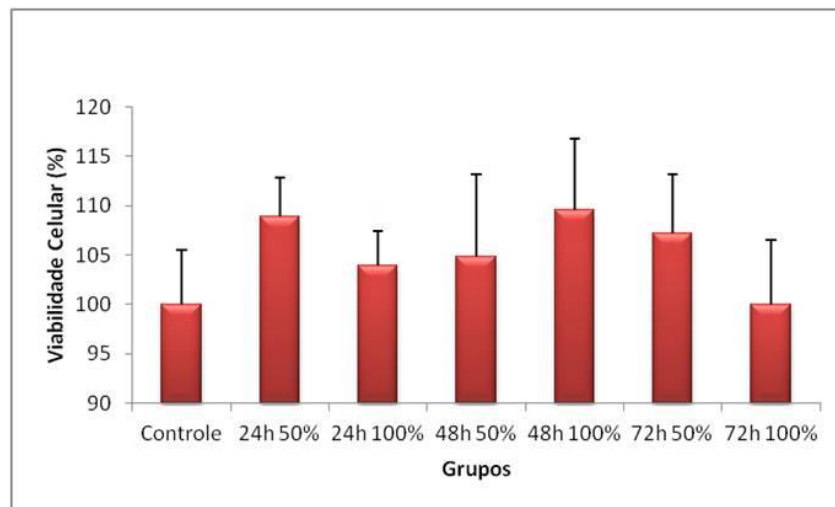


Figura 5.12. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do poliuretano PU-6.

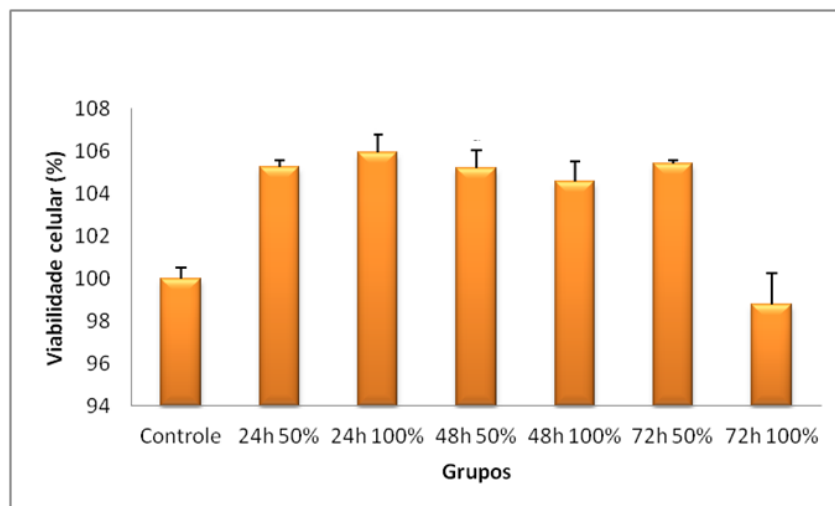


Figura 5.13. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do poliuretano PU-4.

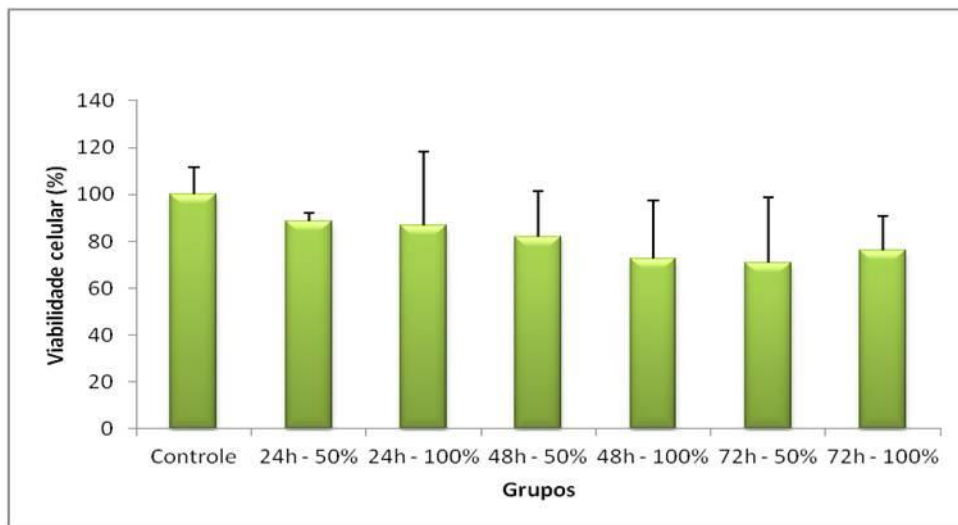


Figura 5.14. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do material comercial Dacron.

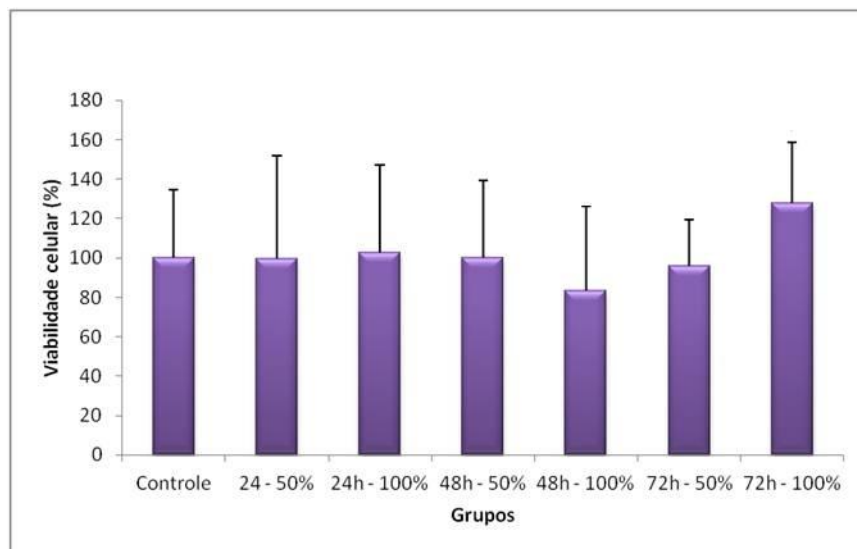


Figura 5.15. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do material comercial PTFE.

A estatística mostra que não há diferença significativa entre as diferentes doses do ME (50 e 100%). Os valores obtidos não demonstraram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os períodos de cultura com o ME de cada material analisado, quando comparado ao controle negativo (meio DMEM), mostrando que não houve indicativo de efeito citotóxico.

Outro teste utilizado foi o MTT, apresentado nas Figuras 5.16 a 5.18, no qual foi analisada a viabilidade mitocondrial das células para o poliuretano PU-4 e materiais comerciais, Dacron e PTFE, devido as células estarem envelhecidas para analisar o PU-6.

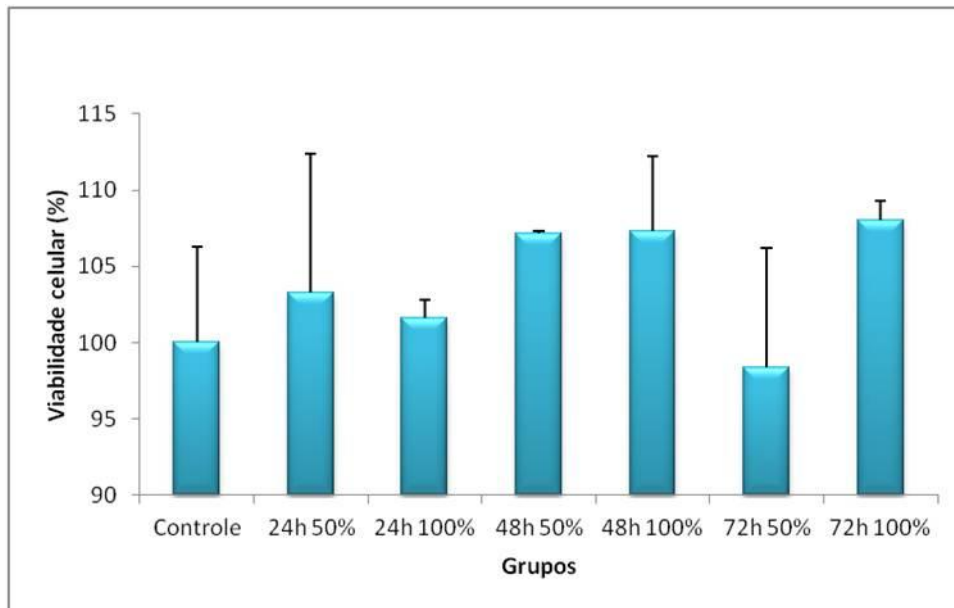


Figura 5.16. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do poliuretano PU-4.

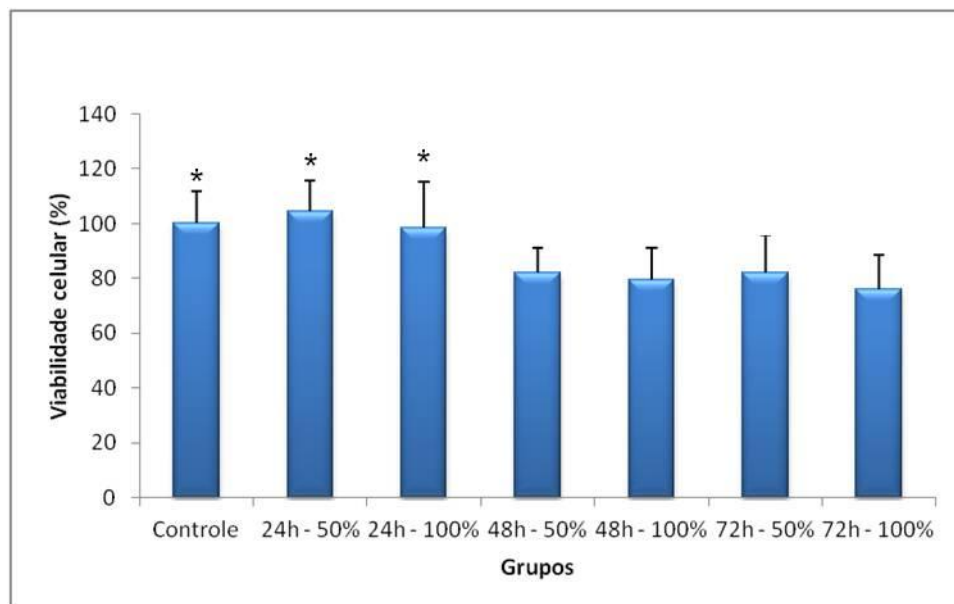


Figura 5.17. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do material comercial Dacron (*representa uma diferença estatística).

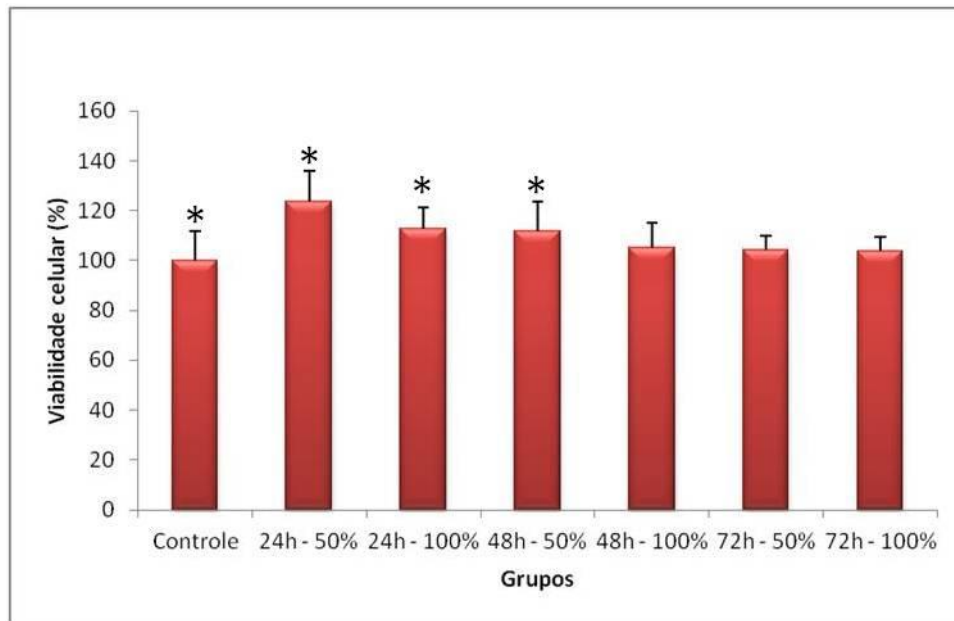


Figura 5.18. Viabilidade celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do material comercial PTFE.

A estatística mostra diferença significativa entre as diferentes doses do ME (50 e 100%) para os materiais comerciais, Dacron e PTFE, indicando que esses materiais causam alteração da funcionalidade mitocondrial. O poliuretano PU-4 não apresenta essa diferença. Contudo, a viabilidade celular dos materiais mostrou-se superior a 80%, permitindo classificar as amostras como não citotóxicas, de acordo com a norma USP 23 (1995). Saad e colaboradores (1997) descreveram que amostras de poliuretanos à base de poliésteres cultivados em células NIH-3T3 e analisados pelo teste de MTT, mostraram adesão e crescimento celular, sendo confirmadas pelos resultados posteriores obtidos por meio de testes *in vivo*.

5.3.2. Proliferação celular

A proliferação celular foi avaliada após 24, 48 e 72 horas através do teste Azul de Tripán, verificando as células viáveis e mortas, em diferentes concentrações (50 e 100%) do ME, apresentado na Figura 5.19. Este teste foi realizado somente para o PU-4 por apresentar bons resultados de citotoxicidade pelos testes VN e MTT.

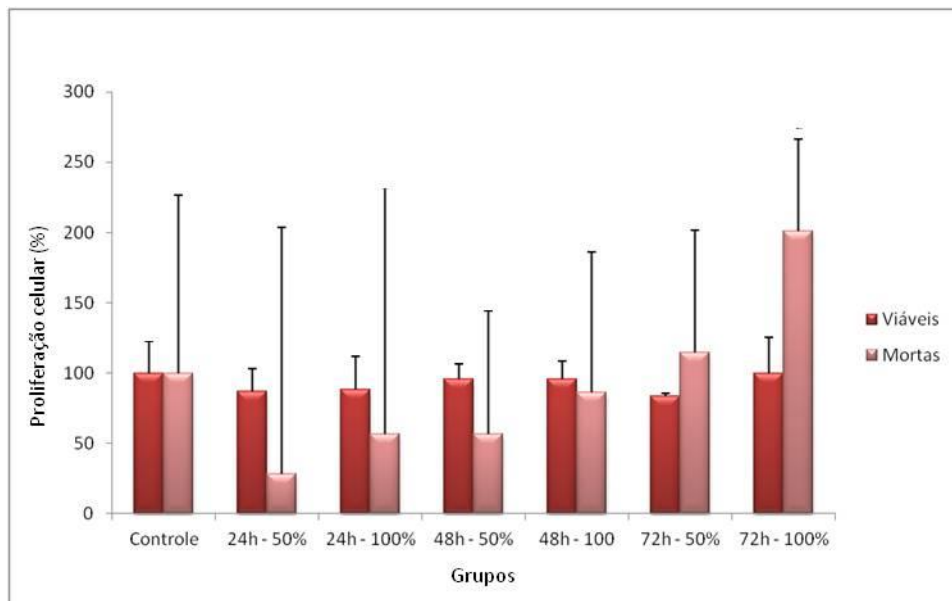


Figura 5.19. Proliferação celular após 24, 48 e 72 horas de cultura em contato com 50 e 100% de ME do poliuretano PU-4.

Foi observado que não houve diferença significativa na proliferação celular do poliuretano PU-4, quando comparado ao grupo controle (meio DMEM), confirmado pelo teste ANOVA. Este resultado mostra que há possibilidade de proliferação celular das células fibroblásticas NIH-3T3 quando em contato com o material PU-4 e, conseqüentemente, possível crescimento celular neste material. Apesar das amostras apresentarem valores altos de desvios, pois foram analisadas em hexaplicata, as colunas da quantidade de células viáveis (em vermelho) mantêm-se até as 72 horas de exposição.

5.4. Caracterização da bioestabilidade dos poliuretanos e materiais comerciais

5.4.1. Degradação hidrolítica

A seguir, são apresentados resultados da perda de massa, medidas de pH e morfologia das superfícies, bem como, análise térmica, conforme o tempo em que os poliuretanos e os materiais comerciais estiveram sob ação da degradação hidrolítica.

A Figura 5.20 mostra a perda de massa das amostras de filmes de alguns dos polímeros sintetizados (PU-1, PU-2, PU-3 e PU-4) e dos materiais comerciais (Dacron e PTFE).

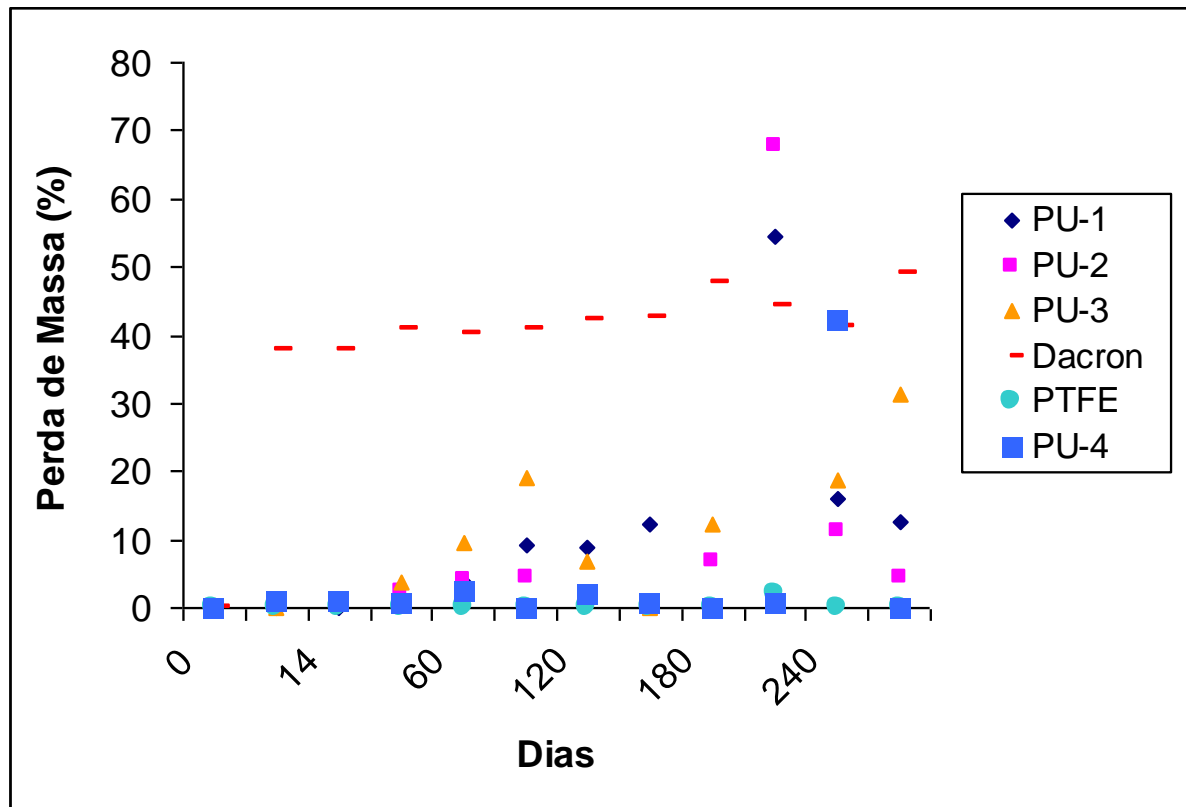


Figura 5.20. Variação da massa (%) dos materiais com o tempo de degradação (0 a 270 dias).

De acordo com o gráfico da Figura 5.20, pode-se observar que os poliuretanos PU-1, PU-2 e PU-3 demonstraram uma perda de massa abaixo de 20% quando expostos a degradação hidrolítica no período de 270 dias. O PET (material do qual o Dacron é feito) é considerado estável na degradação por hidrólise (Wong, 2008; Cohen, 2009), contudo o Dacron apresentou uma perda de massa em torno de 40%, sendo que esta perda se deve provavelmente a algum(ns) componente(s) misturado ao produto comercial, como já discutido anteriormente nas seções 5.2.2 e 5.2.3. Ao contrário, o poliuretano PU-4 e o PTFE mostraram pequenas variações, sendo que, a superfície do PTFE é eletronegativa, o que minimiza sua degradação (Xue, 2003).

O polímero PU-6, também analisado em relação à degradação, porém com um tempo menor de exposição (60 dias), apresentou pequena variação na perda de massa (1,64%), assim como os outros poliuretanos. Gorna e colaboradores (2002) mostraram que a perda de massa em amostras de materiais contendo PCL foi inferior a 2% durante 48 semanas de degradação hidrolítica.

O gráfico da Figura 5.21 apresenta o comportamento dos pHs das soluções em que os poliuretanos e materiais comerciais estavam imersos, mostrando que todos os materiais obtiveram variações nos valores de pH, inclusive a solução branco (somente com solução tampão fosfato), exposta às mesmas condições. Isto se deve a variações que ocorrem desde o preparo das amostras até mudanças na temperatura ambiente.

Em 270 dias de exposição, todos apresentaram pH maior do que 7,0, sendo vantajoso, pois a queda no pH é frequentemente citado como uma desvantagem sobre a degradação de implantes de poli (α -hidróxi ácidos) (Gorna, 2002).

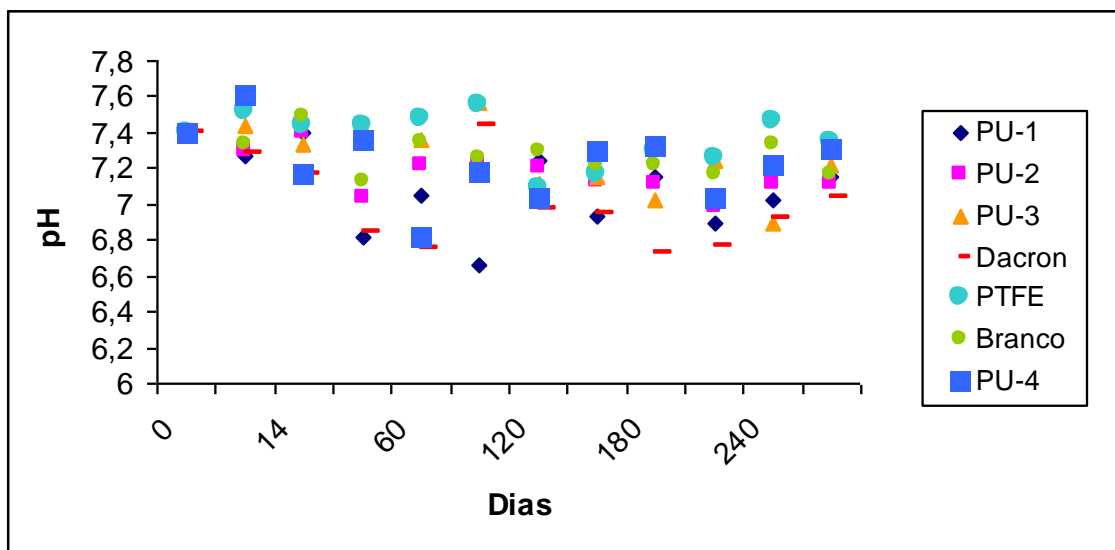


Figura 5.21. Variação do pH das soluções da degradação dos filmes de 0 a 270 dias.

Os valores relativos ao comportamento térmico variam conforme composição dos polímeros, como também, devido ao tempo de exposição à degradação, entretanto no caso dos PUs estudados não verificou-se variação significativa (Figuras 5.22 e 5.23).

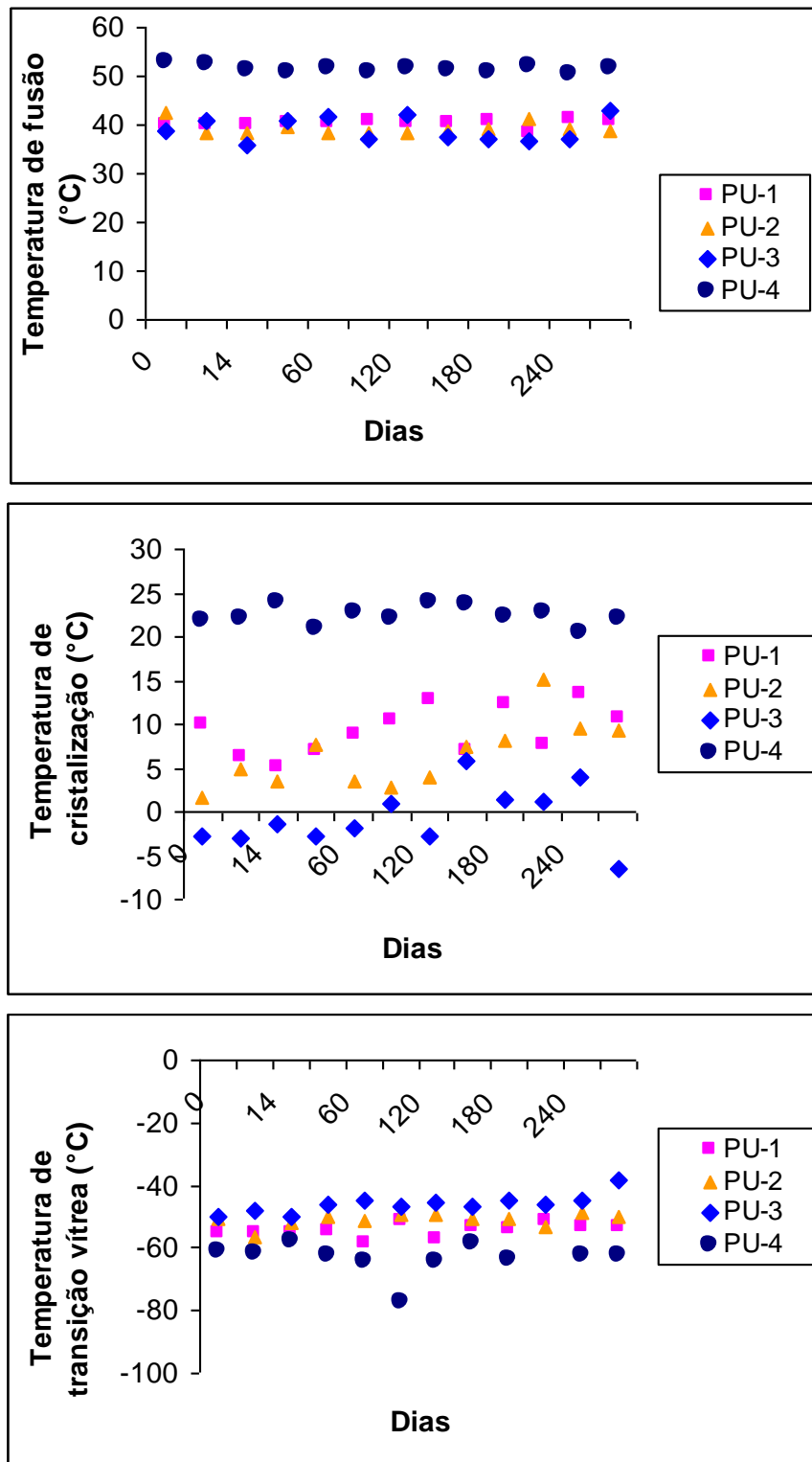


Figura 5.22. Variação da temperatura de fusão (T_m), de cristalização (T_c) e de transição vítrea (T_g) dos poliuretanos sintetizados em relação ao tempo de degradação hidrolítica.

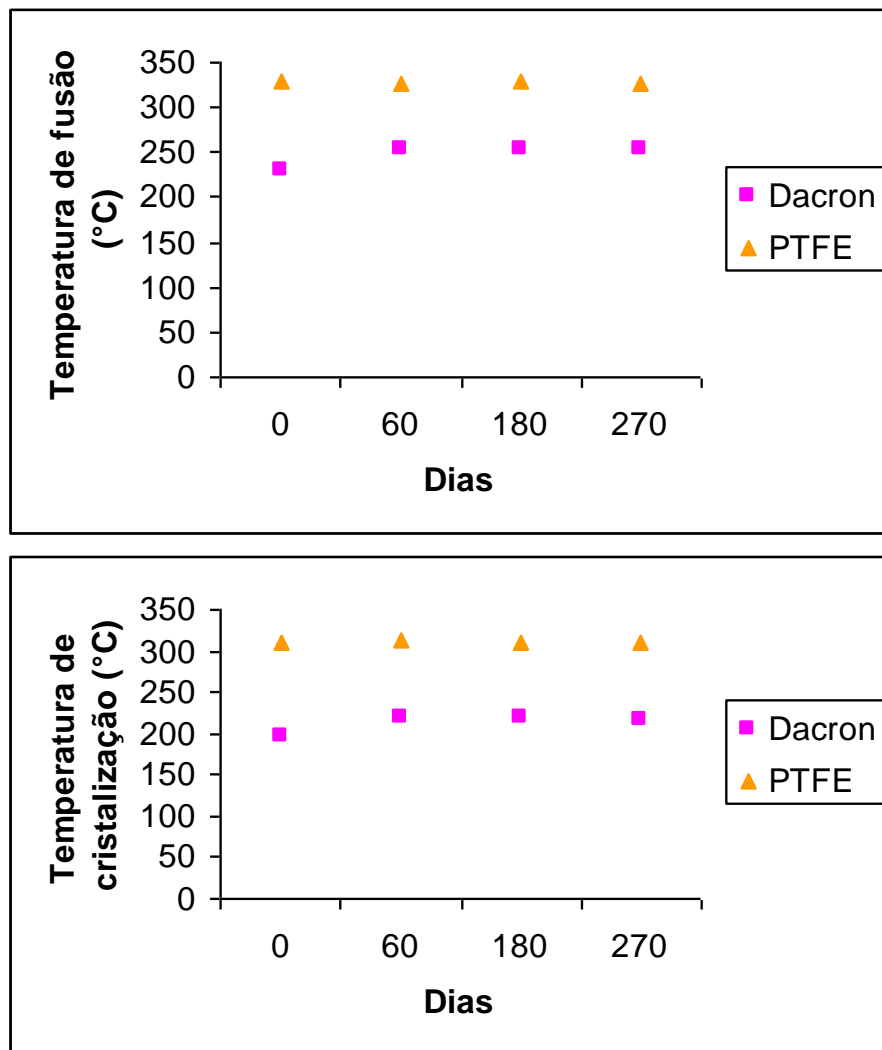


Figura 5.23. Variação da temperatura de fusão (T_m), de cristalização (T_c) e de transição vítrea (T_g) dos materiais comerciais em relação ao tempo de degradação hidrolítica.

Por meio da análise das Figuras 5.22 e 5.23, pode-se observar que ocorreram variações nas temperaturas dos poliuretanos de acordo com o tempo de exposição à degradação, assim como, para os materiais comerciais, Dacron e PTFE, que apresentaram discretas variações. Silva e colaboradores (2010) observaram que poliuretanos à base de PCL e PEG mostraram cristalização dos segmentos flexíveis, resultante da hidrólise de ligações ésteres do PCL que aumentou a mobilidade de cadeias de menor massa molar e, conseqüentemente, sua capacidade de se acondicionar como uma estrutura cristalina.

A análise da morfologia dos filmes antes e após o período de degradação foi realizada por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), mostrados nas Figuras 5.24 e 5.25.

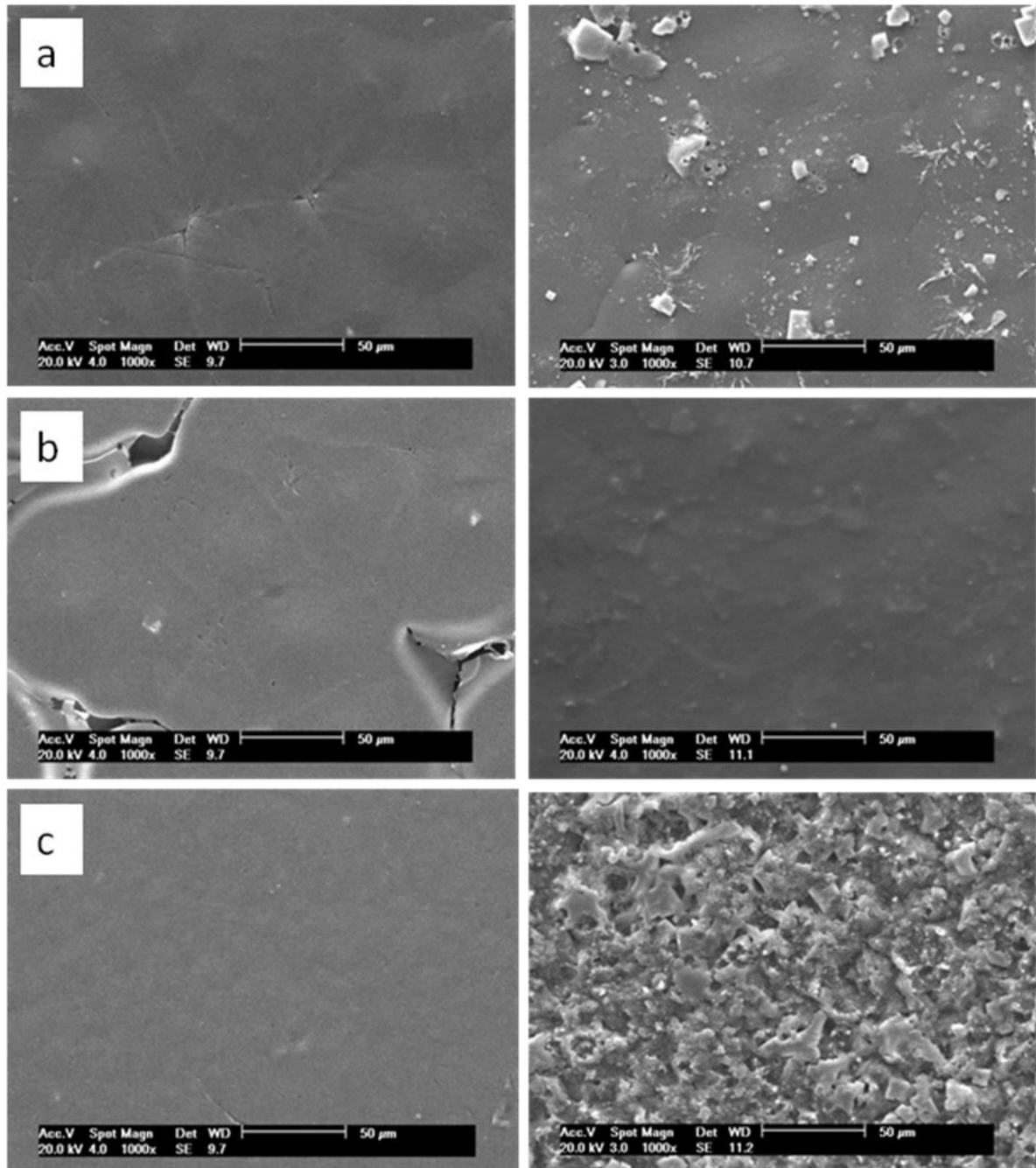


Figura 5.24. Micrografia dos materiais a) PU-1; b) PU-2; c) PU-3; antes (esquerda) e após (direita) 270 dias de degradação; com aumento de 1000x.

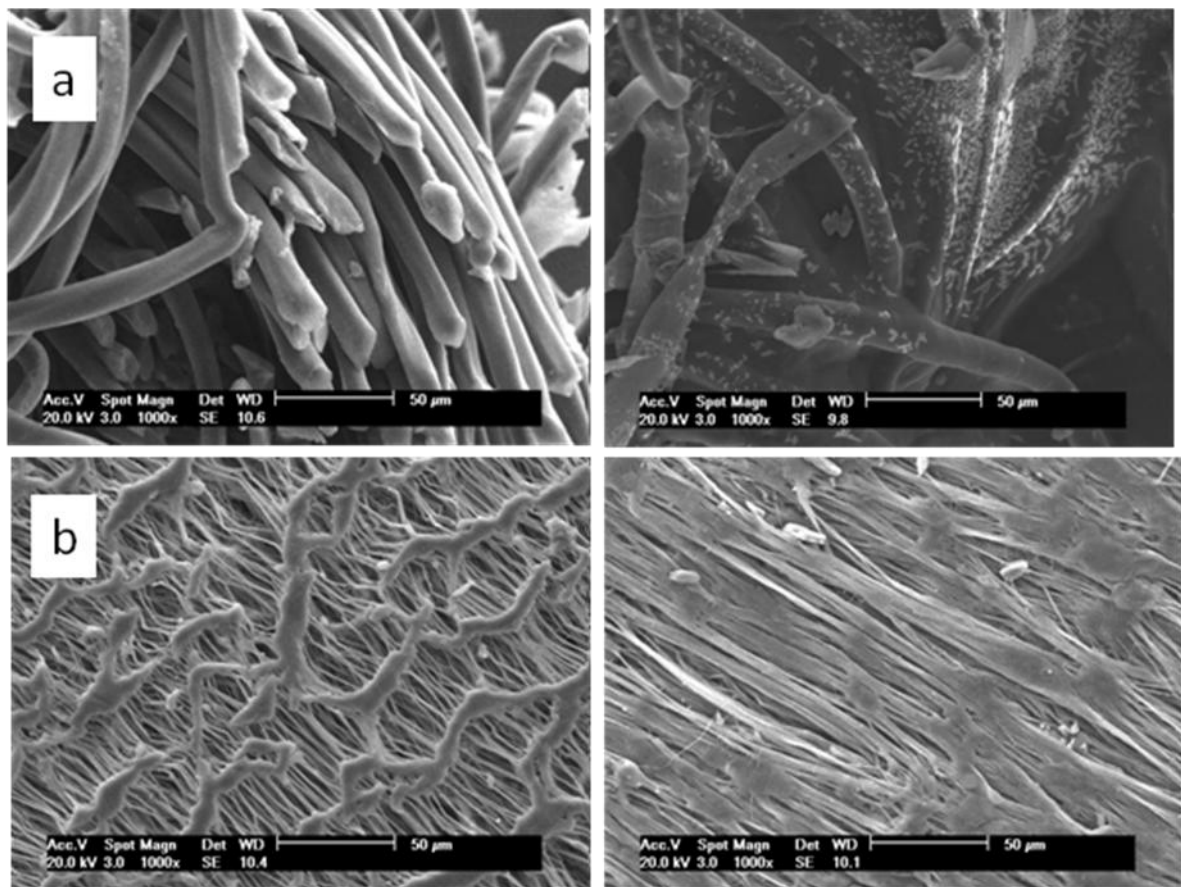


Figura 5.25. Micrografia dos materiais a) Dacron; b) PTFE; antes (esquerda) e após (direita) 270 dias de degradação; com aumento de 1000x.

As Figuras 5.24 e 5.25 mostram as variações ocorridas na morfologia das superfícies dos materiais após 270 dias sob ação da degradação, onde, nos poliuretanos há a presença de grânulos em sua superfície, devido aos sais presentes na solução PBS (Figura 5.24a), bem como a erosão da superfície mostrando a degradação do filme polimérico (Figura 5.24b e c). Os materiais comerciais, Dacron e PTFE, embora teoricamente mais estáveis à degradação (Cohen, 2009), apresentaram perda da estrutura de fibras em suas superfícies. Sendo que, o entendimento e o controle do processo de degradação destes polímeros, bem como, o efeito de seus subprodutos de degradação no organismo vivo são de fundamental importância

5.4.2. Degradação enzimática

A policaprolactona é conhecida por sua biodegradabilidade lenta (Gorna, 2002), sendo que, a enzima lipase tem sido relatada para a análise da degradação do PCL e seus copolímeros (Peng, 2010).

Após 30 dias sob ação da degradação enzimática, os materiais foram analisados em relação a perda de massa, medidas de pH e morfologia de suas superfícies, como descrito na literatura por Peng e colaboradores (2010).

Os poliuretanos PU-2 e PU-6 apresentaram perda de massa em torno de 5% em 30 dias de exposição à degradação enzimática (Peng, 2010), respectivamente, 5,79 e 5,02%. O PTFE não apresentou perda de massa, enquanto que o Dacron mostrou perda de massa de 52,6%, da mesma forma como na degradação hidrolítica, discutida anteriormente. Assim, os poliuretanos mostraram ser mais estáveis ao ataque enzimático do que o material comercial Dacron.

A Figura 5.26 apresenta os resultados mais detalhados de perda de massa e diminuição na massa molar do poliuretano PU-6, enquanto que a Figura 5.27 apresenta a variação do pH da solução contendo as amostras do polímero.

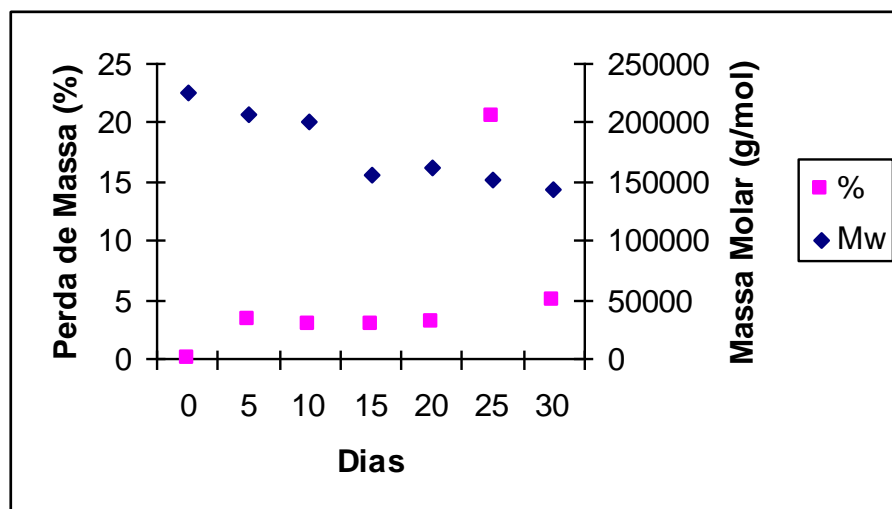


Figura 5.26. Variação da massa (%) e da massa molar M_w (g/mol) do PU-6 submetido a 30 dias de exposição à degradação enzimática.

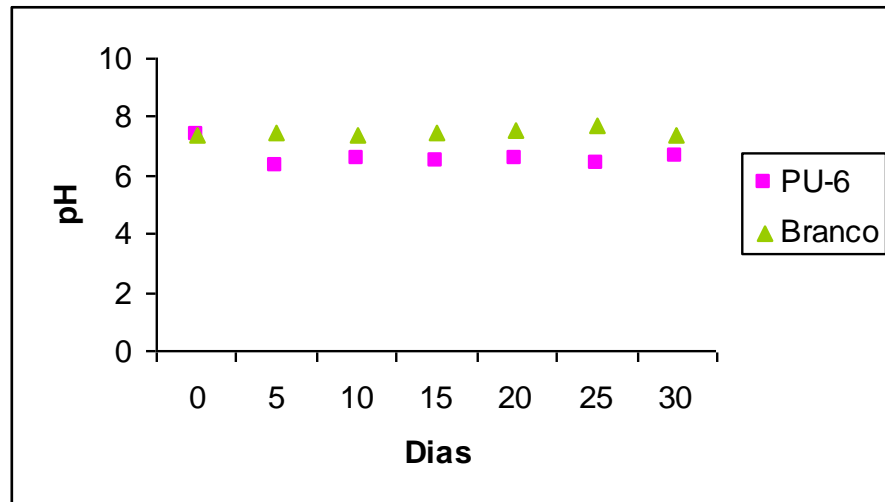


Figura 5.27. Variação do pH das soluções da degradação dos filmes de PU-6 submetidos a 30 dias de exposição.

De acordo com a Figura 5.26, o PU-6 apresentou aumento na perda de massa, chegando em torno de 5% aos 30 dias de exposição à degradação, assim como, diminuição na massa molar, podendo ser observado que essa perda se mostra menor em relação ao material comercial Dacron. A enzima lipase degrada primeiro a parte amorfa na camada externa dos materiais, assim, os micro cristais degradados podem ser atacados ainda mais pela solução de PBS, provocando uma pequena proporção de intermediários insolúveis no meio (Gorna, 2002).

A Figura 5.28 mostra as micrografias dos materiais submetidos à análise da bioestabilidade em meio enzimático.

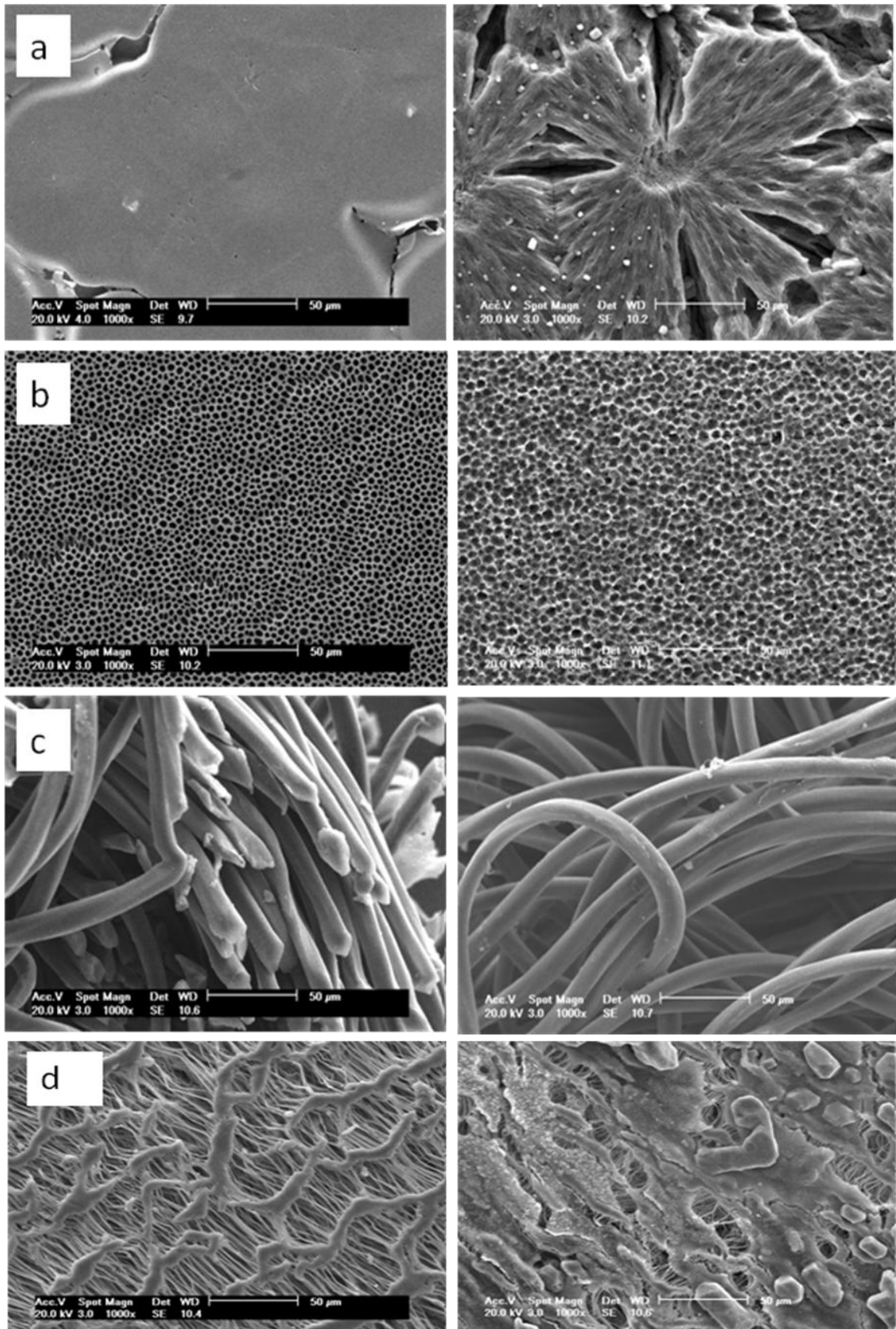


Figura 5.28. Micrografia dos materiais a) PU-2; b) PU-6; c) Dacron e d) PTFE antes (esquerda) e após (direita) 30 dias de degradação; com aumento de 1000x.

Por meio da análise da Figura 5.28, observa-se que os materiais demonstraram diferença em sua morfologia depois de 30 dias sob ação da enzima lipase, por meio da erosão da superfície (Figura 5.28a e b) e perda de estrutura fibrosa (Figura 5,28c e d), mostrando que ocorre degradação de sua superfície. Segundo Li e colaboradores (2003), filmes de blendas de PCL/PLA apresentaram 78% de perda de massa após 72 horas em solução PBS contendo a enzima lipase (Figura 5.29).

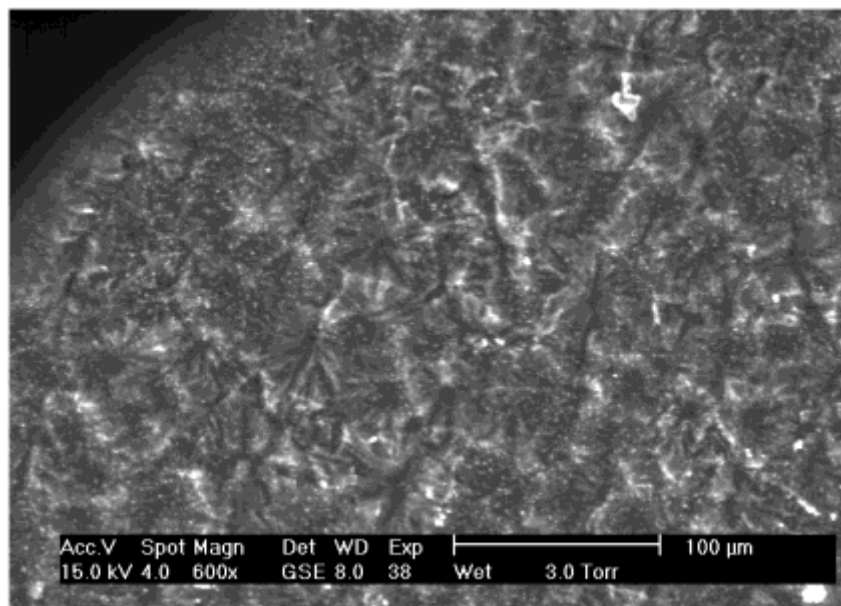


Figura 5.29. Micrografia de um filme de PCL/PLA (Li, 2003).

Em função dos estudos realizados com os poliuretanos sintetizados e materiais comerciais, Dacron e PTFE, pode-se concluir que os poliuretanos mostraram boas propriedades térmicas e mecânicas, destacando-se o PU-6 que apresentou maior alongação máxima sem sofrer ruptura, assim como, em relação aos materiais comerciais, apresentou boa flexibilidade, embora apresente valores inferiores a estes.

Os poliuretanos PU-4 e PU-6 mostraram estabilidade durante o período em que foram expostos aos testes de degradação hidrolítica e enzimática, da mesma maneira como, mantiveram suas propriedades térmicas. Sendo que, o material comercial PTFE manteve-se com pequenas variações durante o período de degradação, enquanto que o Dacron (baseado no material estável PET) apresentou

perda de massa maior em relação a todos os outros materiais, devido ao uso de algum aditivo no seu processamento a fim da obtenção de sua forma final de uso como dispositivo cardiovascular.

As análises de citotoxicidade mostraram que os poliuretanos PU-4 e PU-6 são materiais não citotóxicos, podendo ser utilizados dentro do nosso organismo, como também os materiais comerciais, Dacron e PTFE, embora estudos indiquem problemas associados com a biocompatibilidade do Dacron.

Assim, os poliuretanos PU-4 e PU-6 destacaram-se, tendo grande potencial na área cardiovascular.

6. CONCLUSÕES

Em relação ao desenvolvimento de poliuretanos bioestáveis com potencial aplicação na área cardiovascular, concluiu-se que:

- Os poliuretanos sintetizados apresentaram massa molar ponderal média (M_w) variando entre 30000 e 265000 g/mol, obtidos pela variação do uso de diisocianatos (HDI e H_{12} MDI) com poliól PCL de diferentes massas molares (2000 e 10000 g/mol);
- Os resultados em relação ao comportamento térmico dos poliuretanos sintetizados mostraram que estes têm sua degradação entre 201- 450 °C com perda de massa acima de 90%. As temperaturas de fusão, cristalização e transição vítrea, bem como, a entalpia de fusão variam conforme o tamanho do segmento flexível (PCL de massa molar 10000 g/mol ou PCL de massa molar 2000 g/mol);
- Os poliuretanos sintetizados a partir de PCL de massa molar 10000 g/mol podem ser considerados plásticos, com um maior percentual de alongação (26 - 56%) quando comparados com aqueles sintetizados com PCL de massa molar 2000 g/mol (1,3 - 20%);
- A morfologia dos poliuretanos sintetizados variou de acordo com a preparação dos filmes. Uma morfologia lisa foi observada para os filmes de PUs preparados com o auxílio de um extensômetro, enquanto que, uma morfologia porosa foi obtida para aqueles filmes de PUs preparados com a utilização da câmara de evaporação de solventes.

Em relação as caracterizações realizadas dos materiais comerciais, Dacron e PTFE, concluiu-se que:

- De acordo com seu comportamento térmico, o PTFE apresentou temperatura de decomposição em uma única etapa, enquanto que, o Dacron apresentou perda de massa em duas etapas. Suas temperaturas de fusão mostraram-se em torno de 230 °C para o Dacron e em torno de 310 °C para o PTFE;

- O PTFE mostrou maior resistência à deformação quando comparado ao Dacron. Ambos não sofreram ruptura com a tensão aplicada. Contudo, estes resultados sugerem que esses materiais apresentam algum outro componente em sua composição, provavelmente devido ao processamento pelo qual estes dispositivos passaram para obtenção de sua forma final de uso.

Em relação ao estudo para avaliação da estabilidade dos poliuretanos sintetizados, bem como, dos materiais comerciais, Dacron e PTFE, pela análise de degradação hidrolítica e enzimática, observou-se que:

- Os poliuretanos sintetizados que foram avaliados em relação a sua estabilidade, apresentaram perda de massa abaixo de 20% em um período de 270 dias quando submetidos a degradação hidrolítica. Quando expostos a degradação enzimática, mostraram perda de massa abaixo de 5% em um período de 30 dias. O Dacron apresentou perda de massa inicial em torno de 50% (degradação hidrolítica e enzimática), enquanto que o PTFE mostrou perda de massa em até 1%;

- O comportamento térmico dos poliuretanos e dos materiais comerciais, Dacron e PTFE, apresentaram variações discretas com o tempo de degradação;

- A morfologia dos materiais submetidos às análises de degradação, hidrolítica e enzimática, apresentou presença de grânulos e erosão, mostrando uma degradação dos filmes poliméricos.

Em relação ao estudo de citotoxicidade *in vitro*, conclui-se que:

- Os resultados de viabilidade celular dos poliuretanos sintetizados demonstraram que não houve efeito citotóxico;
- A viabilidade celular verificada para os materiais comerciais, Dacron e PTFE, mostrou diferença estatística, contudo, superior a 80%, permitindo classificar as amostras como não citotóxicas.

Concluimos neste estudo que os poliuretanos sintetizados apresentaram resultados que mostram sua grande potencialidade na utilização cardiovascular, sobretudo pelo fato deste material não apresentar toxicidade e as características mecânicas próximas ou superiores aos dos materiais comerciais utilizados hoje em dia.

7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

- Análise por RMN¹H dos poliuretanos sintetizados;
- Análise da bioestabilidade hidrolítica do poliuretano PU-6 até 270 dias;
- Análise da bioestabilidade enzimática do poliuretano PU-4;
- Análise da citotoxicidade do poliuretano PU-6 pelos testes de VN, MTT e Azul de Tripán;
- Análise da citotoxicidade dos poliuretanos PU-4 e PU-6 utilizando células fibroblásticas Vero (provenientes de macaco);
- Desenvolvimento de dispositivos a partir dos poliuretanos PU-4 e PU-6;
- Análise da biocompatibilidade *in vivo* dos poliuretanos PU-4 e PU-6.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, James ; Rodriguez, Analiz ; Chang, David. Foreign body reaction to biomaterials. **Seminars in Immunology**, v. 20, n. 2, p. 86-100, abril 2008.

ANSELME, K. Osteoblast adhesion on biomaterials. **Biomaterials**, v. 21, n. 7, 667-681, abril 2000.

ASHTON, J. H. et al. Polymeric endoaortic paving: Mechanical, thermoforming, and degradation properties of polycaprolactone/polyurethane blends for cardiovascular applications. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 1, p. 287-294, janeiro 2011.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Standard Test Method for *in vitro* Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants, ASTM F1635. 2010.

BANCO DE SAÚDE. Infarto agudo do miocárdio: considerações finais. Disponível em: <<http://www.bancodesaude.com.br/infarto-miocardio/infarto-agudo-miocardio-consideracoes-finais>>. Acesso em: 16 setembro 2010.

BARBANTI, Samuel; Zavaglia, Cecília; Duek, Eliana. Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 1, p. 13-21, janeiro 2005.

BAQUEY, Charles et al. In: **Fluorine and Health**. Fluorinated Biomaterials for Cardiovascular Surgery. United Kingdom, 2008, p. 379-406.

BERGER, Richard. Eligard®: Pharmacokinetics, Effect on Testosterone and PSA Levels and Tolerability. **European Urology Supplements**, v. 4, p. 20-25, 2005.

BERNACCA, Gillian et al. Hydrodynamic function of polyurethane prosthetic heart valves: influences of Young's modulus and leaflet thickness. **Biomaterials**, v. 23, n. 1, p. 45-50, janeiro 2002.

BHATIA, Sujata; Yetter, Ann. Correlation of visual in vitro cytotoxicity ratings of biomaterials with quantitative in vitro cell viability measurements. **Cell Biology and Toxicology**, v. 24, n. 4, p. 315-319, agosto 2008.

BOUTEN, C.V.C. et al. Substrates for cardiovascular tissue engineering. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, n. 4-5, p. 221-241, abril 2011.

BORENFREUND, Ellen; Puerner, James. A simple quantitative procedure using monolayer culture for toxicity assays. **Journal of Tissue Culture Methods**, v. 9, n. 1, p. 7-9, 1984.

BRIGANTI, E. et al. Silicone based polyurethane materials: a promising biocompatible elastomeric formulation for cardiovascular applications. **J Mater Sci: Mater Med**, v. 17, n. 3, p. 259-266, março 2006.

CANEVAROLO J. R., Sebastião V. **Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. São Paulo: Artliber Editora, 2006. 280 p.

CANEVAROLO J. R., Sebastião V. **Técnicas de caracterização de Polímeros**. São Paulo: Artliber Editora, 2007. 448 p.

CATANESE, J et al. Mechanical Properties of Medical Grade Expanded Polytetrafluoroethylene: The Effects of Internodal Distance, Density and Displacement Rate. **J Biomed Mater Res (Appl Biomater)**, v. 48, n. 2, p. 187-192, março 1999.

CHAN-CHAN, L.H. et al. Degradation studies on segmented polyurethanes prepared with HMDI, PCL and different chain extenders. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 6, p. 2035-2044, junho 2010.

CHANDY, Thomas et al. Use of plasma glow for surface-engineering biomolecules to enhance bloodcompatibility of Dacron and PTFE vascular prosthesis. **Biomaterials**, v. 21, n. 7, p. 699-712, abril 2000.

CHEN, Kuo-You et al. Synthesis, characterization and platelet adhesion studies of novel ion-containing aliphatic polyurethanes. **Biomaterials**, v. 21, n. 2, p. 161-171, janeiro 2000.

CHOUIN, Celso; Pinto, Cristina; Lopez, Gaudencio. Endoprótese Revestida de Jugular Preservada de Bovino: Estudo comparativo da resposta tecidual em aorta torácica descendente e veia cava inferior de suínos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 35, n. 4, p. 252-258, agosto 2008.

COHEN, Ilana. Biomaterials in Cardiology. (InspiredMD Corporation, Dereh Hashalom 4, Tel-Aviv). Disponível em: <http://chemistry.org.il/booklet/22/pdf/ilana_cohen.pdf>. Acesso em: 10 agosto 2009.

DODGE, J. Polyurethanes and Polyureas. Synthetic Methods in Step-Growth Polymers. Roger ME, Long TE. John Wiley & Sons, 197, 2003.

DUBOIS, P et al. Macromolecular engineering of polylactonas and polylactides. 4. Mechanism and kinetics of lactide homopolymerizations by aluminum isopropoxide. **Macromolecules**, v. 24, n. 9, p. 2266-2270, abril 1991.

EAGLSTEIN, William; Falanga, Vincent. Tissue Engineering and the Development of Apligraf®, a Human Skin Equivalent. **Clinical Therapeutics**, v. 19, n. 5, p. 894-905, setembro 1997.

FIORIO, Rudinei; Zattera, Ademir José; Ferreira, Carlos Arthur. Effects of the incorporation of Low-Molecular Weight Diurethanes on Thermal and Rheological Properties of Thermoplastic Polyurethane. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 112, n. 5, p. 2896-2905, junho 2009.

FUJIMOTO, Kazuro et al. An Elastic, Biodegradable Cardiac Patch Induces Contractile Smooth Muscle and Improves Cardiac Remodeling and Function in Subacute Myocardial Infarction. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 49, n. 23, p. 2292-2300, junho 2007.

GORNA, Katarzyna; GOGOLEWSKI, Sylwester. In vitro degradation of novel medical biodegradable aliphatic polyurethanes based on E-caprolactone and Pluronic® with various hydrophilicities. **Polymer Degradation and Stability**, v. 75, n. 1, p. 113-122, junho 2002.

GRAD, Sibylle et al. The use of biodegradable polyurethane scaffolds for cartilage tissue engineering: potential and limitations. **Biomaterials**, v. 24, n. 28, p. 5163-5171, dezembro 2003.

GUAN, Jianjun et al. Preparation and characterization of highly porous, biodegradable polyurethane scaffolds for soft tissue applications. **Biomaterials**, v. 26, n. 18, p. 3961–3971, junho 2005.

GUNATILLAKE, Pathiraja; Adhikari, Raju. Biodegradable Synthetic Polymers for Tissue Engineering. **European Cells and Materials**, v. 5, p. 1-16, 2003.

GUS, Iseu; Fischmann, Airton; Medina, Cláudio. Prevalência dos Fatores de Risco da Doença Arterial Coronariana no Estado do Rio Grande do Sul. **Arq Bras Cardiol**, v. 78, n. 5, p. 478-483, maio 2002.

HANDEL, Neal. Long-Term Safety and Efficacy of Polyurethane Foam-Covered Breast Implants. **Aesthetic Surgery Journal**, v. 26, p. 265-274, junho 2006.

HAYAKAWA, Kenji et al. Inhibition of granulation tissue cell apoptosis during the subacute stage of myocardial infarction improves cardiac remodeling and dysfunction at the chronic stage. **Circulation**, v. 108, n. 1, p. 104-109, junho 2003.

HELMUS, Michael; Gibbons, Donald; Cebon, David. Biocompatibility: Meeting a Key Functional Requirement of Next-Generation Medical Devices. **Toxicologic pathology**, v. 36, p. 70-80, janeiro 2008.

HENCH, L.; Wilson, J. In: **Introduction**. An Introduction to Bioceramics. Singapore: Word Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 1993, v.1, p. 1-15.

INTERNATIONAL STANDART ORGANIZATION. Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods, ISO 10993-5. Geneva, 1999.

IWAI, Shigemitsu et al. Biodegradable polymer with collagen microsphere serves as a new bioengineered cardiovascular prosthesis. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 128, n. 3, p. 472-479, setembro 2004.

JAHNO, Vanusca Dalosto. **Síntese e caracterização do poli (l-ácido láctico) para uso como biomaterial**. Porto Alegre. 2005. 85p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais, UFRGS, Brasil.

JAHNO, Vanusca Dalosto. **Avaliação da citotoxicidade *in vitro* e da biocompatibilidade *in vivo* de biomateriais poliméricos**. Porto Alegre. 2009. 113p. Tese (Doutorado em Medicina e Ciências da Saúde). Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, PUCRS, Brasil.

KIDSON, Iain. The effect of wall mechanical properties on patency of arterial grafts. **Annals of the Royal College of Surgeons of England**, v. 65, p. 24-29, 1983.

KINT, Darwin; Munõz-Guerra, Sebastián. A review on the potential biodegradability of poly (ethylene terephthalate). **Polymer International**, v. 48, n. 5, p. 346-352, maio 1999.

KUSHWAHA, Meenakshi et al. A nitric oxide releasing, self assembled peptide amphiphile matrix that mimics native endothelium for coating implantable cardiovascular devices. **Biomaterials**, v. 31, n. 7, p. 1502–1508, março 2010.

LI, Suming et al. Lipase-Catalyzed Biodegradation of Poly (ϵ -caprolactone) Blended with various Polylactide-Based Polymers. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 2, p. 372-377, março 2003.

LIGABUE, Rosane Angélica; A.S. Technology Componentes Especiais; Einloft, Sandra; Silva. Jefferson Braga; Jahno, Vanusca Dalosto; Poltronieri, Tassiani; Dullius, Jeane Estela de Lima; Viezzer, Christian; Cantarelli, Denise. Processo de produção de membranas biopoliméricas e membranas biopoliméricas obtidas por tal processo. BR000220904837456. B01D67/00. PI0902480-8A2. 31 jul. 2009.

LOH, Xian et al. Biodegradable thermogelling poly(ester urethane)s consisting of poly(lactic acid) – Thermodynamics of micellization and hydrolytic degradation. **Biomaterials**, v. 29, n. 14, p. 2164-2172, maio 2008.

MARCOS-FERNANDEZ, A. et al. Synthesis and characterization of biodegradable non-toxic poly(ester-urethane-urea)s based on poly(3-caprolactone) and amino acid derivatives. **Polymer**, v. 47, n. 3, p. 785–798, janeiro 2006.

MARKETSANDMARKETS. Biomaterials Market Research Reports & Consulting. Disponível em <<http://www.marketsandmarkets.com/biomaterials-market-research-32.html>>. Acesso em: 06 maio 2011.

MARQUES, Silvio et al. Um novo substituto vascular: arterioplastia femoral em cães com remendo de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar – avaliação

hemodinâmica e histopatológica. **J Vasc Bras**, v. 6, n. 4, p. 309-315, dezembro 2007.

MAXWELL, Patrick; Gabriel, Allen. The Evolution of Breast Implants. **Clinics in Plastic Surgery**, v. 36, n. 1, p. 1-13, 2009.

METZGER, Anja. Polyethylene Terephthalate and the Pillar™ Palatal Implant: Its Historical Usage and Durability in Medical Applications. **Journal of Polymer Science (Part A) Polymer Chemistry**, 1-2, 1994.

MEYER, Eric et al. Polyurethane elastomer: A new material for the visualization of cadaveric blood vessels. **Clinical anatomy, Original Communication**, v. 20, n. 4, p. 448-454, maio 2007.

MIKOS, A.; Temenoff, J. Formation of highly porous biodegradable scaffolds for tissue engineering. **Biotechnol. Human Disorders**, v. 3, n. 2, p. 1-6, 2000.

MOHAMMADI, Hadi; Mequanint, Kibret. Prosthetic aortic heart valves: Modeling And design. **Medical Engineering & Physics**, v. 33, n. 2, p. 131–147, março 2011.

MOSSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1, p. 55–63, dezembro 1983.

NAGLE, Dylan et al. Infrared microspectroscopic study of the thermo-oxidative degradation of hydroxy-terminated polybutadiene/isophorone diisocyanate polyurethane rubber. **Polymer Degradation and Stability**, v. 92, n. 8, p. 1446-1454, agosto 2007.

NAIR, Lakshmi; Laurencin, Cato. Biodegradable polymers as biomaterials. **Prog. Polym. Sci.**, v. 32, p. 762–798, 2007.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. OMS alerta para falta de tratamento contra colesterol alto (Portal Brasil.gov.br). Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/noticias/arquivos/2011/02/01/oms-alerta-para-falta-de-tratamento-contra-colesterol-alto>>. Acesso em: 03 janeiro 2011.

OZAWA, Tsukasa et al. Histologic changes of nonbiodegradable and biodegradable biomaterials used to repair right ventricular heart defects in rats. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 124, n. 6, p. 1157-1164, dezembro 2002.

PENG, Hui et al. Controlled enzymatic degradation of poly (ϵ -caprolactone)-based copolymers in the presence of porcine pancreatic lipase. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, n. 4, p. 643-650, abril 2010.

RIEPE, Gunner et al. Long-term *in vivo* Alterations of Polyester Vascular Grafts in Humans. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 13, p. 540-548, junho 1997.

SAAD, B. Development of degradable polyesterurethanes for medical applications: *In vitro* and *in vivo* evaluations. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 36, n. 1, p. 65–74, julho 1997.

SANTERRE, Paul et al. Understanding the biodegradation of polyurethanes: From classical implants to tissue engineering materials. **Biomaterials**, v. 26, n. 35, p. 7457–7470, dezembro 2005.

SCHOEN, Frederick. Cardiovascular pathology: maturation of a discipline and the Society for Cardiovascular Pathology. **Cardiovascular Pathology**, v. 19, n. 4, p. 198–200, agosto 2010.

SCHNABEL, W. Polymer Degradation, Maxmillian Publishing Co. Inc., New Yorj, 1981.

SILVA, Gisele et al. Biodegradation of polyurethanes and nanocomposites to non-cytotoxic degradation products. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, n. 4, p. 491-499, abril 2010.

SLIEDREGT, A. et al. Evaluation of polylactide monomers in a *in vitro* biocompatibility assay. **Biomaterials**, v. 15, p. 251, 1994.

SOARES, João Felipe da Silva. **Constitutive Modeling for Biodegradable Polymers for Application in Endovascular Stents**. Texas. 2008. 301p. Dissertação (Mestrado em Filosofia). Texas A&M University, Estados Unidos da América.

SVENDSEN, C. et al. A review of lysosomal membrane stability measured by neutral red retention: is it a workable earthworm biomarker? **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 57, n. 1, p. 20–29, janeiro 2004.

TSUKADA, Hisashi; Osada, Hiroaki. Experimental study of a new tracheal prosthesis: Pored Dacron tube. **General Thoracic Surgery**, v. 127, n. 3, p. 877-884, março 2004.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. Organic Volatiles Impurities, USP 23, NF18. 1995.

VENKATRAMAN, Subbu; Boey, Freddy; Lao, Luciana. Implanted cardiovascular polymers: Natural, synthetic and bio-inspired. **Progress in Polymer Science**, v. 33, p. 853–874, agosto 2008.

VERT, Michel. Degradable and bioresorbable polymers in surgery and in pharmacology. In: **5º Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais**: 2008, Ouro Preto. Anais: p. 38-39.

VIEZZER, Christian. **Síntese, caracterização e avaliação da citocompatibilidade in vitro de poliuretano como biomaterial na Engenharia Tecidual**. Porto Alegre.

2009. 70 páginas. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais), PGETEMA, PUCRS, Brasil.

XUE, Lian; Greisler, Howard. Biomaterials in the development and future of vascular grafts. **Journal of Vascular Surgery**, v. 37, n. 2, p. 472-480, fevereiro 2003.

WALTER VILAR. Livro Química e Tecnologia dos Poliuretanos. Disponível em: <www.poliuretanos.com.br>. Acesso em: 20 janeiro 2008.

WESTHOFF, Carolyn. Depot-medroxyprogesterone acetate injection (Depo-Provera®): a highly effective contraceptive option with proven long-term safety. **Contraception**, v. 68, p. 75-87, março 2003.

WESTPHAL, Manfred et al. A phase 3 trial of local chemotherapy with biodegradable carmustine (BCNU) wafers (Gliadel wafers) in patients with primary malignant glioma. **Neuro-Oncology**, v. 5, p. 79-88, abril 2003.

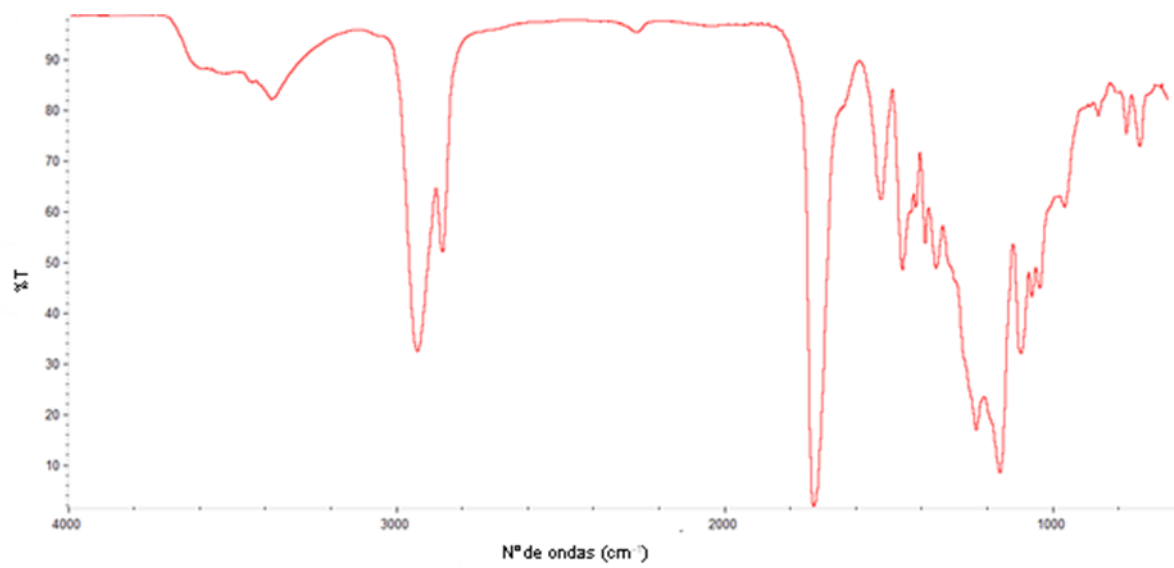
WONG, Joanna. **The application and characteristics of Dacron vascular graft**. 2008. 28p. Curso de Biomateriais.

ZIULKOSKI, Ana Luiza. Ensaios de Viabilidade Celular. In: **Seminários Grupo Profª Ana Luiza – Universidade Feevale**: 2011, Novo Hamburgo.

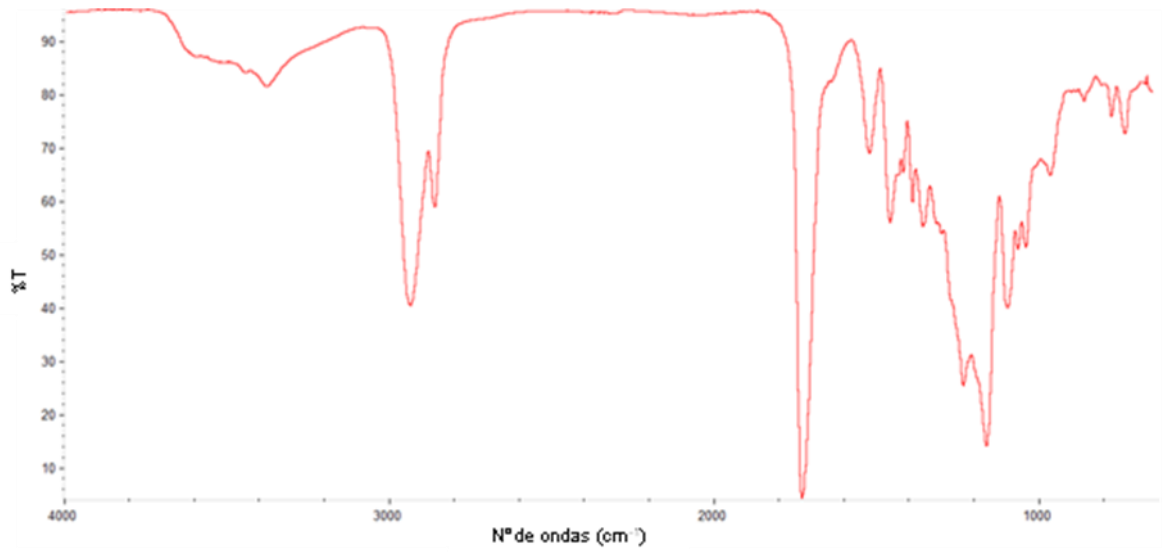
ANEXOS

ANEXO A

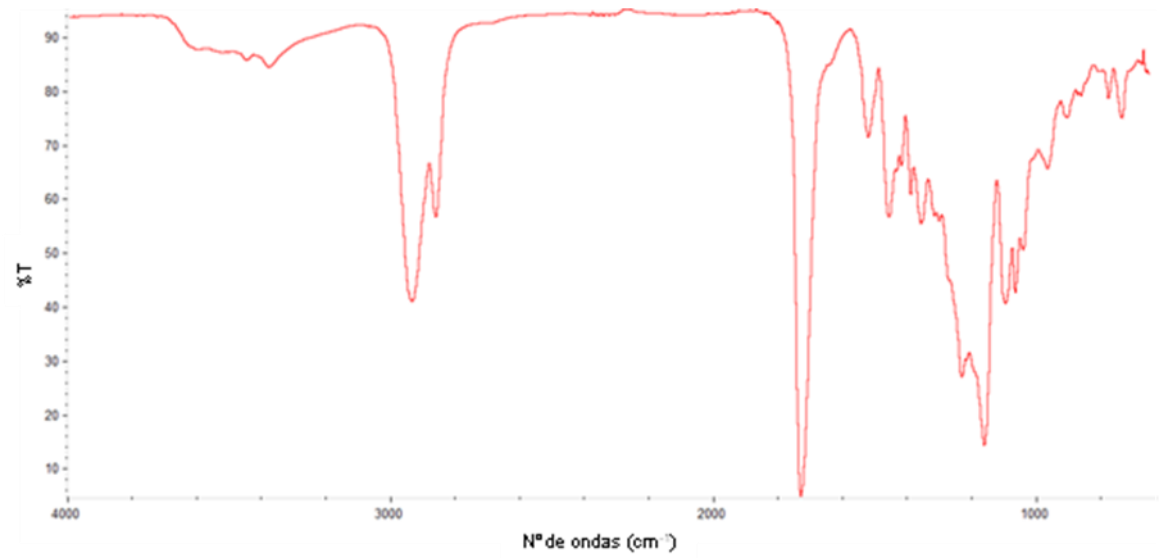
Espectro de infravermelho do PU-1



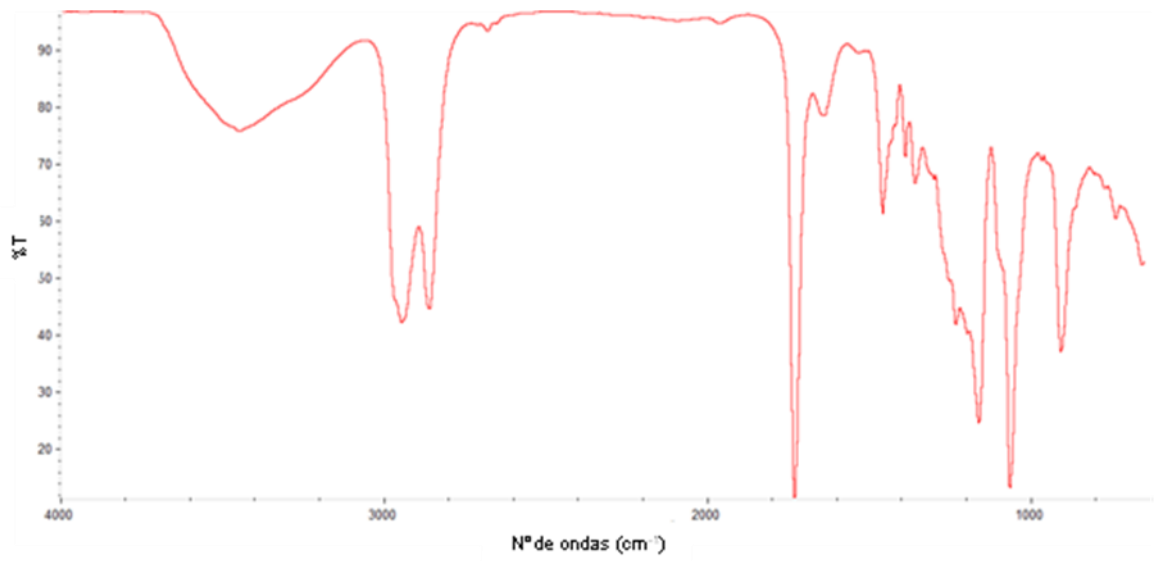
Espectro de infravermelho do PU-2



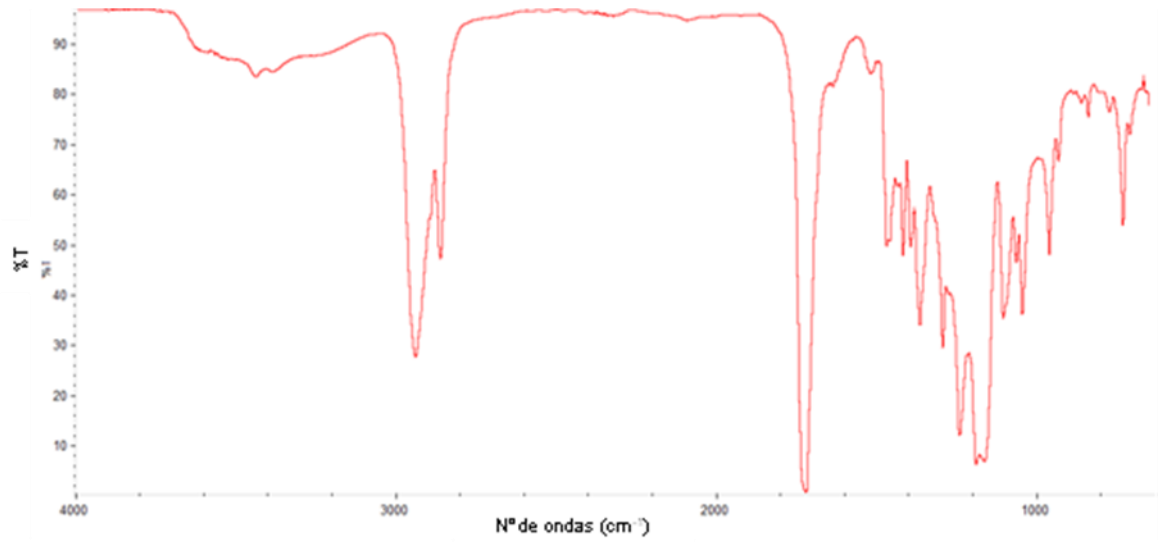
Espectro de infravermelho do PU-3



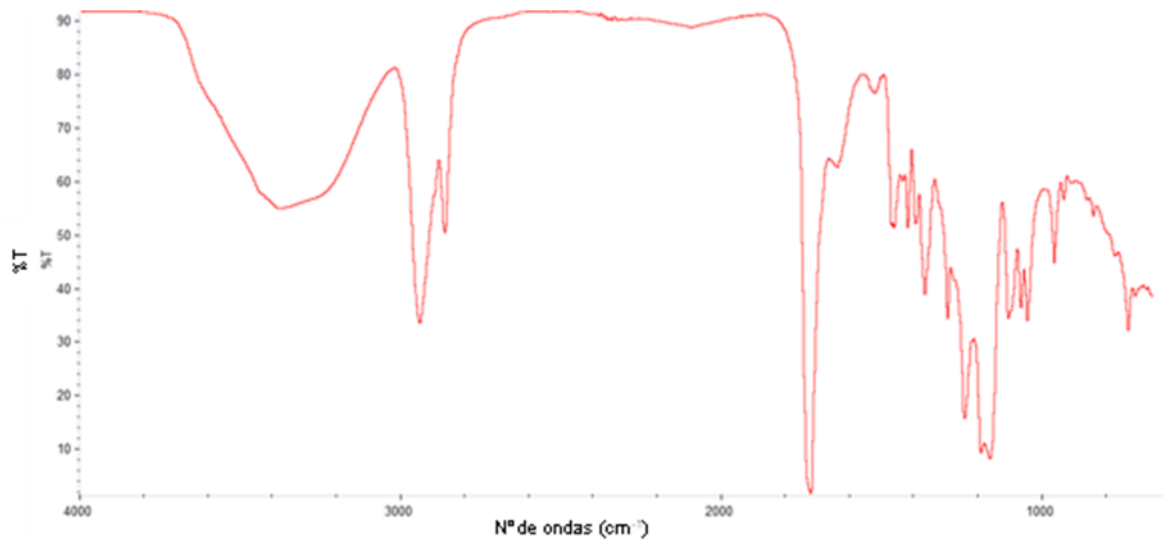
Espectro de infravermelho do PU-4



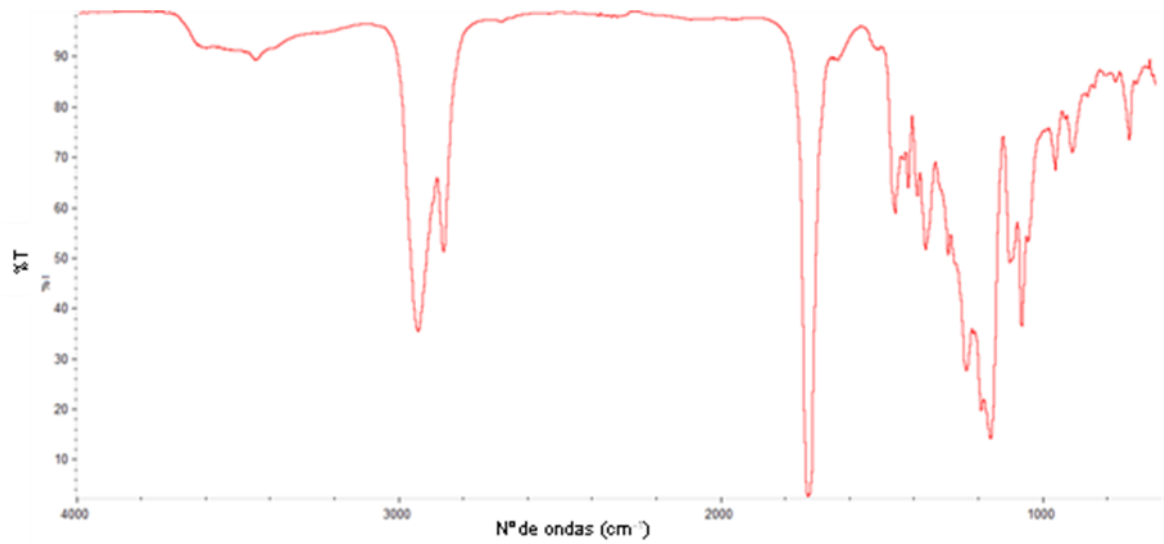
Espectro de infravermelho do PU-5



Espectro de infravermelho do PU-6



Espectro de infravermelho do PU-7



ANEXO B

LISTA DE PUBLICAÇÕES DESTA DISSERTAÇÃO

PEDIDO DE PATENTE REQUERIDA AO ETT DA PUCRS

TRABALHOS PUBLICADOS EM ANAIS DE EVENTOS

1. CABRAL, E.; Dias, G.; Anselmi, A.; Bodanese, L.; Dullius, J.; Einloft, S.; Jahno, V.; Ligabue, R. Thermal and mechanical behavior of biomaterials used in cardiovascular systems. In: **3rd French Brazilian Meeting on Polymers**: 2011, Florianópolis. p. 1.
2. CABRAL, E.; Dias, G.; Anselmi, A.; Dullius, J.; Einloft, S.; Bodanese, L.C.; Jahno, V.; Ligabue, R. Avaliação do comportamento térmico e mecânico de polímeros comerciais utilizados em aplicações cardiovasculares. In: **11º Congresso Brasileiro de Polímeros**: 2011, Campos do Jordão. p. 1-6.
3. DIAS, G.; Menezes, F.; Cabral, E.; Dullius, J.; Einloft, S.; Ligabue, R. Biopolímeros e sua aplicação como biomaterial na área cardiovascular. In: **Seminário Interno de Avaliação da Iniciação Científica**: 2011, Porto Alegre. p.1-2.
4. ROVARIS, P.W.; Moraes, J.P.; Gracioli, E.L.C.; Luvison, N.; Ziulkoski, A.; Jahno, V.D. Avaliação da viabilidade celular do Dacron e PTFE para área cardiovascular. In: **Feira de Iniciação Científica**: 2011, Novo Hamburgo. p.1.