

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MATERIAIS PARA ENGENHARIA

Vanusa de Sousa Vilela Silva

**ESTUDO DAS PROPRIEDADES
BIOCOMPATÍVEIS DE REDES EPOXÍDICAS DO
ÉTER DIGLICIDÍLICO DO BISFENOL-A**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Materiais para Engenharia como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências dos Materiais para Engenharia.

Área de concentração: Polímeros e Cerâmicos

Orientador: Prof. Dr. Alvaro Antonio Alencar de Queiroz

Co-orientador: Prof. Dr. Filiberto Gonzalez Garcia

Novembro de 2009

Itajubá-MG

Dedico esse trabalho aos meus pais: Custódio e Brasilísia que sempre me apoiaram e me deram condições para estudar. À Dona Alzira pelo incentivo. Aos meus filhos: Mariana, Arthur e Vinícius e ao meu marido Edber, que além do apoio souberam superar sem nunca reclamar as minhas ausências.

E aprendemos...

Após algum tempo
Aprendemos a diferença sutil
Entre segurar uma mão
E acorrentar uma alma.
E aprendemos
Que o amor não significa deitar-se.
E uma companhia não significa segurança.
E começamos a aprender...
Que os beijos não são contratos,
E os presentes não são promessas.
E começamos a aceitar as derrotas
De cabeça levantada e de olhos abertos.
Aprendemos a construir
Todos os nossos caminhos hoje,
Porque o amanhã
É demasiado incerto para planos,
E o futuro tem uma forma de ficar pela metade.
E depois de um tempo
Aprendemos que se for demasiado,
Até um calorzinho do sol queima.
Assim plantamos nosso próprio jardim
E decoramos nossa própria alma
Em vez de esperarmos que alguém nos traga flores.
E aprendemos que realmente podemos aguentar,
Que somos realmente fortes,
Que valemos realmente a pena,
E aprendemos e aprendemos...
E em cada dia aprendemos.

Willian Shakespeare.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela proteção dada na minha jornada de viagens para a realização desse trabalho e por ter me dado forças para vencer todos os obstáculos que no meu caminho apareceram.

São muitas as pessoas que colaboraram diretamente comigo. Agradeço a colaboração que prestaram e a constante disponibilidade até mesmo provada com que foram solícitos, ora por vislumbrarem a importância deste trabalho, ora pela simples generosidade de que lhes é própria, prestando a ajuda conveniente. Não sem consciência disto, vão os meus sinceros agradecimentos:

Ao Professor Dr. Alvaro Antonio Alencar de Queiroz por sua orientação acadêmica, amizade, dedicação, e por me proporcionar com todo o seu brilhantismo a possibilidade de crescimento intelectual e profissional.

Ao Professor Dr. Filiberto Gonzalez Garcia, meu co-orientador, pela dedicação e acompanhamento dos experimentos laboratoriais, intervindo sempre de maneira positiva, quando necessário para o bom andamento do trabalho.

Ao Professor Dr. Demétrio Artur Werner Soares pelos conhecimentos a mim transmitidos, pela confiança, amizade e apoio.

Ao Professor Dr. Wander Vasconcelos por disponibilizar o Laboratório de Materiais Cerâmicos da UFMG, para a realização das análises DSC e a Daniela Leite Vasconcelos pela realização desses ensaios.

À Dra Olga Zazuco Higa do Centro de Biotecnologia do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/USP) pelos ensaios de citotoxicidade e radioisotópicos.

À Professora Dra. Maria Elena Leiva, pela amizade, apoio e generosidade.

Ao Glauber, técnico responsável pelo Laboratório Didático de Química da UNIFEI.

À Elaine Cristina, pelo companheirismo, amizade e paciência.

À Professora Maria das Dores, Ferreira pela disponibilidade e ajuda a mim concedida.

Aos colegas do curso de mestrado por terem me recebido tão bem em seu meio.

Finalizo com um agradecimento especial aos meus familiares, esse sonho jamais teria se concretizado sem o seu incondicional apoio.

Sumário

Índice	I
Lista de figuras	III
Lista de tabelas	VI
Lista de abreviaturas	VIII
Resumo	X
Abstract	XI
1. Utilização de cimentos ósseos ortopédicos no Brasil e no mundo	
1.0. Motivação.....	01
1.1. Introdução.....	04
1.2. Cimentos e adesivos ósseos: Revisão da literatura.....	05
2. Utilizações de formulações epoxídicas na área ortopédica	
2.0. Introdução.....	12
2.1. Utilizações de sistemas epoxídicos na área ortopédica.....	13
3. A química do sistema epóxi /aminas alifáticas	
3.0. Introdução.....	18
3.1. Estrutura química da resina epoxídica DGEBA.....	20
3.2. Propriedades típicas e aplicações da resina epoxídica DGEBA.....	21
3.3. Processo de obtenção da resina epoxídica DGEBA.....	22
3.4. Toxicidade da resina DGEBA.....	24
3.5. Estrutura química e propriedades físico-químicas dos endurecedores amínicos: TETA, DETA e AEP.....	24
3.6. A química do sistema DGEBA/Aminas alifáticas.....	27
3.6.1. Cinética da reação do sistema epóxi-aminas alifáticas.....	30
3.7. Sistema de cura do sistema epóxi-amina.....	31
4. Objetivo	33
5. Materiais e métodos	
5.0. Introdução.....	34
5.1. Preparo das formulações DGEBA/Aminas alifáticas (DETA, TETA e AEP).....	35
5.1.1. Cálculo do eqg ⁻¹ de hidrogênio ativo das aminas.....	35
5.2. Titulação da resina epoxídica éter diglicidilício do Bisfenol A (DGEBA).....	36

5.3. Caracterização dos sistemas éter diglicidílico do bisfenol A / aminas alifáticas utilizando a calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	37
5.3.1. Análise por DSC – modo dinâmico.....	38
5.3.2. Análises por DSC – modo isotérmico.....	39
5.4. Preparo das formulações epoxídicas.....	39
5.5. Ensaio mecânico via Dureza Vickers.....	43
5.6. Estudo “in vitro” das propriedades biocompatíveis dos sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP.....	44
5.6.1. Citotoxicidade.....	44
5.6.2. Adesão de plaquetas do sangue nas superfícies sintéticas.....	45
5.6.3. Adsorção protéica.....	47
5.6.4. Formação de trombos.....	47
6. Resultados e discussões	
6.0. Introdução.....	48
6.1. Titulação da resina DGEBA - Volumetria ácido-base.....	49
6.2. Titulação potenciométrica das aminas alifáticas.....	52
6.2.1. Titulação potenciométrica do endurecedor TETA.....	53
6.2.2. Titulação potenciométrica do endurecedor DETA.....	57
6.2.3. Titulação potenciométrica do endurecedor AEP.....	59
6.3. Determinação da razão estequiométrica dos sistemas resina/aminas alifáticas, utilizando-se a calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	63
6.4. Programa de cura e pós-cura.....	67
6.4.1. Análises DSC – sistema curado resina/aminas alifáticas.....	67
6.5. Caracterizações biológicas do sistema DGEBA / aminas alifáticas.....	70
6.5.1. Ensaio de citotoxicidade contra células de mamíferos.....	71
6.5.2. Adsorção protéica.....	74
6.5.3. Hemocompatibilidade “in vitro” do sistema DGEBA/Aminas.....	76
6.6. Ensaio mecânico: Dureza Vickers.....	83
7. Conclusões	89
8. Perspectivas futuras	91
9. Referências bibliográficas	93

Lista de figuras

Figura 1-Estrutura química do monômero metacrilato de metila e do polímero polimetilmetacrilato	06
Figura 2- Prótese de Charnley fixada com cimento ósseo acrílico.....	06
Figura 3- Imagens do procedimento de vertebroplastia percutânea.....	07
Figura 4- Reação entre o isocianato e álcool para obtenção do poliuretano.....	10
Figura 5- Fibras de carbono entrelaçadas tridirecionalmente.....	13
Figura 6- Protótipo de uma prótese metálica, (liga de cobalto-cromo), revestida por fibras de carbono entrelaçadas tridirecionalmente.....	14
Figura 7- Imagem de um fixador externo colocado após fratura exposta.....	15
Figura 8- Representações estruturais de compostos presentes no grupo epóxi.....	18
Figura 9- Estrutura química do grupo glicidil.....	18
Figura 10- Reação de síntese da resina epoxídica DGEBA.....	19
Figura 11- Reação de síntese do bisfenol A.....	19
Figura 12- Estrutura química da resina éter diglicidílico do bisfenol-A (DGEBA).....	20
Figura 13- Reação do grupo epóxi com o ácido HX.....	20
Figura 14- Resinas obtidas via perácido.....	23
Figura 15- Resinas obtidas via epiclodrina	23
Figura 16- Aminas alifáticas de cadeia linear.....	25
Figura 17- Amina alifática de cadeia cíclica e linear	25
Figura 18- Ilustração da reação epóxi/aminas alifáticas	28
Figura 19- Formação da estrutura de rede do sistema DGEBA/aminas alifáticas.....	29
Figura 20- Mecanismos da reação do sistema de resina epóxi do tipo éter diglicidílico do bisfenol-A (DGEBA) com amina alifática.....	31
Figura 21 - Sistema montado para a desidratação da resina DGEBA sob vácuo.....	36
Figura 22- Ilustrações das reações que ocorrem durante o processo de titulação da resina DGEBA.....	37
Figura 23- Equipamento Shimadzu, modelo DSC-50.....	38
Figura 24- Preparo dos cilindros dos sistemas epoxídicos DGEBA/TETA, DGEBA/AEP e DGEBA/ DETA	40
Figura 25- Imagem de um cilindro do sistema epoxídico curado a 37°C por 24 horas.....	41
Figura 26- Torno mecânico marca Sanches Blanes S.A , modelo T.M.280.....	41

Figura 27- Politriz DP, marca STRUERS.....	42
Figura 28- Disco cortado no torno mecânico marca Sanches Blanes S.A , modelo T.M.280 e lixado na Politriz DP, marca STRUERS.....	42
Figura 29- Equipamento HMV 2000, Shimadzu – Laboratório de ensaios mecânicos.....	43
Figura 30- Placas de Elisa ilustrando o ensaio de citotoxicidade.	44
Figura 31- Microscópio eletrônico de varredura Philips XL 30 (IPEN-USP) utilizado para as análises de adesão plaquetária.....	46
Figura 32- Estrutura química do cloreto de hexametilpararosanilina – conhecido como hexametila, violeta de metila 10B, ou cristal violeta.....	50
Figura 33- Estrutura química do agente de cura TETA.....	53
Figura 34- Curvas potenciométricas das titulações do trietilenotetramina em solução aquosa a 25°C.....	54
Figura 35- Estrutura química do agente de cura DETA.....	57
Figura 36- Curvas potenciométricas das titulações do Dietilenotriamina em solução aquosa a 25°C.....	58
Figura 37- Estrutura química do agente de cura AEP.....	59
Figura 38- Curvas potenciométricas das titulações do Aminoetilpiperazina em solução aquosa a 25°C.....	60
Figura 39- Curvas calorimétricas do 1º ciclo térmico para obtenção do calor (ΔH) e reações dos sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP.....	65
Figura 40- Curvas calorimétricas do 2º ciclo térmico para obtenção da temperatura de transição vítrea (T_g) dos sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP.....	66
Figura 41- Curvas calorimétricas do sistema DGEBA/TETA.....	68
Figura 42- Curvas calorimétricas do sistema DGEBA/AEP.....	68
Figura 43- Curvas calorimétricas do sistema DGEBA/DETA.....	69
Figura 44- Citotoxicidade dos extratos das redes pós-curadas de DGEBA/TETA, DGEBA/AEP e DGEBA/DETA.....	73
Figura 45- Adsorção de proteínas nas superfícies das redes epoxídicas.....	75
Figura 46- Esquema da cascata de coagulação.....	77
Figura 47- Micrografias de plaquetas sangüíneas ou trombócitos.....	78
Figura 48 – Microscopia Eletrônica de Varredura da superfícies DGEBA/TETA.....	79
Figura 49 – Microscopia Eletrônica de Varredura das superfícies DGEBA/AEP e DGEBA/DETA.....	80
Figura 50- Polimerização da Fibrina.....	81

Figura 51- Micrografias de Epifluorescência das superfícies das redes epoxídicas.....	81
Figura 52- Relação de plaquetas aderidas por unidade de área nas superfícies de rede do epóxi após exposição ao sangue humano.....	82
Figura 53 - Velocidade de formação de trombos nas redes de DGEBA reticuladas com aminas alifáticas.....	83
Figura 54- Parafusos obtidos através da usinagem de cilindros do sistema DGEBA/DETA.....	87

Lista de Tabelas

Tabela 1- Propriedades típicas da resina DGEBA.....	21
Tabela 2- Propriedades físico-químicas do endurecedor amínico TETA.....	26
Tabela 3- Características físico-químicas do endurecedor amínico DETA.....	26
Tabela 4- Propriedades físico-químicas do endurecedor amínico AEP.....	27
Tabela 5- Resultados das concentrações Normais das titulações da solução (aq) de ácido perclórico.....	51
Tabela 6- Resultados das titulações das amostras de resina DGEBA, e os cálculos do percentual e da massa em gramas correspondente a um equivalente-grama epoxídico.....	52
Tabela 7- Valores em g/eq-g de amina.....	55
Tabela 8- Resultados dos cálculos dos fatores de correções R_p	56
Tabela 9- Resultados dos cálculos da concentração (C): massa de endurecedor/ eqg^{-1} de ácido clorídrico; fator de correção R_p ; cálculos do equivalente-grama de hidrogênio na amina (E_{HA}) e as suas correções.....	57
Tabela 10- Resultados dos cálculos do E_{A2} , fator de correção (R_p), equivalente-grama de hidrogênio na amina (E_{HA}) e suas correções.....	59
Tabela 11- Resultados dos cálculos do equivalente amínico E_A	61
Tabela 12- Equivalente amínico (E_A) e equivalente de hidrogênio do tipo amina (E_{HA}), teóricos e experimentais dos compostos DETA, TETA e AEP.....	61
Tabela 13- Resultados das titulações para o cálculo dos equivalentes de hidrogênios ativos do tipo amina (E_{HA}) dos agentes de cura TETA, DETA e AEP, e o equivalente epoxídico (W) presente na resina DGEBA.....	62
Tabela 14- Valores dos equivalentes de hidrogênios ativos do tipo amina (E_{HA}) dos agentes de cura TETA, DETA e AEP, e o equivalente epoxídico (W) presente na resina DGEBA, divulgados na literatura.....	62
Tabela 15- Razão estequiométrica (phr) dos sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/ AEP).....	63

Tabela 16- Conversão final (η) alcançada após cada experiência isotérmica e a razão não estequiométrica para os três sistemas resina/amina.....	70
Tabela 17- Fatores de coagulação sanguínea.....	77
Tabela 18- Resultados das análises de Dureza Vickers dos sistemas epoxídicos estudados....	85
Tabela 19- Comparativo entre materiais já utilizados em próteses (sistemas de resina acrílica composta com carga cerâmica) e os desenvolvidos nesse trabalho.....	86

Lista de abreviaturas

- ACD – solução de citrato de sódio
- AEP – Aminoetilpiperazina
- ALBC - Antibiotic-Loaded Bone Cement
- ATCC – American Type Culture Collection
- BIS-GMA - Bisfenol-metacrilato de glicidila
- BPA- Bisfenol A
- BSA – Albumina de soro humano
- C_{3D}/ EP-DGEBA- compósito de resina epoxídica com reforço de fibras de carbono entrelaçadas tridirecionalmente
- CE- Comunidade Econômica Européia
- CHO – Cultura de células de ovário de Hamster Chinês
- C_p – Capacidade calorífica
- CPCs- cimentos de fosfato de cálcio porosos
- CTE – Coeficiente térmico de expansão
- DETA – Dietilenotriamina
- DGEBA – Diglicidil éter do Bisfenol A
- DNA – Ácido desoxirribonucléico
- DSC – Calorimetria exploratória diferencial
- E_A – Equivalente Amínico
- EEW - Peso equivalente em epóxi
- EUA- Estados Unidos da América
- FDA- US Food and Drug Administration
- GPa – GigaPascal
- HA – Hidroxiapatita
- HFb – Fibrinogênio do soro humano
- HPMC- Hidroxipropilmetilcelulose
- HV – Unidade de Dureza Vickers
- INTO – Instituto Nacional de Traumatologia-Ortopedia
- IPEN – Instituto de Pesquisa Energética e Nucleares
- IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada
- MEV – Microscopia eletrônica de varredura

MS – Ministério da Saúde
MTS – Corante supravital do composto tetrazólio
PBS – Solução tampão fosfato
PGI₂ – Prostaglandina sódica
pH – Pontencial hidrogeniônico
Phr – Partes de endurecedor para cada 100 partes de resina
PMMA- Poli(metacrilato de metila)
PMS – Agente aclopador de elétrons
RPMI – Meio de cultura de tecido animal desidratado
PRP – Plasma rico em plaquetas
REMATO- Rede Multicêntrica de Avaliação de Implantes Ortopédicos
Rp – Fator de correção amínico
SBF – Soro Fetal Bovino
SFC - Scientific Committee of Food
SUS- Sistema Único de Saúde
TETA- Trietilenotetramina
TEABr – Brometo de tetraetilamônio
Tg – Temperatura de transição vítrea
Tg_∞ - Temperatura de transição vítrea máxima
UHMWPE – Polietileno de Ultra-alto peso molecular
USP – Universidade de São Paulo
UV – Raios ultravioleta

Resumo

Resinas epoxídicas são materiais termorrígidos cujo mecanismo de reação ocorre por polimerização em etapas. No processo de formação da rede polimérica, a estequiometria entre os grupos funcionais desempenha um papel importante nas propriedades mecânicas e adesivas do material. Este trabalho descreve as propriedades físico-químicas e biológicas *in vitro* de três diferentes redes epoxídicas baseadas no éter diglicidílico do bisfenol-A curadas com três agentes de cura independentes: trietilenotetramina (TETA), dietilenotriamina (DETA) e 1- (2-aminoetil) piperazina (AEP). O objetivo deste trabalho foi desenvolver formulações de resinas epoxídicas que possam atuar como adesivos para a área ortopédica. As formulações foram otimizadas através da calorimetria exploratória diferencial (DSC) para a determinação de grupos funcionais. As análises de microdureza Vickers foram realizadas nos três sistemas epoxídicos curados e pós-curados. A interação do material obtido com células de mamíferos (ovário de hamster-CHO) e sua hemocompatibilidade foram estudadas em condições *in vitro*. Os resultados dos ensaios de microdureza Vickers mostraram que os sistemas pós-curados e preparados estequiometricamente apresentaram os maiores valores de dureza. Os aumentos percentuais de dureza dos sistemas epoxídicos estequiométricos curados, DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP, em relação aos mesmos sistemas estequiométricos pós-curados, foram 3,16%, 10,76% e 7,39%, respectivamente. Estes resultados sugerem que as melhores propriedades mecânicas são obtidas para as composições estequiométricas pós-curadas. O estudo das propriedades de biocompatibilidade mostrou que as redes epoxídicas DGEBA/TETA, DGEBA/AEP e DGEBA/DETA são materiais que apresentam baixa citotoxicidade para as células de mamíferos. Os ensaios de adsorção protéica indicaram que as superfícies dos sistemas epoxídicos DGEBA/TETA, DGEBA/AEP e DGEBA/DETA adsorvem mais albumina que fibrinogênio. Entretanto, a microscopia eletrônica de varredura evidenciou que o sistema DGEBA/TETA é mais propenso à adesão de plaquetas do sangue, provavelmente devido à adsorção da proteína fibrinogênio (HFb). Os resultados de adesão plaquetária e formação de trombos indicaram que os sistemas DGEBA/DETA e DGEBA/AEP exibiram boas propriedades hemocompatíveis.

Abstract

Epoxy resins are thermosetting polymers that cure when mixed with a catalyzing agent or "hardener". The epoxy network formation is strongly dependent of the stoichiometry ratio between the functional groups of the epoxy and hardener, respectively. This work describes the physicochemical and *in vitro* biological properties of three epoxy networks based on diglycidyl ether of bisphenol-A (DGEBA) cured with triethylenetetramine (TETA), diethylenetriamine (DETA) and 1-(2-aminoethyl)piperazine (AEP). The aim of this work was the development of epoxy formulations that will be interesting for orthopedic applications. The epoxy formulations were optimized by differential scanning calorimetry (DSC) for determination of functional groups. The microhardness analyses were accomplished in the cured and post-cured DGEBA/TETA, DGEBA/DETA and DGEBA/AEP formulations. The biological interactions between the obtained materials and mammalian cells (Chinese ovary Hamster cells-CHO) and blood compatibility were studied by *in vitro* conditions. The microhardness test assays showed that both, post-cured and stoichiometric formulations showed a largest hardness values. The hardness increase of the cured stoichiometric DGEBA/TETA, DGEBA/DETA and DGEBA/AEP formulations relatively to the post-cured systems, were 3.16%, 10.76% and 7.39%, respectively. These results suggest that the best mechanical properties are obtained for the post-cured stoichiometric compositions indicating that a more complete network DGEBA structure are obtained. The biocompatibility studies indicate that the DGEBA/TETA, DGEBA/AEP and DGEBA/DETA epoxy networks have low cytotoxicity to mammalian cells. The protein adsorption assays onto DGEBA/TETA, DGEBA/AEP and DGEBA/DETA surfaces showed that the epoxy networks adsorbed more albumin than fibrinogen. However, the scanning electron microscopy indicates that the DGEBA/TETA network adhere more blood platelets than DGEBA/AEP and DGEBA/DETA networks, probably due to the fibrinogen adsorption. The results about platelet adhesion and thrombus formation indicated that DGEBA/AEP and DGEBA/DETA networks exhibits good hemocompatible behavior.

1- Utilização de cimentos ósseos ortopédicos no Brasil e no mundo

1.0. Motivação para este trabalho

A perda de um órgão ou de uma parte do corpo gera, além da perda da função biológica, transtornos sociais e psicológicos. Os avanços alcançados na medicina moderna têm possibilitado o desenvolvimento de materiais sintéticos (biomateriais), com propriedades que mimetizam o tecido biológico, visando à reposição do órgão perdido, proporcionando uma melhor qualidade de vida para o paciente.

Os biomateriais representam um segmento importante dos cerca de 300.000 produtos para uso na área da saúde. Um biomaterial, do ponto de vista formal, pode ser definido como sendo um material de natureza sintética ou natural, que pode ser utilizado por um período de tempo para substituir parcial ou inteiramente um tecido ou órgão biológico. Em geral, os biomateriais não devem ter uma resposta do tecido hospedeiro e, para tanto, devem se assemelhar quimicamente ao mesmo. Essa característica estimula a ocorrência da biocompatibilidade, ou seja, não induz respostas teciduais ou imunológicas adversas [1-2].

Em 2000, o mercado mundial de biomateriais foi estimado em 23 bilhões de dólares, com taxa de crescimento de 12% ao ano, o que significaria já ter, em 2008, ultrapassado os 50 bilhões de dólares [3].

A participação dos EUA no mercado de biomateriais situa-se entre 35 a 45% do mercado mundial, enquanto o mercado europeu é responsável por cerca de 25%. Somente o mercado músculo-esquelético foi estimado em 24 bilhões de dólares em 2005, com US\$13,3 bilhões correspondendo ao mercado norte-americano [8].

Estima-se mundialmente a ocorrência de aproximadamente 700.000 fraturas por ano, ocasionadas devido à compressão em vértebras osteoporóticas, e mais de um terço dessas fraturas são cronicamente dolorosas. Sem surpresas, os gastos sobem acima de 17 bilhões de dólares em custos diretos nos Estados Unidos [9].

Em 1990, o número de fraturas de colo de fêmur devido à osteoporose foi de aproximadamente 1,7 milhão. Esse número poderá chegar a 6 milhões em 2050, o que equivale a um gasto adicional de 7 milhões de dólares em próteses [9].

Mundialmente estima-se que mais de 800.000 cirurgias de substituições de próteses de

quadril são executadas por ano, e deste total, aproximadamente 1 a 10% são devido ao afrouxamento asséptico. O afrouxamento asséptico é o afrouxamento que resulta de osteólise, uma complicação muito comum em artroplastia (artroplastia ou prótese total de quadril se caracteriza pela substituição ou troca da articulação do quadril para restabelecer a função da articulação coxo-femoral), ela ocorre ao longo do tempo como resultado de uma reação inflamatória a fragmentos particulados do cimento ósseo, na interface cimento-osso ou metal-osso. O resultado é a perda óssea no entorno da prótese [13]. O afrouxamento asséptico leva a uma substituição ou revisão do implante, e ambos são dolorosos para o paciente, tecnicamente difíceis para o cirurgião e caro para o serviço de saúde [13].

Depois do afrouxamento de prótese, a infecção bacteriana (osteomielite) é a segunda complicação mais comum da artroplastia. Muitas doenças acometem esta articulação, sendo que as mais importantes são: artrose de quadril e fraturas do colo do fêmur. A taxa de infecção após a cirurgia de substituição varia de 0,5% a 3% [14,15]. O custo do controle de tais infecções são muito altos, podendo chegar nos Estados Unidos a aproximadamente 250 milhões de dólares por ano [16]. Os casos de infecções, causadas por bactérias que invadem o corpo humano no momento da operação e rejeições, podem ser minimizados quando a matéria-prima atende completamente as exigências determinadas pelas normas NBR ISSO [11].

Os avanços no campo dos biomateriais têm ocorrido em função de vários fatores, destacando-se o aumento da expectativa de vida da população e dos traumas de alta e baixa energia. É fato conhecido na literatura que traumas de baixa energia, como quedas dentro do domicílio, determinam principalmente fraturas do fêmur proximal, rádio distal e coluna em idosos [4].

Considerando somente os traumas de baixa energia, um fato preocupante em nosso país é o aumento gradativo da população idosa que em 1980 compunham 6,1% da população brasileira, no senso de 1991 correspondiam a 7,3% do contingente populacional, representando aumento de 21,3% em período de dez anos. A projeção para 2010 é de que 10% da população nacional será de indivíduos idosos. Em países desenvolvidos a população idosa deverá dobrar e triplicará nos países em desenvolvimento [5-7].

De acordo com a National Osteoporosis Foundation, Physician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis, a expectativa de vida aumentada nos países desenvolvidos e em desenvolvimento tem conduzido a uma elevação séria no número de problemas músculo-esquelético, como osteoporose e osteoartrite [9]. Essa fundação tem previsto que mais de 100 milhões de pessoas no mundo estão sob o risco de desenvolver fraturas secundárias devido à

osteoporose. Nos Estados Unidos, 40% das mulheres e 13% dos homens com mais de 50 anos correm o risco de ter fraturas de coluna e quadril [12].

O setor de implantes é capaz de devolver a qualidade de vida para os pacientes que sofreram danos músculo-esquelético provocados por doenças ou por traumas através do restabelecimento da função das articulações, substituídas pelas próteses. Uma variedade de implantes ortopédicos: parafusos, placas e hastes, que substituem total ou parcialmente as articulações do corpo humano, como o quadril, joelho e ombro, estão disponíveis no mercado mundial [10].

Os implantes são úteis quando os tratamentos conservadores, como a imobilização com gesso, por exemplo, não são eficazes. A grande maioria dos implantes ortopédicos é utilizada em casos de fraturas e doenças degenerativas [11].

A recuperação envolve diversos fatores, como o estado geral de saúde do paciente e o tipo de problema que ocasionou à colocação do implante ortopédico. A indicação para o uso de determinada prótese depende da idade do paciente, do tipo de doença, da qualidade do osso e da experiência do cirurgião [11].

Em 2008, foram gastos pelo SUS cerca de R\$ 105 milhões com implantes ortopédicos, incluindo implantes do tipo síntese, coluna, fixadores, próteses e cerâmicas. Os ministérios da Saúde e da Ciência e Tecnologia investiram R\$ 7,2 milhões, entre 2005 e 2006, para qualificar instituições para a formação da Rede Multicêntrica de Avaliação de Implantes Ortopédicos (REMATO). Desse total, R\$ 3,6 milhões foram financiados pelo Ministério da Saúde, por meio do Fundo Nacional de Saúde [10].

Os maiores gastos concentram-se nos implantes tipo síntese (utilizados para a reconstituição de articulações), como placas e parafusos de titânio, hastes intramedulares, síntese ligamentar e fios de aço (usados geralmente para a consolidação de fraturas) e implantes do tipo prótese utilizados para a reconstituição de articulações. Cada um desses implantes (síntese e prótese) representaram cerca de 38% do valor total gasto pelo SUS para a compra de implantes ortopédicos em 2007. Além do impacto financeiro, as próteses que substituem parcial ou integralmente as articulações, contribuem para altas taxas de mortalidade e agravos, grande número de cirurgias de revisão e dias de internação, além de impactos negativos na qualidade de vida dos pacientes. Porém, espera-se a melhoria na qualidade de vida dos pacientes e redução dos custos para o SUS [10].

O maior desafio do setor na atualidade é prorrogar a vida útil das próteses. Depois de aproximadamente 10 a 15 anos, geralmente as próteses cimentadas se soltam ou há um desgaste dos componentes, e a prótese precisa ser substituída. As melhorias contínuas nas

propriedades dos materiais, nos projetos, nos processos, os avanços nas técnicas cirúrgicas e o adequado comportamento do paciente são necessários para aumentar a vida útil das próteses [17].

Os defeitos ósseos, como fraturas de vértebras, geralmente são tratados com cimento ósseo (por exemplo: cimento acrílico), apesar desses biomateriais terem propriedades mecânicas suficientes para fixar a fratura, eles não são biodegradáveis e não remodelam ou integram o tecido anfitrião [17].

Com o aumento da longevidade do brasileiro, hoje aproximadamente 71,7 anos, há necessidade de se ampliar a oferta de tecnologia. Essa população, se não convenientemente tratada, demandará intervenções cirúrgicas para colocação de implantes ortopédicos. Dessa forma fica claro que também será necessário que se invista em prevenção [10].

1.1. Introdução

Historicamente, pode-se considerar que os biomateriais são tão velhos quanto os homens e o registro histórico de sua primeira utilização se referem aos materiais de sutura a cerca de 4000 a.C. Há registros que os egípcios usaram placas metálicas para reparos em lesões cranianas e membros artificiais. Estas práticas também já eram conhecidas desde a época do império romano até a idade média [18].

É na primeira metade do século XX, com as grandes guerras mundiais que a medicina ortopédica se firma definitivamente como especialidade alcançando significativo desenvolvimento. Mais uma vez, a necessidade acabou por estimular o desenvolvimento de novas técnicas. Na primeira guerra mundial o uso da goteira de Thomas, o controle das hemorragias, a rápida ajuda, a evacuação com ambulâncias e outros avanços reduziram as mortes, as amputações e o longo tempo de recuperação dos traumas de maneira significativa [19]. Na segunda guerra mundial, além da experiência da primeira, os médicos já contavam com a penicilina introduzida por Alexander Flemming em 1928. A introdução da haste intramedular pelo alemão Gerhard Kuntscher (1900-1972) permitiu uma volta mais rápida dos soldados ao campo de batalhas. Enquanto isto, o americano Austin T. Moore (1890-1963) criou a primeira prótese de substituição articular, do fêmur proximal, feita de *vitallium*. No período entre as guerras, Eugen Bircher foi o primeiro cirurgião a usar em larga escala a artroscopia em joelhos com fins clínicos. Depois das guerras muitos nomes se destacaram no

avanço das técnicas ortopédicas e materiais de osteossíntese. A partir destes grandes avanços do passado chegamos ao século XXI. Neste século surgiram novas técnicas, aparelhos, exames, e um grande aprofundamento nos estudos de novos materiais para a área de engenharia de tecidos.

As tentativas de se construir próteses artificiais data do período Greco-romano. Entretanto, é no período contemporâneo, através dos polímeros de engenharia, mais leves e com boas propriedades de biocompatibilidade que a ciência dos biomateriais se desenvolve vertiginosamente.

Talvez um dos polímeros mais amplamente utilizado atualmente na ortopedia seja o poli (metacrilato de metila) (PMMA). O PMMA vem sendo utilizado em implantes ósseos desde 1950 para melhorar a fixação do implante ao osso [20].

O cimento à base de PMMA foi desenvolvido na década de 40, na Alemanha [21]. As pesquisas visando à utilização de poliuretanos como cola óssea tiveram início também na Alemanha nos anos 50 e 60 [21]. O uso mais comum do PMMA em osso tem sido como um cimento ósseo usado para segurar os implantes ortopédicos. Entretanto o uso clínico deste tipo de cimento ósseo é tipicamente acompanhado por várias complicações. Sabe-se que estas complicações são resultados das limitações das propriedades mecânicas destes cimentos e de sua pobre compatibilidade com o osso. O material é quebradiço podendo encolher-se. O PMMA quando é manipulado antes de ser utilizado como cimento cirúrgico apresenta vazios (bolhas) que diminuem significativamente as propriedades mecânicas. Na reação de adição o PMMA se submete a uma polimerização exotérmica que tem mostrado causar danos ao tecido ósseo [22].

1.2. Cimentos e adesivos ósseos: Revisão da literatura

Na década de 50, o cimento ósseo acrílico à base de PMMA já era utilizado para a fixação de prótese durante a artroplastia total de quadril. Além de colar a prótese ao osso, ele funciona como um amortecedor elástico que transfere a carga da prótese para o osso [23,24].

Os cimentos ósseos acrílicos consistem principalmente de poli (metacrilato de metila) (PMMA), (Figura 1), e são utilizados em cirurgias ortopédicas e odontológicas há mais de 40 anos [23].

biológico utilizado comumente em suturas e anastomoses intestinais [26]. A força de adesão dos bioadesivos baseados em cianoacrilatos em ambientes úmidos atraiu a atenção da comunidade médica. A utilização do cianocrilato de metila como bioadesivo tem provocado elevados índices de infecções, reações locais severas com formações de fissuras na soldadura do osso além de elevado grau carcinogênico. Por esses motivos o seu uso em seres humanos foi proibido pela Food and Drug Administration [21].

Atualmente utiliza-se o cianocrilato de etila (Super Bonder®) com sucesso para a estabilização de pequenas fraturas ósseas. A toxicidade desse composto é menor e a força de adesão é comparável a do cianocrilato de metila [27].

A aplicação de cimentos ósseos injetáveis em ortopedia requer que estes tenham propriedades apropriadas, por exemplo, alta resistência mecânica e biocompatibilidade [28]. Os cimentos ósseos injetáveis são aplicados nos procedimentos de vertebroplastia percutânea. A vertebroplastia percutânea é uma técnica que consiste na injeção de cimento ósseo diretamente no corpo de vértebras com fraturas provocadas por osteoporose, ou lesões relacionadas à tumores [29]. O corpo, parte anterior da vértebra, é puncionado com uma agulha (cânula), através da qual é feita a injeção de cimento, Figura 3.

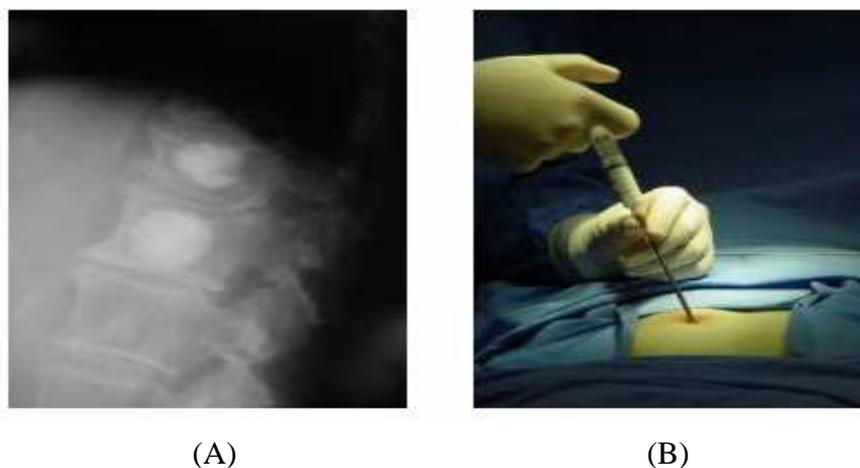


Figura 3 - Imagens do procedimento de vertebroplastia percutânea. (A) Cimento injetado no corpo da vértebra e (B) Injeção do cimento no corpo vertebral puncionado através de uma agulha (cânula) [29].

A utilização de cimento ósseo em vertebroplastia percutânea foi introduzida há uma década atrás na França. A taxa de alívio da dor é de 80 a 90 % em uma variedade de lesões do corpo vertebral. O alívio da dor é relacionado principalmente à estabilização do corpo vertebral com respeito à força compressiva do cimento [30,31].

Embora alguns cimentos sejam aprovados para uso em vertebroplastia pelos Estados Membros da Comunidade Económica Europeia (CE) e outras regiões mundiais, nenhum

cimento ainda foi aprovado nos EUA pela FDA (US Food and Drug Administration), para este fim [30].

Drogas como antibióticos e anti-inflamatórios, são atualmente incorporadas aos cimentos ósseos. Essa incorporação é vantajosa do ponto de vista da liberação da droga diretamente no tecido danificado e em altas concentrações, resolvendo assim o problema do reduzido efeito terapêutico da administração no modo convencional ocasionada pela limitada circulação sanguínea no tecido ósseo [32].

Agentes antineoplásicos podem ser também adicionados aos cimentos ósseos para promover um efeito curativo local. Depois da remoção de um tumor maligno, o medicamento contido no cimento ósseo se difunde dentro do tecido afetado e retém suas propriedades intrínsecas [24]; porém, ensaios “*in vitro*” mostraram que os cimentos ósseos acrílicos não permitem a liberação total da droga [33]. Na tentativa de melhorar a liberação de drogas pelo cimento acrílico, moduladores de liberação de drogas como lactose ou hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) foram adicionados ao cimento ósseo [27]. A lactose provocou modificações na superfície do cimento tornando-a irregular devido ao seu processo de dissolução. A liberação da droga em formulações contendo lactose foi aproximadamente 13% maior que dos cimentos ósseos comerciais. Não obstante, o uso do modulador de liberação HPMC aumentou a porosidade do cimento, mas não produziu um aumento na liberação da droga porque o cimento sofreu gelificação, o que dificultou a liberação do medicamento [16].

O sistema de terapia profilática antibiótica é utilizado pela maioria dos cirurgiões ortopédicos, e muitos usam a profilaxia local por meio de cimentos ósseos carregados com antibiótico, ALBC (Antibiotic-Loaded Bone Cement) [14]. Nos Estados Unidos mais de 90% dos cirurgiões ortopédicos utilizam o método ALBC para artroplastias primárias. Na Noruega, o uso do ALBC para as fixações ou substituições totais de próteses de quadril e joelho aumentou de 40% em 1989 para 94% em 1999 [15].

Os cimentos ósseos acrílicos apresentam algumas desvantagens que limitam o seu desempenho. A elevada exotermia devido à reação de polimerização do cimento ocasionando a necrose do tecido ósseo é um fator a se considerar na utilização dos cimentos acrílicos na medicina ortopédica. Adicionalmente, a elevada porosidade, baixa força adesiva nas interfaces cimento-osso e cimento-prótese, encolhimento, infecções e inflamações, contribuem para o afrouxamento ou até a soltura do implante, tendo sido apontado como as causas principais do fracasso da artroplastia de quadril [34].

Segundo alguns autores, a alta porosidade dos cimentos ósseos contribui para a

formação de micro trincas, o que pode levar a soltura da prótese [34]. As taxas de afrouxamento de próteses cimentadas num período de 10 anos variam de 5% a 10% [14]. Esse afrouxamento leva a cirurgia de revisão da prótese ortopédica cimentada, essa revisão pode ser também necessária quando ocorrer dor devido ao movimento da prótese, fratura do osso e/ou do cimento ósseo ou mesmo a fratura da prótese [35].

Depois do afrouxamento de prótese, a infecção bacteriana (osteomielite) é a segunda complicação mais comum da artroplastia. A taxa de infecção após a cirurgia de substituição varia de 0,5% a 3% [14,15].

As propriedades mecânicas dos cimentos ósseos comercializados atualmente deixam a desejar, por isso, modificações na formulação original do cimento ósseo acrílico têm sido testadas a fim de melhorá-las, como reforçar o cimento com fibras de carbono; porém a adição das fibras tornou-se desvantajosa em relação à manipulação do cimento [23, 36, 37].

O primeiro passo na interação entre um material implantado e o tecido biológico consiste na formação de uma camada protéica na superfície do biomaterial que influenciará na resposta imunológica do cimento ósseo e o seu bom desempenho. Em busca dessa melhoria na resposta imunológica foi desenvolvido recentemente um cimento ósseo bioativo composto por uma mistura de resina BIS-GMA (bisfenol-metacrilato de glicidila) e substâncias bioativas como hidroxiapatita e vidros bioativos [38].

Os resultados mostraram que os vidros bioativos que continham SiO_2 , Na_2O , CaO e P_2O_5 livres, ao serem adicionados ao cimento ósseo promoveram uma melhor adesão do cimento ao osso devido a formação de uma camada rica em cálcio e fósforo como resultado de uma resposta biológica da interface tecido-cimento [25]. Em contrapartida, a adição dos compostos bioativos prejudicaram significativamente as propriedades mecânicas do cimento [39].

Na década de 30, na Alemanha, iniciou-se a utilização de poliuretano na produção de espumas rígidas e adesivos; e na década de 50 houve o grande desenvolvimento comercial em espumas flexíveis, tintas e vernizes. Basicamente obtêm-se o poliuretano pela reação de poli adição entre um poli-isocianato e um polioliol, Figura 4.

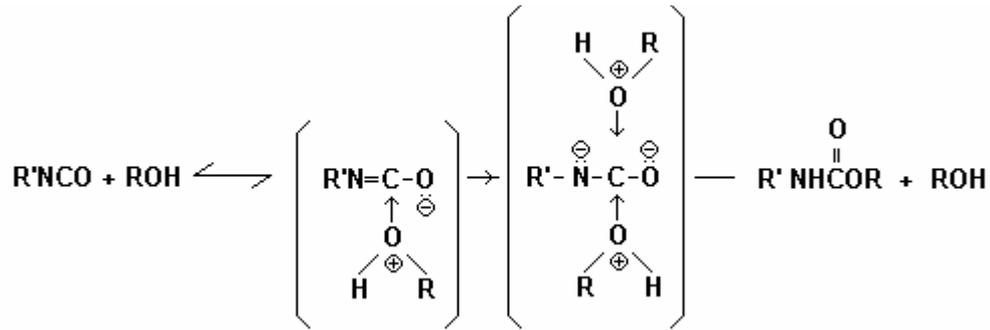


Figura 4 - Reação entre o isocianato e álcool para obtenção do poliuretano.

Nos anos 50 e 60, os poliuretanos foram pesquisados extensivamente com a finalidade de serem utilizados como cola óssea, para o caso de fraturas [21].

Nos Estados Unidos, na década de 60, um poliuretano denominado "Ostamer" recebeu grande atenção, pois, acreditava-se que ele era biodegradável e sua porosidade seria satisfatória para permitir o crescimento ósseo e prover uma boa adesão e biocompatibilidade. Mas, os resultados da aplicação deste poliuretano foram insatisfatórios devido à alta incidência de infecções, temperatura de polimerização elevada, força de adesão fraca, reabsorção lenta e o aparecimento de problemas como pseudoartroses, necrose de tecido e cicatrização lenta [21].

Autores relatam à obtenção de um cimento ósseo injetável, curável in situ, para uso em potencial com um tecido para implantes [28]. Ele foi sintetizado a partir de dois pré-polímeros a base de pentaeritritol. Esse polímero exibiu força mecânica e elasticidade superior a de muitos cimentos ósseos injetáveis. Os testes de citotoxicidade utilizando osteoblastos humanos primários revelaram uma proliferação aumentada em um período de 7 dias de cultura. Este ambiente favorável foi atribuído à natureza hidrofílica dos filmes. Esses polímeros injetáveis podem ter aplicações potenciais em ortopedia, variando de cola óssea à suportes para regeneração do osso [28].

Os poliésteres biodegradáveis de uretanos baseados em L-lático / ϵ - caprolactona são materiais particularmente muito promissores para produção de tecidos do menisco devido a sua boa vascularização e tamanho dos poros [40]. Esse tipo de poliuretano biodegradável integra-se ao tecido anfitrião, e ao se decompor degrada-se em produtos não citotóxicos. Esse biomaterial também exibe propriedades mecânicas comparáveis às dos cimentos acrílicos comerciais [26].

Atualmente na produção de cimentos altamente porosos à base de fosfato de cálcio, utiliza-se espumas de poliuretanos. Os cimentos de fosfato de cálcio porosos, (CPCs), têm

aplicações biomédicas importantes como preenchedores de defeitos ósseos e sistemas de liberação de drogas [41].

Várias formulações de cimentos ósseos à base de fosfato de cálcio foram desenvolvidas e algumas delas comercializadas. Estas formulações têm se mostrado muito eficientes na substituição óssea e em outras aplicações por serem um material bioinerte, biocompatível e biodegradável [42]. Algumas das suas propriedades, como, a injetabilidade ou a baixa-temperatura da reação, permitem a incorporação de drogas diferentes como: antibióticos, analgésicos, anticancerígenos, anti-inflamatórios, e também fatores de crescimento ósseo [12]. As realizações de testes para avaliar a liberação de drogas por esse tipo de cimento estão limitadas, em muitos casos, a avaliações “*in vitro*”. A liberação de drogas anti-inflamatórias já foi avaliada “*in vivo*”, e os resultados mostraram que esse sistema de liberação de drogas suportado em biocerâmicas é promissor para o controle de infecções [32].

Apesar da variedade de cimentos ósseos disponíveis no mercado mundial, como cimentos acrílicos, cimentos à base de poliuretanos e/ou fosfatos de cálcio, nenhum deles reúne todas as propriedades adequadas para um bom desempenho do produto em aplicações médicas na área ortopédica. Na década de 90 as resinas epoxídicas chamaram a atenção pelas suas propriedades adesivas e mecânicas para aplicações na medicina ortopédica.

Capítulo 2 - Utilizações de formulações epoxídicas na área Ortopédica

2.0. Introdução

O grande interesse nas resinas epoxídicas deve-se a grande variedade de reações químicas de cura que podem ser utilizadas e pelas diferentes propriedades que podem ser obtidas, sendo que, a química é única entre as resinas epoxídicas. Além disso, o conhecimento da química envolvida nesse processo permite ao usuário a cura da resina em uma extensa gama de temperaturas e o controle do grau de entrelaçamento ou reticulação [43].

As resinas epoxídicas possuem uma variedade de formas físicas que variam de líquidos de baixa viscosidade até sólidos [43,44], e constituem uma das mais importantes classes de polímeros termoestáveis [45,46].

Autores reconhecem que dependendo da estrutura química do agente de cura e das condições de cura, é possível obter sistemas epoxídicos com resistência química, propriedades mecânicas variando de alta dureza à flexibilidade extrema, grande força adesiva, boa resistência ao calor e alto isolamento elétrico [43].

As resinas com alto grau de estrutura de rede são menos rígidas e podem ser fortalecidas através de modificações com elastômeros, termoplásticos e partículas inorgânicas [45]. Entretanto, em muitas aplicações, sua baixa resistência à fratura é a sua maior deficiência [46].

Após a cura, os sistemas epoxídicos apresentam uma pequena contração, em média na ordem de 2%, sendo essa uma das suas grandes vantagens [45,46]. Este comportamento indica que para formar o sistema curado é necessário um baixo grau de rearranjo molecular. Quanto à estabilidade química, o epóxi é um dos termorrígidos mais inertes e possui boa estabilidade dimensional em serviço [46].

Como resultado dessa versatilidade, os produtos epoxídicos são utilizados como adesivos para uma infinidade de substratos, camadas protetoras para estruturas de aço e tanques, aplicações automotivas, corpo de solda e compostos para calefação [43,44].

Todas essas características destacam as resinas epoxídicas das outras resinas termorrígidas, e os esforços para melhorar o seu desempenho mecânico, reforçar e intensificar as propriedades adesivas dos produtos existentes através de modificadores de impacto

elastoméricos e/ou termoplásticos, adição de plastificantes, cargas inertes e outros aditivos, podem criar uma demanda por novas aplicações comerciais [47,48].

2.1. Utilizações de sistemas epoxídicos na área ortopédica

O metal não é considerado um material ideal para aplicações ortopédicas devido a problemas relacionados a liberação de íons metálicos e produtos provenientes de sua corrosão, e pelo fato das ligas metálicas utilizadas na fabricação de próteses terem um valor de módulo elástico 2 a 4 vezes mais elevados do que o módulo elástico do osso hospedeiro, que tem um valor médio de 20 GPa [41, 42, 49,].

A busca é crescente para o desenvolvimento de produtos satisfatórios para substituir os materiais metálicos biomédicos convencionais para aplicações ortopédicas em substituições ósseas [42].

A utilização de sistemas de materiais compostos que utilizam fibras biocompatíveis encontra atualmente aplicações como biomateriais. A Figura 5 mostra uma matriz fibrosa de carbono entrelaçada tridirecionalmente utilizada no reforço de matrizes poliméricas, como às de resinas epoxídicas [50]. Vários implantes e dispositivos ortopédicos à base de polímeros associados a compostos fibrosos, estão sendo atualmente desenvolvidos.

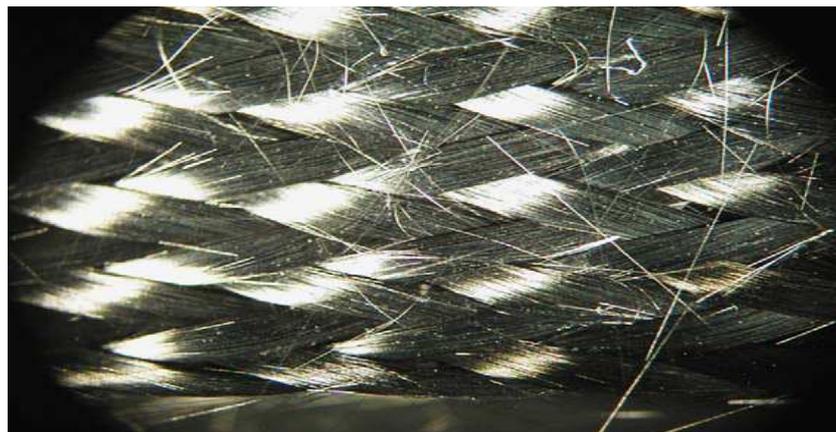


Figura 5 - Fibras de carbono entrelaçadas tridirecionalmente [50].

A interface entre as fibras de carbono e a matriz de resinas epoxídicas tem uma grande influência nas propriedades mecânicas do compósito. Uma interface forte aumenta a integridade estrutural dessa combinação. Porém, a característica lisa da superfície da fibra de carbono resulta em uma molhabilidade inferior e fraca adesão entre a fibra e a matriz [52].

As resinas epoxídicas reforçadas com fibras de carbono entrelaçadas tridirecionalmente encontram também aplicações como revestimento de próteses metálicas femorais, (Figura 6). Através da variação da espessura da camada utilizada no revestimento é possível controlar a dureza ou a rigidez da prótese, otimizando assim, as propriedades mecânicas, pois, estudos indicam que a diminuição da dureza da prótese promove um decréscimo na reabsorção óssea [13].



Figura 6 – Protótipo de uma prótese metálica, (liga de cobalto-cromo), revestida com fibras de carbono entrelaçadas tridirecionalmente [13].

Todos os materiais utilizados em próteses estão sujeitos simultaneamente à umidade e a cargas externas. A avaliação do compósito, resina epoxídica com reforço de fibras de carbono entrelaçadas tridirecionalmente (C_{3D}/ EP-DGEBA), em relação à combinação dos dois fatores acima citados, mostrou que a aplicação de tensões externas não muda o mecanismo de absorção de umidade, porém essas tensões aplicadas provocam efeitos aparentes na absorção de água, provocando a degradação mecânica e o envelhecimento hidrotérmico [53]. A absorção de umidade pode ser aumentada e diminuída por ações de forças de tração. O grau de deterioração mecânica provocada pela combinação das forças aplicadas depende do nível de conteúdo de água presente no material [53].

A estrutura da fibra de carbono utilizada no reforço da resina epoxídica influencia na absorção de água. Comparando-se fibras unidirecionais e tridirecionais, as combinações de C_{3D}/EP têm uma captação de água menor e isso implica em uma menor perda das propriedades mecânicas do composto. A absorção de água e a diminuição da força flexora são dependentes da força de adesão da interface fibra – matriz [50,54].

Os sistemas de fixadores externos, (Figura 7), são normalmente necessários para longos tratamentos de fraturas ósseas instáveis. O método de fixação óssea ou de fragmentos ósseos utilizando esses fixadores é utilizado para o controle de fraturas abertas com danos dos

tecidos moles proporcionando um apoio estável, ao mesmo tempo em que permitem o tratamento ativo dos tecidos moles lesados. Os problemas comumente relacionados ao uso de fixadores externos metálicos são: a baixa visibilidade do local da fratura do ponto de vista radiográfico devido à alta radiopacidade dos metais e o peso desses fixadores, principalmente os de aço [55].



Figura 7 - Fixador externo colocado após fratura exposta [51].

A avaliação da utilização de resina epoxídica DGEBA reforçada com fibras de carbono entrelaçadas tridirecionalmente na fabricação de fixadores externos para fraturas ósseas, mostrou que o material tem um bom desempenho quanto às propriedades mecânicas, e, devido ao fato da temperatura de transição vítrea do material ser em torno de 159°C é possível que ele seja esterilizado em autoclave, repetidamente, provocando apenas pequenas variações na sua estabilidade termomecânica [55].

O osso é considerado um compósito constituído principalmente de uma fase inorgânica, apatita, e uma fase orgânica. Estudos comparativos foram realizados entre dois tipos de compósitos combinados (hidroxiapatita e resina epoxídica DGEBA). Num dos compostos utilizou-se a resina reforçada com fibras de carbono e no outro a resina epoxídica sem reforço de hidroxiapatita. A adição da fibra de carbono 3D ao composto resina epóxi / HA, o tornou mais resistente às forças de impacto e forças flexoras em comparação com a resina epoxídica ou ao composto contendo resina / HA, porém, o aumento da taxa de fibra de carbono de 25% para 35% ou mais provoca uma diminuição na resistência ao impacto, mas, o módulo flexural e a força flexural são aumentados. O módulo flexural é um método utilizado para definir a rigidez de um material. Um módulo baixo indica que o material é flexível. O

módulo flexural é medido através da aplicação de uma carga em uma amostra do material apoiada em cada uma das extremidades. A força flexural é determinada no mesmo teste do módulo flexural. A força flexural é o valor obtido quando a amostra quebra. Esse teste combina as forças encontradas na compressão e na tração. [56]

Autores relatam que do ponto de vista biomecânico, a combinação HA/epóxi tem o valor do módulo elástico próximo ao do osso humano [57]. As propriedades mecânicas do osso são altamente anisotrópicas, por exemplo, o módulo elástico do osso humano cortical está na faixa de 7–30 GPa, com uma média de 20 GPa, dependendo das condições do teste. Valores próximos do módulo elástico do material implantado e do osso favorecem a absorção óssea e ameniza a pressão exercida que é causada frequentemente por implantes com alto módulo elástico [57]. O módulo elástico do composto HA/epóxi pode ser ajustado para valores entre 7 e 30 GPa alterando-se a quantidade de cerâmica, porém, a adição de hidroxiapatita provoca a diminuição do módulo flexural [57].

Os compósitos de resina epoxídica e sílica para aplicações biomédicas têm sido estudados na literatura. A adição de sílica à resina epoxídica Bisfenol A é vantajosa do ponto de vista térmico e do módulo flexural. O composto formado contendo entre 80% a 90% vol. de carga mineral apresenta um bom coeficiente térmico de expansão (CTE), abaixo de 10 ppm/°C, e módulo flexural aproximadamente de 20 GPa [58].

Existem muitas controvérsias na literatura quanto à biocompatibilidade de resinas epoxídicas baseadas em compostos termoplásticos utilizadas como material para fabricação de próteses femorais [13]. A avaliação “*in vitro*” da citotoxicidade dessas resinas utilizando culturas de células presente no sangue (osteoblastos e fibroblastos), mostrou que o material é ligeiramente citotóxico em relação aos fibroblastos, pois, inibiu a sua taxa de crescimento [59].

A toxicidade da resina epoxídica, segundo relato da literatura, pode ser diminuída com a adição de hidroxiapatita. Testes de citotoxicidade “*in vitro*”, utilizando fibroblastos L929, comprovaram a redução da toxicidade da resina, isto porque a hidroxiapatita é uma cerâmica bioativa que combinada com polímeros que geralmente são bioinertes proveem a bioatividade do composto, assim o implante pode formar ligações químicas com o tecido hospedeiro acelerando a fixação do implante ao osso [56].

Entretanto as aplicações biomédicas de resinas termoestáveis incluem outros tipos de próteses como componentes para marcapasso, cimentos para fixações de próteses e placas para fraturas. Das resinas termoestáveis utilizadas para aplicações biomédicas, inclui-se a

polisulfona, que é um polímero com excelente biocompatibilidade e foi um dos primeiros materiais testados para a composição de próteses de quadril [51].

Dentre as várias características das resinas epoxídicas, deve-se destacar que estas possuem uma excelente estabilidade dimensional, excepcional resistência a ambientes quimicamente agressivos, a sua cura ocorre à temperatura ambiente, e não há necessidade de aplicação de pressão para a formação e a moldagem. Este comportamento possibilita a moldagem de peças complexas em qualquer tamanho, a preços competitivos e em pequena e média escala de produção.

Uma das grandes vantagens de se trabalhar com sistemas epoxídicos é a possibilidade de obtenção de produtos com propriedades mecânicas variadas que podem ser modificadas para atender a aplicação a que se destina o produto preparado.

Capítulo 3 – A química do sistema epóxi /aminas Alifáticas

3.0. Introdução

A palavra epóxi vem do grego "EP" (sobre ou entre) e do inglês "OXI" (oxigênio), literalmente o termo significa oxigênio entre carbonos. Em um sentido geral, o termo refere-se a um grupo constituído por um átomo de oxigênio ligado a dois átomos de carbono. O Grupo epóxi mais simples é aquele formado por um anel composto por três elementos, o qual o termo epóxi ou 1,2-epóxi é aplicado [50]. O óxido de etileno, (Figura 8A), é um exemplo desse tipo. Os termos 1,3 e 1,4-epóxi são aplicados ao óxido de trimetileno, (Figura 8B), e tetrahydrofurano, (Figura 8C).

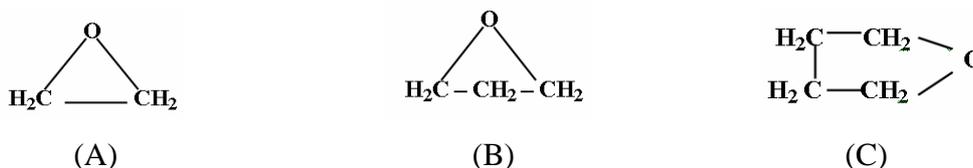


Figura 8 - Representações estruturais de compostos presentes no grupo epóxi. Óxido de etileno (A), óxido de trimetileno (B), tetrahydrofurano (C).

Os grupos epóxi podem ser designados óxidos, como no caso do óxido de etileno (epoxietano) ou óxido de ciclohexano (1,2-epóxi ou 1,2-óxido de ciclohexano). O termo oxirano é um nome comum para o óxido de etileno e também usado em referência ao grupo epóxi, muitos dos monoepóxi mais comuns possuem nomes triviais como epícloridrina, ácido glicídico e grupo glicidílico, (Figura 9) [50].

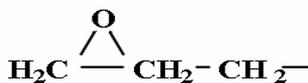


Figura 9 - Estrutura química do grupo glicidílico.

As resinas epoxídicas ou simplesmente resinas epóxi são polímeros caracterizados pela presença de grupos glicidílicos em sua molécula além de outros grupos funcionais. A reação do grupo glicidílico (também chamado de grupo epóxi) com um agente reticulante adequado (endurecedor) resulta em um composto de estrutura tridimensional

O agente de epoxidação mais comum é a epícloridrina (1-cloro-2, 3 - epóxi - propano). Esse é o agente universal portador do grupo epóxi que irá reagir com espécies químicas que tem hidrogênios ativos. O bisfenol A [2, 2 - bis (4'- hidroxifenil) propano] é a espécie química mais comum que contém esses hidrogênios ativos.

A primeira resina epóxi com características similares às das atuais foi sintetizada na Alemanha em 1933 a partir da reação de epícloridrina com o bisfenol A. A ilustração da reação é mostrada na Figura 10.

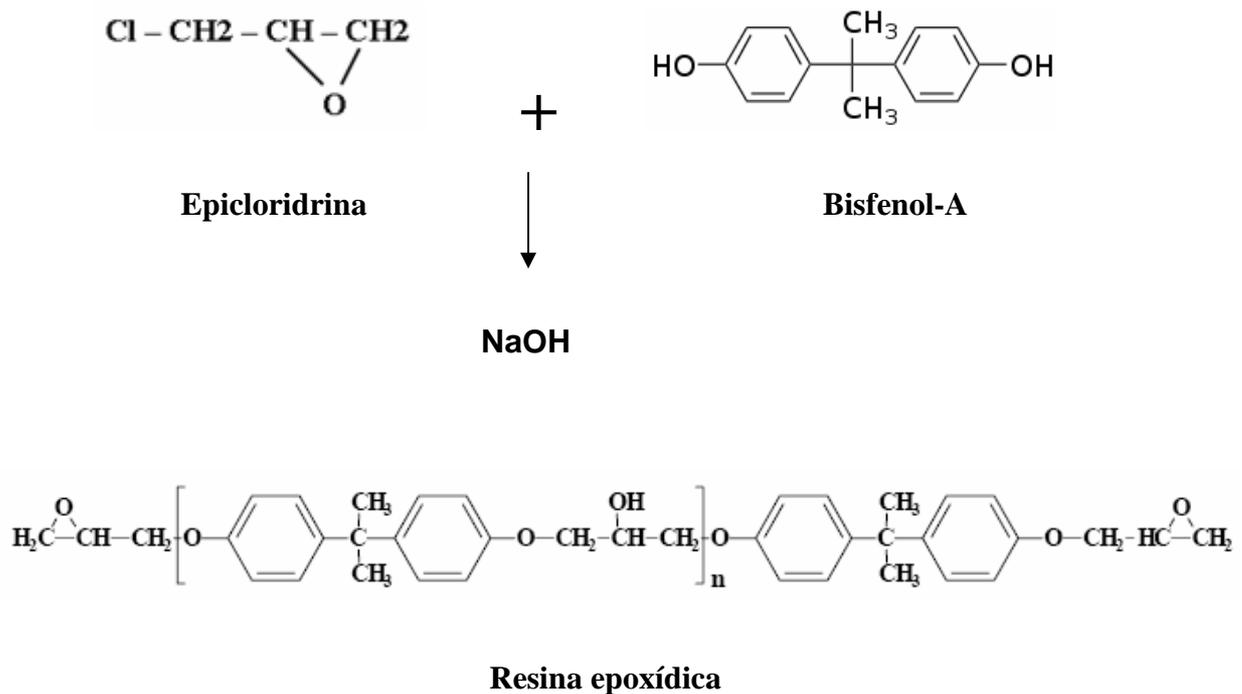


Figura 10 - Reação de síntese da resina epoxídica do tipo éter diglicídico do bisfenol-A (DGEBA).

O bisfenol A é sintetizado através da condensação da propanona com dois mols de fenol, (Figura 11). A reação é catalisada por ácido clorídrico (HCl). Normalmente se usa excesso de fenol para garantir a total condensação.



Figura 11 - Reação de síntese do bisfenol A.

No ano de 1933 foi sintetizado um éter glicídico de baixo peso molecular produzido pela reação de um mol de bisfenol A com 10 mols de epícloridrina reagidos em meio alcalino.

Em 1939 a síntese entre o bisfenol A e epícloridrina era pesquisada para a produção de resinas para revestimentos as quais não continham ligações éster sensíveis à soda cáustica.

Pesquisadores previram o uso da resina líquida para a fabricação de dentaduras e artigos moldados, mas, o produto mostrou-se muito mais versátil com possibilidades de aplicações em várias áreas industriais devido à diversidade de propriedades que podem apresentar em virtude da seleção adequada dos reagentes e processos de cura. Dentre as características mais interessantes estão: inércia química e biológica, boas propriedades adesivas e elétricas bem como estabilidade estrutural e baixa permeabilidade a solventes orgânicos e inorgânicos [61].

3.1. Estrutura química da resina epoxídica DGEBA

O composto representado abaixo, (Figura 12), é a resina epoxídica DGEBA antes de ser catalisada, podendo, dependendo do valor de n ser líquida ou sólida, sendo que a viscosidade aumenta conforme se aumenta o grau de polimerização (n). Com $n \leq 1$, teremos resinas líquidas, $n \geq 1$ as resinas serão semi-sólidas ou sólidas. As resinas epoxídicas podem ser classificadas através de seu peso equivalente em epóxi (EEW).

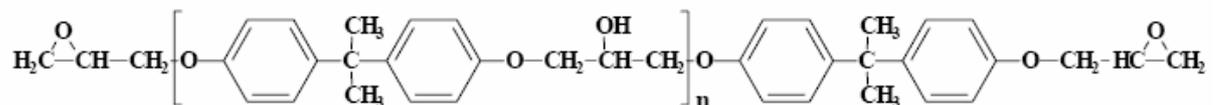


Figura 12 - Estrutura química da resina éter diglicídico do bisfenol-A (DGEBA).

O EEW é utilizado para o cálculo estequiométrico de proporção entre resina e endurecedor. O cálculo do EEW é simplesmente o peso molecular da resina dividido pelo número de anéis epoxídicos e é definido como o peso da resina em gramas que contém um equivalente grama de epóxi. Este parâmetro é utilizado no cálculo da proporção do agente de cura necessário e pode ser determinado por titulação com um grupo ácido (HX), (Figura 13), de acordo com a Equação (1):

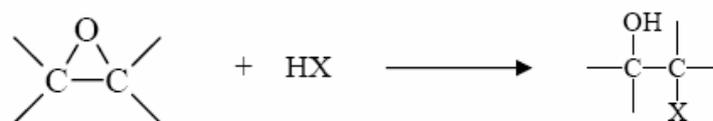


Figura 13 - Reação do grupo epóxi com o ácido HX.

O cálculo do EEW é realizado segundo a Equação (1).

$$EEW = MM / n^{\circ} \text{ anéis epoxídicos} \quad (1)$$

De acordo com o peso equivalente em epóxi as resinas são: líquidas - peso equivalente em epóxi de até 229 eqg⁻¹; semi-sólidas de 230 eqg⁻¹ a 459 eqg⁻¹ e sólidas acima de 460 eqg⁻¹, podendo chegar a até 5000 eqg⁻¹. A resina básica líquida tem peso em equivalente epoxídico de 190 eqg⁻¹.

3.2. Propriedades típicas e aplicações da resina epoxídica DGEBA

O DGEBA é uma resina epoxídica líquida largamente utilizada para várias finalidades devido a sua versatilidade e baixo custo [63]. Pura, é um material que apresenta excelente transparência e baixa viscosidade. O seu ponto de fusão está entre 40 à 44°C [44]. As informações contidas na Tabela 1 são essenciais no sentido de auxiliar na aplicação da resina.

Tabela 1 - Propriedades típicas da resina DGEBA.

Propriedades Típicas da resina DGEBA	
Peso equivalente em epóxi (EEW)	182 - 192 g.eq
Viscosidade à 25°C (cPs)	11000 – 14000
Conteúdo de água (ppm) Máx.	700
Densidade g/mL	1,05 – 1,15

As propriedades típicas das resinas epóxi líquidas, quando curadas, como: dureza, excelente adesão, resistência química, resistente à corrosão e baixa contração, permitem seu uso como matéria prima de alto desempenho para revestimentos em geral, pisos industriais, concreto reforçado, encapsulamentos elétricos, adesivos estruturais, laminados, filamento contínuo, ferramentaria, etc. [44,64]. As resinas epoxídicas tem sido também utilizadas em revestimentos internos de recipientes para alimentos e bebidas, porém em baixa concentração [44].

A alta adesão apresentada por estes polímeros é uma consequência da polaridade dos grupos éteres e hidroxilas alifáticas que, frequentemente, constituem a cadeia da resina e a

rede do sistema curado. A polaridade desses grupos serve para criar forças de interação entre a molécula epóxi e a superfície adjacente a ela, otimizando o seu uso como adesivo e revestimento. Como matriz em compósitos, a existência desses grupos polares minimiza problemas relativos à interface resina/reforço [65].

Atualmente, aproximadamente 90% da produção mundial de resinas epoxídicas estão baseadas na reação entre o 2,2-bis (4-hidroxifenil) propano (bisfenol A) com a epiclorigrina, resultando no produto DGEBA [66].

Diversos tipos de endurecedores ou agentes de cura encontram-se disponíveis para reticulação das resinas epóxi líquidas. Os mais comuns são as poliaminas alifáticas, poliamidas e variações das mesmas. Quando agentes de cura, tais como anidridos catalíticos são utilizados, é necessário temperaturas elevadas de cura e longos períodos de pós-cura para desenvolver as propriedades mecânicas desejadas [63].

Quando armazenada à temperatura ambiente em local seco e em temperaturas inferiores a 40°C na sua embalagem original fechada, esse produto retém suas propriedades por um período de pelo menos 24 meses. Essa resina, porém, tem a tendência a cristalizar-se à temperatura ambiente. A cristalização pode ser evidenciada ou por uma turbidez da resina ou até pela sua completa solidificação.

Esse fenômeno pode ser induzido por mudanças bruscas e contínuas de temperatura, pela incorporação de cargas inorgânicas e pela presença de umidade na resina. O aquecimento entre 50°C a 55°C restabelece a resina ao seu estado líquido.

A resina epóxi não apresenta riscos significativos à saúde [64], mas as resinas epoxídicas líquidas são irritantes para os olhos e a pele, e são capazes de causar sensibilização cutânea, fenômeno que tem sido muito discutido na literatura [63].

3.3. Processo de obtenção da resina epoxídica DGEBA

O composto 2,2-bis (4-(2,3-epoxipropil) fenil) propano, comumente conhecido como éter diglicídico do bisfenol A, DGEBA, é o produto da reação de um mol de 2,2-bis (4-hidroxifenil) propano (bisfenol A, BPA) com dois mols de epiclorigrina (1-cloro-2,3-epóxi propano). O DGEBA e seus oligômeros são os componentes presentes em maior quantidade nas resinas epoxídicas. Nas resinas líquidas eles representam 80% da sua composição [44].

As resinas epoxídicas são preparadas comercialmente por dois métodos principais que as diferem:

1- Obtidas pela epoxidação de compostos insaturados, denominadas “via perácido” (ácido peracético), (Figura 14).

2- Obtidas pela reação entre compostos com hidrogênios ativos (amina, fenol, álcool ou ácido) e epícloridrina em meio básico, denominadas “via epícloridrina”. (Figura 15) [49].

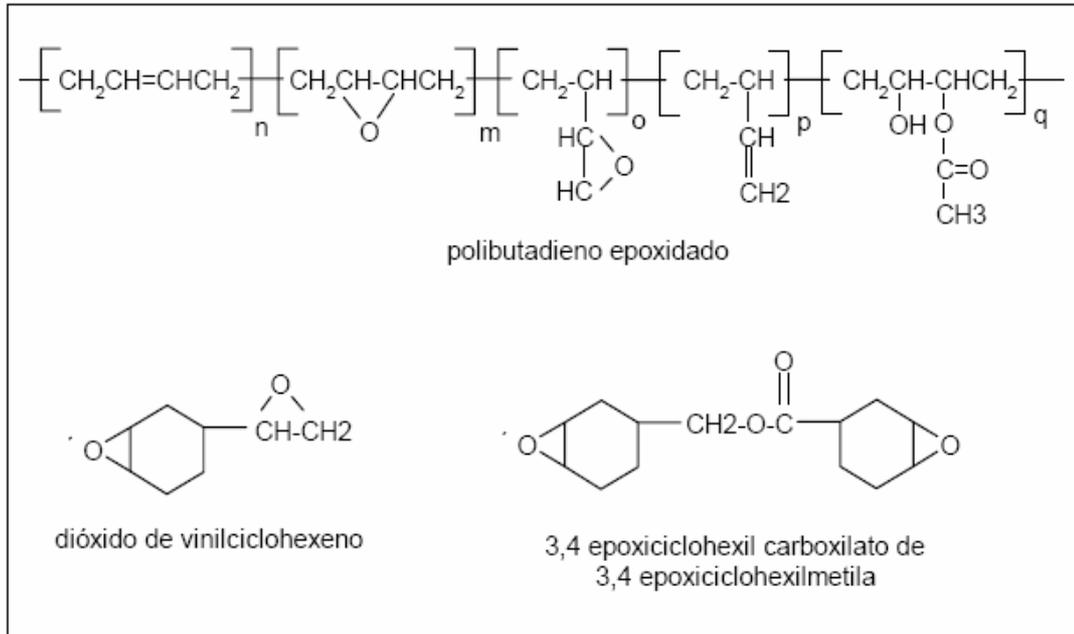


Figura 14 - Resinas obtidas via perácido

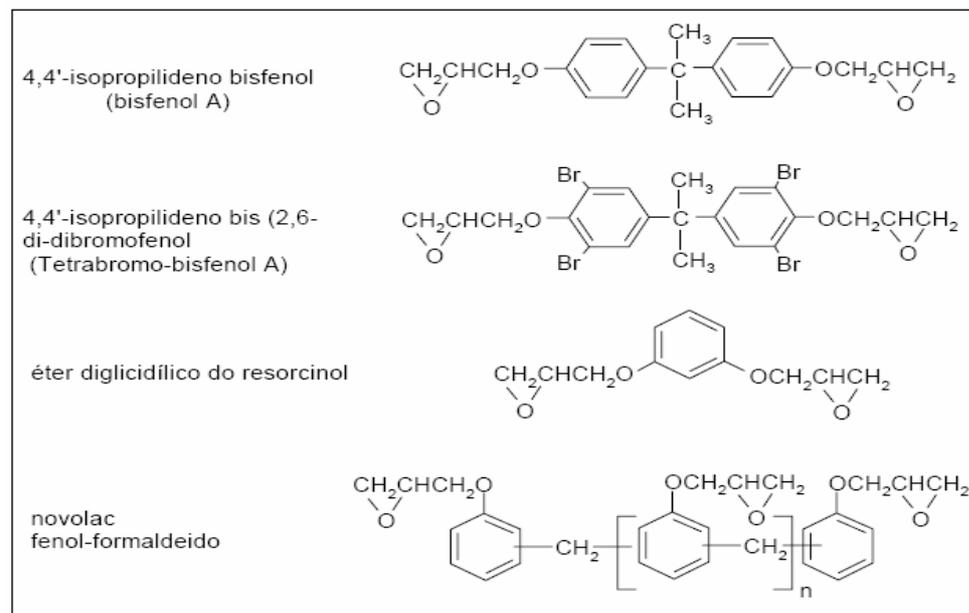


Figura 15 - Resinas obtidas via epícloridrina.

3.4. Toxicidade da resina DGEBA

O composto bisfenol A, (BPA), componente da resina DGEBA, é apontado como um disruptor endócrino. O termo disruptor endócrino define toda substância que é capaz de mimetizar um efeito hormonal, tanto agindo como hormônio ou impedindo a ação do mesmo. Estes mimetizadores hormonais fixam-se aos receptores estrogênicos estabelecendo maior ação estrogênica ou baixa ação estrogênica. O bisfenol A tem sido associado a anomalias na área reprodutiva em experimentos com animais. Entretanto, o potencial de atividade estrogênica do DGEBA em relação ao BPA é menor aproximadamente 100 vezes [44].

Em 1999, o Comitê Científico de Alimentos (Scientific Committee of Food - SFC), [55] em uma publicação sobre a segurança do uso de resina DGEBA, concluiu que não havia evidências de efeitos carcinogênicos associados ao contato de alimentos com a resina DGEBA.

Porém estudos “*in vivo*” realizados em ratos em gestação mostraram que a resina DGEBA tem efeitos hormonais similares ao Bisfenol A, pois, ocorreram alterações do funcionamento e da morfologia dos órgãos reprodutores desses animais diretamente expostos a essa resina [44].

Os endurecedores utilizados na cura da resina DGEBA podem influenciar positivamente ou negativamente nas respostas biológicas quando essa é utilizada em aplicações biomédicas.

3.5. Estrutura química e propriedades físico-químicas dos endurecedores amínicos: TETA, DETA e AEP

Existem numerosos compostos químicos polifuncionais que são usados como endurecedores ou agentes de cura para resinas epoxídicas. Eles são classificados segundo a natureza química do grupo funcional ativo. Entre eles encontram-se os do tipo amina, amida, ácido, anidrido, fenol, tiol ou mercaptans, etc.

Dentre as várias famílias de endurecedores, as mais conhecidas e estudadas são as do tipo amina. Essa família é constituída por numerosos compostos polifuncionais com diferentes estruturas químicas que contém em comum a presença de grupos amina do tipo primária, secundária e/ou terciária. Particularmente os sistemas que utilizam endurecedores do

tipo aminas alifáticas de cadeias lineares (TETA e DETA) e amina alifática de cadeia cíclica e linear (AEP), funcionam à temperatura ambiente sendo amplamente utilizados para formulações adesivas porque permitem um tempo de manipulação adequado que garante a correta aplicação do adesivo [68].

Em especial as aminas alifáticas de cadeia linear e as aminas alifáticas de cadeia cíclica e linear são em sua maioria líquidos de baixa viscosidade com odor característico e irritante, em geral são moléculas pequenas e muito voláteis que basicamente reagem através dos seus grupos de hidrogênio. Essas aminas produzem reticulação à temperatura ambiente, tem baixo custo e se misturam facilmente com a resina epoxídica.

A família das poliaminas alifáticas de cadeia linear tem como fórmula base:



As principais estruturas químicas das aminas utilizadas neste trabalho são apresentadas abaixo, Figuras 16 e 17 .

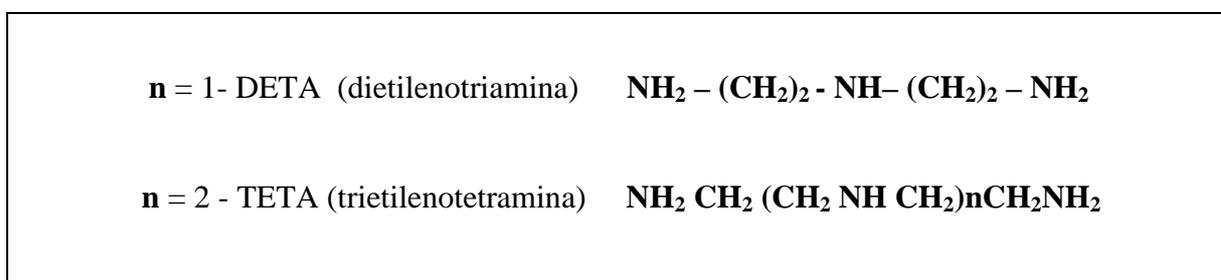


Figura 16 - Aminas alifáticas de cadeia linear.

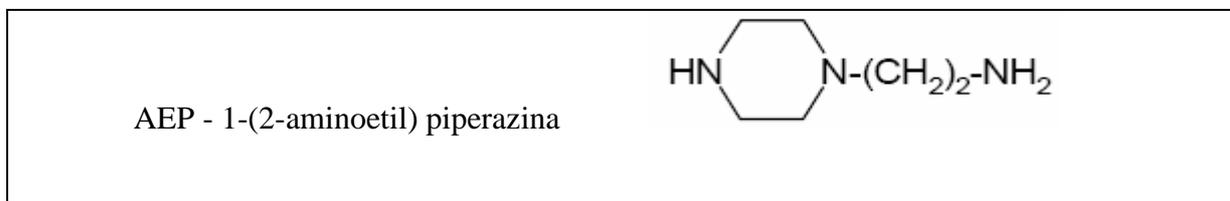


Figura 17 - Amina alifática de cadeia cíclica e linear.

A trietilenotetramina (TETA) é um agente de cura comercialmente utilizado em formulações adesivas do tipo bi-componente de uso geral e pode ser utilizado à temperatura ambiente. Este agente de cura é do tipo poliamina alifática de baixo peso molecular, estado

físico líquido, que promove a cura de resinas epoxídicas líquidas em minutos. Segundo a literatura este produto não corresponde a um único composto, e sim a uma mistura de quatro aminas alifáticas [68]. Em sua estrutura química, existem átomos de nitrogênios do tipo amina primária e secundária. Devido a sua baixa pressão de vapor, ele não oferece riscos de inalação ao ser manuseado [64]. As propriedades físico-químicas do TETA estão especificadas abaixo na Tabela 2.

Tabela 2 - Propriedades físico-químicas do endurecedor amínico TETA. [51]

Peso equivalente de hidrogênio na amina eqg ⁻¹ ≈ 24	(wt %) Mínimo 96
Densidade 25°C (g/ml) 0,98 ASTM D-4052	Conteúdo de água Máx (ppm) 5000 ASTM E-203
Tempo de armazenagem (meses) 24	Viscosidade 25°C (mPas) 19,5 – 22,5 ASTM D-445

A amina dietilenotriamina (DETA) é um líquido incolor com odor de amônia, miscível em água, usado como agente de cura de resinas epoxídicas. O seu teor de pureza é igual a 98,5%. Em sua estrutura química estão presentes aminas do tipo primária e secundária. Esse endurecedor amínico pode ser utilizado à temperatura ambiente. É um agente de cura do tipo amina alifática de baixo peso molecular. Não há riscos de inalação de vapores ao ser manuseado devido a sua baixa pressão de vapor. Suas propriedades físico-químicas estão especificadas na Tabela 3.

Tabela 3- Características físico-químicas do endurecedor amínico DETA.

Massa molar (g/mol) 103,17	Ponto de ebulição °C 207
Densidade relativa a 20 °C 0,954 g/mL	Pressão de vapor 0,57 mmHg a 26,7 °C
Reatividade química com a água Não reage	Ponto de fusão °C - 39

O 1- (2-aminoetil) piperazina (AEP) é um líquido inodoro e incolor com grau de pureza igual a 99%. Ele é utilizado como agente de cura de resinas epoxídicas e a resina curada com esse endurecedor alifático de cadeia cíclica e linear é aplicada na fabricação de produtos farmacêuticos, fibras sintéticas e outros produtos. As propriedades físico-químicas do AEP são apresentadas abaixo na Tabela 4.

Tabela 4 - Propriedades físico-químicas do endurecedor amínico AEP

Ponto de ebulição 93°C	Viscosidade a 20°C 300 mPas
Solubilidade em água Insolúvel	Densidade (g/mL) a 20°C 0,95

3.6. A química do sistema DGEBA/Aminas alifáticas

Como mencionado anteriormente, a reação de cura do sistema DGEBA/Aminas alifáticas se dá pela reação entre os hidrogênios amínicos ativos do endurecedor e o grupo epóxi da resina. Cada grupo amina primária (-NH₂) é capaz de reagir com dois grupos epóxi, pois apresenta dois átomos de hidrogênio ativos ligados ao nitrogênio. Por outro lado, a reatividade dos átomos de hidrogênio, nas formas de amina primária (-NH₂) e amina secundária (-NH), tendem a ser diferentes. Portanto, os átomos de hidrogênio dos grupos amina participam sucessivamente da reação de adição entre o grupo epóxi e o grupo amina [69,72]. Nesse caso, a reação química é caracterizada pela formação de uma rede tridimensional de resina pela poliadição de moléculas polifuncionais [71].

Outras reações também podem ocorrer por autocatálise ou pela adição de catalisadores, como por exemplo, as reações de esterificação que ocorrerem na presença de amina terciária estericamente desimpedida. Entretanto, os grupos hidroxila podem formar um complexo reversível com o grupo amina, agindo como retardador dos efeitos de autoconversão [71].

O modelo de reação mais comum para esta formulação é o proposto Horie, no qual se assume que a reação ocorre por dois mecanismos diferentes: o mecanismo não catalítico, e o

mecanismo auto-catalítico, segundo é ilustrado na Figura 18. Ambos os mecanismos estão baseados em sucessivas reações de adição dos átomos de hidrogênio do tipo amina primária e secundária aos grupos epoxídicos, via mecanismo não catalisado e via mecanismo catalisado pelos grupos hidroxila que podem estar presentes no início da reação ou são formados nas reações de adição. Dessas reações de adição, (Figura 18), originam-se estruturas contendo grupos do tipo amina secundária (Figura 18, Reação 1) e amina terciária (Figura 18, Reação 2), e um grupo hidroxila em cada reação de adição. Na Figura 18, as reações 1 e 2 correspondem ao mecanismo catalítico e não catalítico respectivamente.

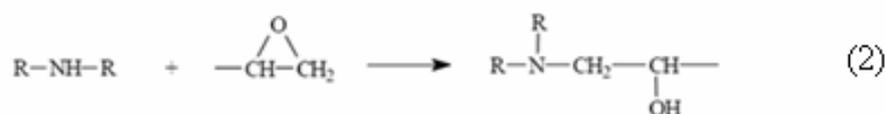
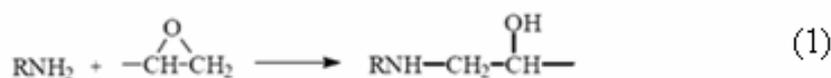


Figura 18 - Ilustração da reação epóxi/aminas alifáticas. Reação 1 e 2 (mecanismo catalítico e não catalítico respectivamente) .[57]

De um modo mais geral, o mecanismo de reação entre o grupo epóxi e o agrupamento amina ocorre pela abertura do anel epoxídico. O anel epoxídico (óxido etilênico) possui uma tensão de anel muito forte, o que o torna muito reativo. O oxigênio sendo mais eletronegativo que o carbono, atrai o par de elétrons da ligação. O carbono fica como uma carga parcial positiva e o oxigênio com uma carga parcial negativa. O nitrogênio, tendo um par de elétrons livres (nucleófilo) ataca o carbocátion do anel epoxídico, a ligação N-H se rompe, e o oxigênio atrai para si o hidrogênio ativo da amina, abrindo assim o anel epoxídico.

É fato conhecido que na reação entre epóxi e aminas ocorrem simultaneamente ambos os mecanismos. A reação também pode ser caracterizada pela gelificação e a vitrificação. A gelificação ocorre quando o grau de reticulação alcança um determinado valor, dependendo da funcionalidade, da estequiometria, e da reatividade entre os grupos funcionais; e a vitrificação ocorre quando a temperatura de cura é inferior à temperatura de transição vítrea (Tg) máxima do sistema totalmente curado. Assim durante a cura exotérmica, à medida que aumenta a temperatura de reticulação, aumenta a Tg até igualar-se à temperatura de cura e a partir deste instante a Tg aumenta lentamente já que o composto se encontra em estado vítreo [69,70].

A sequência de reações abaixo, apontadas na Figura 19, ilustra como é formado a estrutura de rede ou o reticulado proveniente da reação entre a resina epoxídica DGEBA e aminas alifáticas.

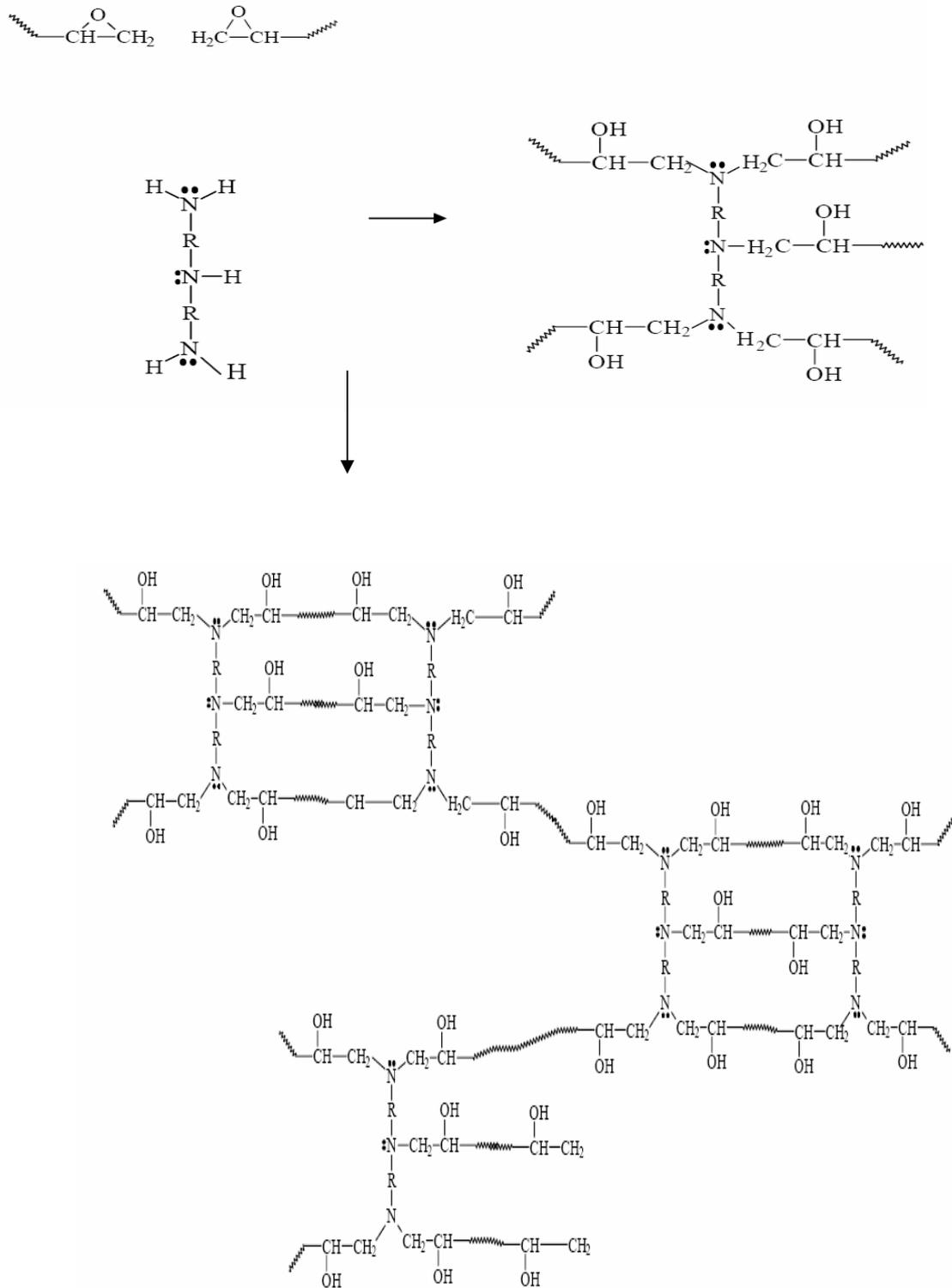


Figura 19 - Formação da estrutura de rede do sistema DGEBA/aminas alifáticas [57].

3.6.1. Cinética da reação do sistema epóxi-aminas alifáticas

Apontados na literatura como os dois mecanismos de reação do sistema epoxídico, o catalítico e o não catalítico são competitivos [49], e podem ser mais ou menos importantes na temperatura de cura [46]. A energia de ativação do sistema catalítico é menor do que do sistema não catalítico e devido à diferença entre esses valores, o processo não catalítico predomina a temperaturas elevadas. Entretanto, no processo catalítico predomina a baixa conversão [64].

Durante o processo de cura do sistema epoxídico, ocorre liberação de calor devido à formação de ligações cruzadas entre os grupos epóxi e os grupos amina, e espera-se que para um menor valor de energia de ativação haverá uma menor densidade de ligações cruzadas.

Esses mecanismos de reações são típicos de sistemas epoxídicos, (Figura 20), que utilizam agentes de cura do tipo aminas alifáticas nos quais geralmente são utilizadas proporções estequiométricas ou quase estequiométricas entre os grupos funcionais, o que garante que nessa condição não ocorra a reação de homopolimerização dos grupos epoxídicos, como ocorre quando se utiliza agentes de cura do tipo aminas aromáticas [64]

Para sistemas que utilizam aminas primárias como agente de cura, a cinética da reação é de 2ª ordem. Neste caso, a velocidade da reação não fica comprometida durante a gelificação como ocorre na polimerização por condensação. Entretanto, a velocidade da reação diminui quando o sistema alcança a vitrificação. Nesse ponto, a reação fica parada de maneira temporal se a temperatura de cura utilizada for inferior à temperatura máxima na qual o sistema vitrifica ($T_{g\infty}$) [70].

A expressão cinética, (Equação 2), que descreve a reação do sistema curado com aminas alifáticas em condições estequiométricas assume a forma [38,58]:

$$dx/dt = [k_a + k_c ([OH]_o / [e]_o + x)] (1-x^2) \quad (2)$$

Sendo:

X = Conversão da reação química.

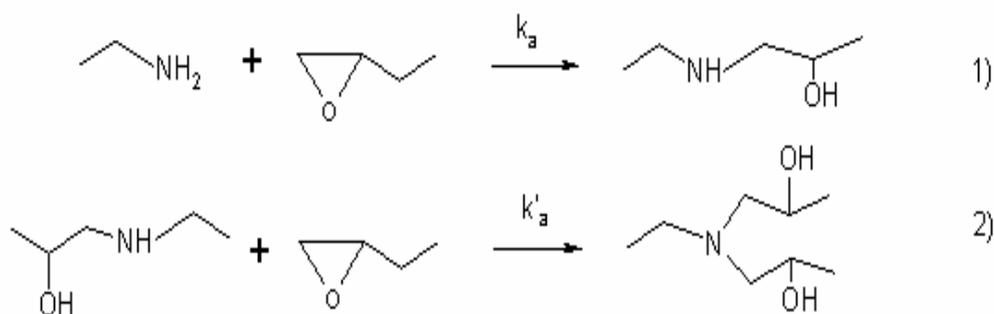
Ka = Constante de velocidade relativa do mecanismo não catalítico.

Kc = Constante de velocidade relativa do mecanismo catalítico.

[OH]_o = Concentração inicial de grupos hidroxila.

[e]_o = Concentração inicial de grupos epoxídicos.

Mecanismo simplificado da reação não catalisada



Mecanismo simplificado da reação catalisada

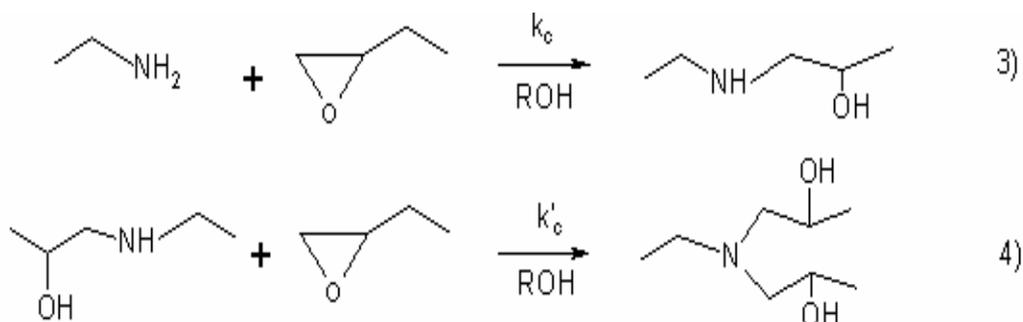


Figura 20 - Mecanismos da reação do sistema de resina epóxi do tipo éter diglicidílico do bisfenol-A (DGEBA) com amina alifática. k_a , k'_a , k_c e k'_c representam as constantes de velocidades relativas das reações de adição não-catalíticas e catalíticas que originam grupamentos amina do tipo secundário e terciário, respectivamente [70].

3.7. Sistema de cura do sistema epóxi-amina

Durante a cura da resina epóxi o sistema muda de líquido viscoso para sólido, um sistema com um alto grau de entrelaçamento. Pelo fato da reação ocorrer em uma fase condensada, a taxa de cura da reação é controlada pela atividade do grupo funcional e adicionalmente pela sua mobilidade [71,73].

Além disso, dois passos importantes acontecem durante a polimerização de acordo com a temperatura de cura: gelificação e/ou vitrificação. A gelificação é o líquido em transição para o estado maleável, o que acontece quando o sistema alcança um grau de conversão crítico, correspondente à formação de uma rede infinita (uma fração insolúvel de

resina existe no material e é associado a um aumento dramático de viscosidade). Como a reação está em desenvolvimento, a densidade da resina e sua dureza aumentam e conduzem a um produto final vítreo, ou seja, resina curada [71].

A formação da estrutura de rede envolve uma reação exotérmica entre os grupos reativos das moléculas que leva ao aumento do peso molar da resina. Um aumento do grau de polimerização corresponde fisicamente a uma densificação de rede da resina [71].

Durante o primeiro estágio da reação quando a taxa de deslocamento dos grupos é mais rápida do que a taxa de colisões moleculares, a reação é controlada pela reatividade desses grupos. Prosseguindo a reação há um aumento na ramificação da cadeia até que o sistema se torne gelatinoso. Mais adiante, a polimerização causa um aumento da estrutura de rede até que a mobilidade dos centros reativos seja progressivamente diminuído e a reação de difusão se torne controlada [73].

A vitrificação é a transição do estado maleável para vítreo. Ela acontece quando a T_g da resina aumenta até a temperatura de cura. Este fenômeno é particularmente importante porque a T_g é uma função do grau de conversão [71].

Enquanto o grau de entrelaçamento de rede progride, a T_g do epóxi aumenta até que se iguale à T_c (temperatura de cura) e então atinge o ponto do sistema vítreo. Nessas condições, a cinética e a extensão da conversão são reduzidas [73].

A entalpia, a capacidade calórica (C_p) e o volume do sistema são reduzidos continuamente com o tempo durante a cura até o processo de vitrificação [73].

Capítulo 4 – Objetivos

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver formulações epoxídicas DGEBA com aminas alifáticas (TETA, DETA e AEP) para serem usados como adesivos na área ortopédica e realizar as suas caracterizações físico-químicas, biológicas e mecânica.

Os objetivos específicos desta dissertação foram:

- 1) Determinar a razão estequiométrica e não estequiométrica dos sistemas adesivos sem excesso de aminas a saber: DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP.
- 2) Determinar o equivalente epoxídico e amínico dos sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP curado e pós-cura utilizando a calorimetria exploratória diferencial.
- 3) Determinar as propriedades mecânicas das formulações DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP, através de ensaio de microdureza Vickers.
- 4) Estudar as propriedades de biocompatibilidade das formulações DGEBA/TETA, DGEBA/AEP e DGEBA/DETA a saber: adsorção protéica, adesão e ativação plaquetária, formação de trombos e citotoxicidade.

Capítulo 5 – Materiais e métodos

5.0. Introdução

As caracterizações químicas dos sistemas resina/amina (DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP) consistem em análises quantitativas utilizando-se a calorimetria exploratória diferencial (DSC) e métodos de titulação química, com a finalidade de se obter a estequiometria de cada um dos sistemas.

O equivalente epoxídico da resina DGEBA foi determinado pelo método volumétrico de titulação química, utilizando ácido bromídrico gerado “in situ”, segundo as especificações da norma ASTM [93].

Os equivalentes de amina dos endurecedores TETA, DETA e AEP foram determinados pelo método de titulação química utilizando a técnica potenciométrica com base na diminuição do pH em meio aquoso de uma solução do endurecedor pelas adições de diferentes volumes de solução de ácido clorídrico padronizada.

As razões estequiométricas dos sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP, foram confirmadas através do método calorimétrico (DSC). A calorimetria exploratória diferencial foi também empregada para avaliar o grau de conversão do sistema resina/amina, a fim de determinar a composição química desse sistema para que não haja excesso de grupos amínicos.

Após as realizações dos testes quantitativos, foi feita a avaliação da biocompatibilidade de cada um dos sistemas resina/aminas alifáticas. As caracterizações bioquímicas consistiram na avaliação dos sistemas resina/aminas, testados “*in vitro*”, em relação à citotoxicidade, adesão plaquetária, adsorção protéica e formação de trombos.

Para a verificação de adesão plaquetária, as superfícies dos materiais foram analisadas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV).

As amostras dos três sistemas foram também avaliadas quanto à microdureza (dureza Vickers), em condições de cura e pós cura, utilizando-se composições estequiométricas e não estequiométricas.

5.1. Preparo das formulações DGEBA /Aminas alifáticas (DETA e TETA e AEP)

O excelente desempenho e propriedades dos sistemas epóxi são obtidos pela transformação da resina epóxi em sistemas tridimensionais insolúveis e infusíveis através da formação de ligações cruzadas durante a cura. Para cada tipo de agente de cura utilizado têm-se propriedades químicas e físicas diferentes para o produto obtido. A seleção do sistema resina/endurecedor depende geralmente das características de uma determinada necessidade prática. Esta escolha é influenciada pelos métodos de processamento, condições de cura e propriedades físicas, químicas e térmicas desejadas. Deste modo devem-se selecionar o sistema epoxídico, com suas propriedades particulares, tais como: tempo de manuseio, tempo de gelificação e vitrificação, assim como o referente às propriedades desejadas no produto final, T_g, resistência mecânica, dureza, adesão, dentre outras.

A escolha dos endurecedores amínicos utilizados nesse trabalho: TETA, DETA e AEP, se deve às características físicas e químicas dos produtos finais como a baixa viscosidade e a cura à temperatura ambiente; propriedades importantes para as aplicações as quais os sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP se destinam.

5.1.1. Cálculo do eqg⁻¹ de hidrogênio ativo das aminas

A cura ou reação de polimerização da resina epoxídica ocorre através da reação entre os hidrogênios da amina (hidrogênios ativos) e o carbono do anel epoxídico. Essa reação ocasiona a abertura do anel. A estequiometria dessa reação é de 1 eqg⁻¹ de hidrogênio ativo para 1 eqg⁻¹ de epóxi.

O cálculo do eqg⁻¹ de hidrogênio ativo das aminas foi efetuado após a determinação do equivalente de nitrogênio amina (eq.amina) dos endurecedores. O equivalente de nitrogênio amina foi realizado pelo método de titulação potenciométrica, segundo metodologia descrita na literatura [68].

O método de titulação das aminas alifáticas trietilenotretamina (TETA 60%) comercializado pela Dow Química do Brasil, dietilenotriamina (DETA 98,5%) e da amina cicloalifática 2-aminoetil (piperazina) (AEP 99%) comercializados pela ACROS, consiste na observação da variação do pH de uma solução de amina após adição de solução de HCl

(0,1732 mol/L) devidamente padronizada. A titulação potenciométrica das aminas foi realizada utilizando-se um eletrodo de calomelano (modelo 2A09E), calibrado utilizando-se uma solução aquosa de KCl (0,1 mol/L).

A concentração g/eq de nitrogênio dos endurecedores foi determinada utilizando-se 100 mg de cada uma das aminas, diluídas separadamente em 50 mL de água destilada. Os três endurecedores amínicos foram titulados em triplicata com solução aquosa padrão de HCl (0,1732 mol/L).

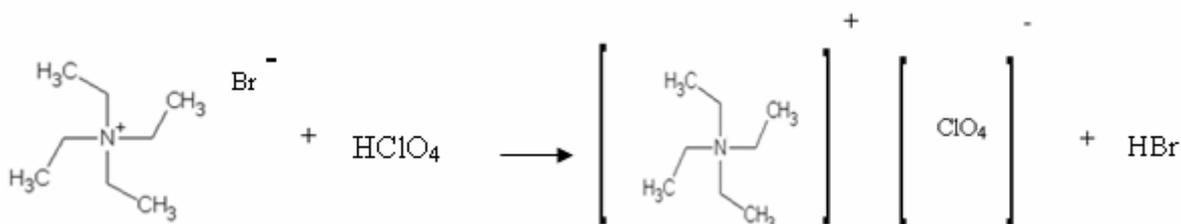
5.2. Titulação da resina epoxídica éter diglicidílico do bisfenol A (DGEBA)

O conteúdo de grupos epoxídicos nas resinas é uma importante variável na determinação de sua reatividade. Para determiná-lo, um volume de 500 mL de resina epoxídica do tipo éter diglicidílico do bisfenol A (DGEBA), produto DER 331, comercializado pela Dow Química do Brasil S.A, foi previamente desidratada a vácuo, utilizando-se uma bomba de auto vácuo, modelo E2M2-Edwards, sendo exercida uma pressão de 3 kbar. A desidratação ocorreu à temperatura de 80 °C sob agitação constante até a completa deaeração, (Figura 21).

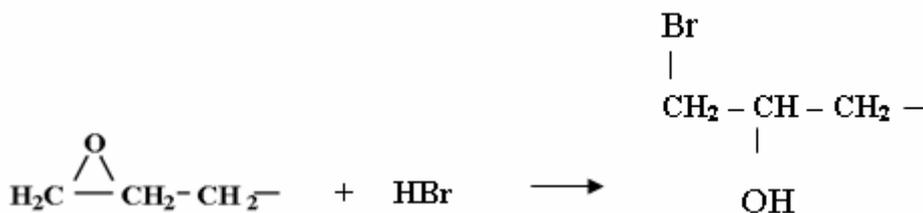


Figura 21 - Sistema montado para a desidratação da resina DGEBA sob vácuo.

Em um béquer, uma quantidade pré-fixada ($\pm 0,4000\text{g}$) de resina previamente desidratada sob vácuo, foi pesada em uma balança analítica de precisão ($\pm 0,0001$). A essa amostra foram adicionados 10 mL de brometo de tetraetilamônio, 0,145 N. Para diminuir a viscosidade da resina foi adicionado aproximadamente 10 a 15 mL de diclorometano (Merck, 99%). À mistura foram adicionados 6 gotas de cristal de violeta (indicador ácido-base). O equivalente epoxídico foi determinado titulando-se a resina com ácido perclórico (0,171 N) padronizado segundo especificações da norma ASTM [62]. A reação do ácido perclórico com o brometo de tetraetilamônio (TEABr), presente na mistura, produz ácido bromídrico “*in situ*” (Figura 22 A). O ácido bromídrico gerado “*in situ*” reage estequiometricamente com o grupo epoxídico, (Figura 22 B).



(A)



(B)

Figura 22 - Ilustrações das reações que ocorrem durante o processo de titulação da resina DGEBA. Figura (A) – Reação entre o brometo de tetraetilamônio e o ácido perclórico gerando ácido bromídrico “*in situ*”. Figura (B) – Reação entre o anel epoxídico e o ácido bromídrico.

5.3. Caracterização dos sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP através da técnica DSC

A metodologia consiste em determinar as mudanças na entalpia de reação (ΔH) e a temperatura de transição vítrea (T_g) como consequência da formação de diferentes estruturas de rede [64]. O ΔH e a T_g são parâmetros de aproximação que são utilizados para monitorar o

processo de cura, podendo assim avaliar o grau de conversão máxima do sistema resina/amina e determinar da razão estequiométrica entre eles.

5.3.1. Análise por DSC – modo dinâmico

A realização das análises por DSC no modo dinâmico tem como objetivo a confirmação da razão estequiométrica dos três sistemas epoxídicos estudados, determinada primeiramente pela técnica de titulação potenciométrica.

Nessas análises serão determinadas a entalpia de reação (ΔH) e a temperatura de transição vítrea (T_g).

As análises por DSC foram realizadas em um equipamento Shimadzu, modelo DSC-50, (Figura 23), sob atmosfera de nitrogênio (20 mL /min), com taxa de aquecimento de 10°C/min e um intervalo de temperatura de - 40°C à 250°C, sendo realizados dois ciclos térmicos no modo dinâmico para cada formulação. No primeiro ciclo térmico obteve-se o ΔH (variação de calor da reação) em $J.g^{-1}$, após esse ciclo, o equipamento foi resfriado até - 40°C e o segundo ciclo térmico iniciado, do qual se obteve a T_g (transição vítrea) do sistema.



Figura 23 - Equipamento Shimadzu, modelo DSC-50.

As amostras DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP foram preparadas momentos antes das análises, nas razões estequiométricas 14, 11 e 23 phr, respectivamente. Essas concentrações foram determinadas pelo método de titulação potenciométrica. A massa das amostras foi fixada em aproximadamente 8 mg, e essas colocadas em painéis de alumínio hermeticamente fechadas.

5.3.2. Análises por DSC – Determinação do grau de conversão

As análises térmicas por DSC no modo dinâmico foram realizadas nas amostras curadas com o objetivo de determinar o grau de conversão máxima dos três sistemas epoxídicos estudados. Através dessa análise será averiguada a presença de resíduos de agrupamentos amínicos. Para aplicações desses sistemas adesivos como biomateriais, o excesso de aminas é prejudicial devido a sua toxicidade.

Amostras ($m \cong 8$ mg) de cada um dos sistemas: DGEBA/TETA, AEP e DETA, foram preparadas nas respectivas razões estequiométricas, 14, 23 e 11 phr e colocadas separadamente em três tubos de ensaio dentro de um termostato por 24 horas sob temperatura de 37°C. Após esse tempo foram realizadas as análises por DSC.

As análises térmicas foram realizadas em um equipamento Shimadzu, modelo DSC-50, sob atmosfera de nitrogênio (20 mL /min), com taxa de aquecimento de 10°C/min e um intervalo de temperatura de - 40°C à 250°C, sendo realizados dois ciclos térmicos no modo dinâmico para cada formulação. No primeiro ciclo térmico obteve-se o ΔH (variação de calor da reação), em seguida ao término desse ciclo, o equipamento foi resfriado novamente a - 40°C e iniciado o segundo ciclo térmico seguindo a mesma programação. Desse 2º ciclo obteve-se a T_g (transição vítrea).

5.4. Preparo das formulações epoxídicas

Após a determinação da razão não estequiométrica, ou seja, as quantidades apropriadas dos dois componentes dos sistemas adesivos sem excesso de aminas, DGEBA-TETA (12,7phr), DGEBA-AEP (21phr) e DGEBA-DETA (10phr), amostras dos três sistemas foram homogeneizadas à temperatura ambiente (25°C) e transferidas para seringas descartáveis que foram utilizadas como moldes, (Figura 24).



Figura 24 - Preparo dos cilindros dos sistemas epoxídicos DGEBA/TETA, DGEBA/AEP e DGEBA/DETA, utilizando-se seringas descartáveis como molde.

As quantidades especificadas abaixo são as mesmas para cada um dos sistemas adesivos DGEBA-TETA, DGEBA-AEP e DGEBA-DETA.

- 3 cilindros na razão estequiométrica;
- 3 cilindros na razão não estequiométrica.



Figura 25 - Imagem de um cilindro do sistema epoxídico curado a 37°C por 24 horas.

A cura das misturas poliméricas ocorreu a uma temperatura de 37°C, por 24 horas, e a pós-cura a 130 ° C pelo mesmo período. Após o processo de cura e pós-cura, os cilindros foram cortados no torno mecânico, (Figura 26), no formato de discos de 1,5 cm x 1,5 cm, (Figura 27).



Figura 26 - Torno mecânico marca Sanches Blanes S.A , modelo T.M.280. Rotação do torno 1500 r.p.m., utilizado para os cortes dos cilindros dos sistemas DGEBA-TETA, DGEBA-DETA e DGEBA-AEP no formato de discos.

Os discos foram lixados manualmente utilizando-se lixas n°. 630, 430, 300 e 200, e depois polidos em uma politriz DP, marca STRUERS, (Figura 27), a 250 rpm.

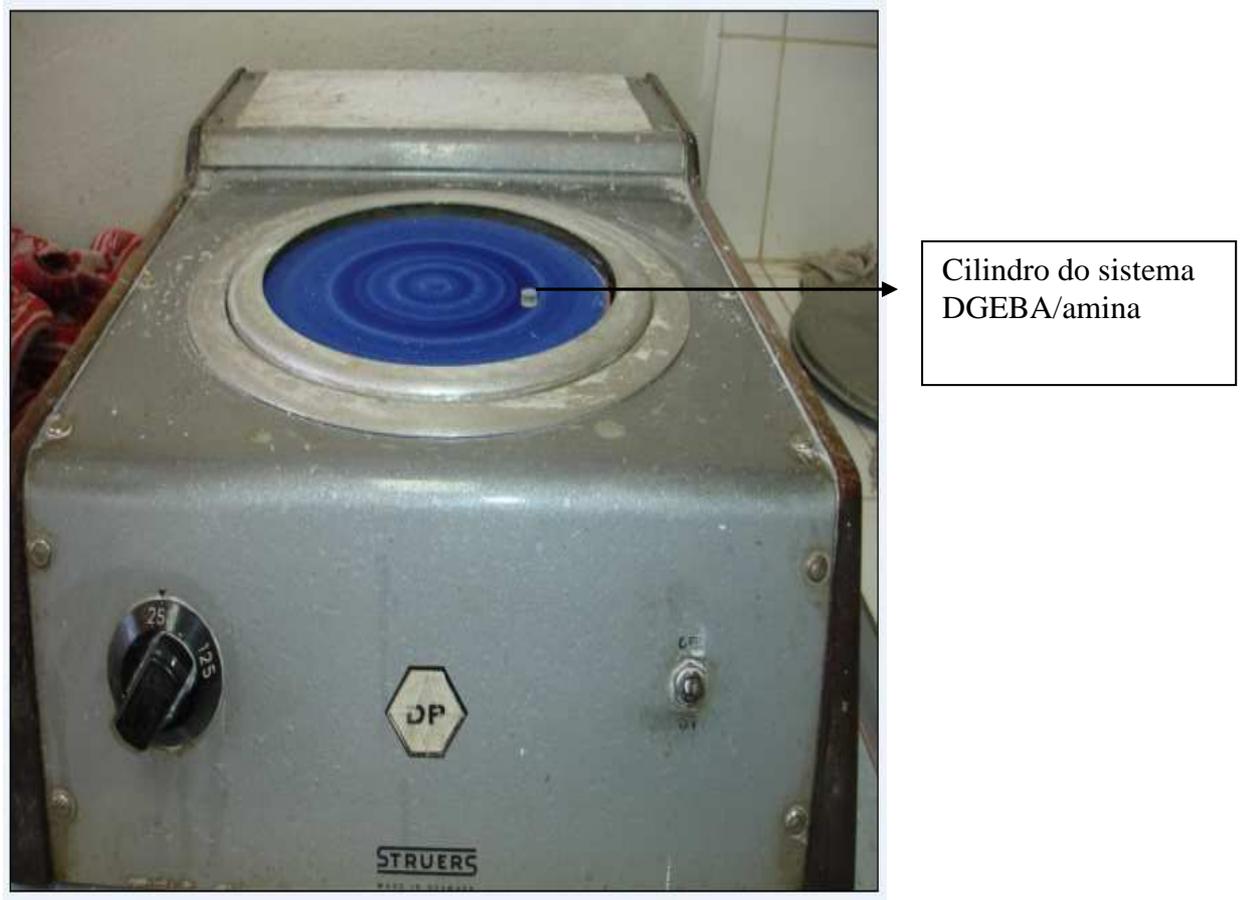


Figura 27 - Politriz DP, marca STRUERS, utilizada para polimento dos cilindros DGEBA-TETA, DGEBA-AEP e DGEBA- DETA.



Figura 28 - Disco cortado no torno mecânico marca Sanches Blanes S.A , modelo T.M.280 e lixado na Politriz DP, marca STRUERS.

Após o processo de polimento dos discos, as amostras dos três sistemas epoxídicos preparadas nas razões não estequiométricas e curadas por 24 horas a 37°C foram lavadas e depois esterilizadas por radiação gama, dose de 25 kGy, para os ensaios biológicos.

5.5. Ensaio mecânico via dureza Vickers

Os testes de microdureza Vickers foram realizados utilizando como corpos de prova, discos com as dimensões de 15 mm x 15 mm dos três sistemas DGEBA-TETA, DGEBA-DETA e DGEBA-AEP, preparados nas razões estequiométricas e não estequiométricas curados e pós curados. Os testes foram realizados em um equipamento HMV 2000, SHIMADZU equipado com um indentador para teste de dureza Vickers, (Figura 29), utilizando-se carga de 100g. A carga foi aplicada aos discos por aproximadamente 15 segundos. Um total de duas indentações foram realizadas em cada corpo de prova. Cada impressão foi observada ao microscópio óptico HMV 2000, Shimadzu, e o valor de dureza do material foi determinado.



Figura 29 - Equipamento HMV 2000, Shimadzu – Laboratório de ensaios mecânicos da Mahle.

5.6. Estudo “*in vitro*” das propriedades biocompatíveis dos sistemas DGEBA-TETA, DGEBA-DETA e DGEBA-AEP

5.6.1. Citotoxicidade

Ensaio de toxicidade celular sempre foram entre os métodos de bioensaios os primeiros a serem realizados para prever a toxicidade de substâncias a vários tecidos. A sua principal vantagem em relação aos ensaios tradicionais de toxicidade “*in vivo*” em camundongos, é uma resposta mais simples, sensível, econômica e homogênea.

O ensaio fundamenta-se no procedimento originalmente desenvolvido por Borefreund e Puerner (1984) para a triagem de agentes citotóxicos, em geral, sobre uma monocamada de células. O método é baseado na avaliação quantitativa de células viáveis após a exposição ao agente tóxico, pela incubação com o corante supravital do composto tetrazólio MTS e um agente acoplador de elétrons PMS. O MTS é biorreduzido pelas células a um produto formazan que é solúvel no meio de cultura e então é efetuada uma análise colorimétrica da coloração incorporada, (Figura 30). A quantidade de MTS, o marcador da viabilidade celular, incorporada pela população de células, é diretamente proporcional ao número de células viáveis na cultura. A amostra testada que induz a toxicidade celular é medida em um intervalo de concentrações do extrato do biomaterial, e a concentração que produzir uma redução de 50% na absorção de MTS é tomado como o parâmetro de citotoxicidade.

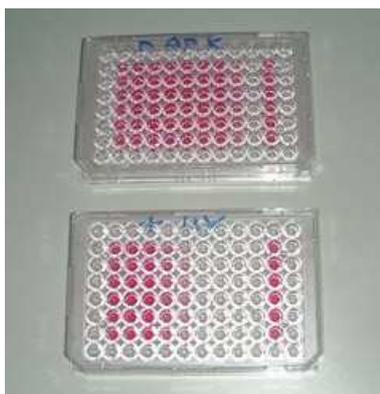


Figura 30 - Placas de Elisa ilustrando o ensaio de citotoxicidade. A intensidade da cor é proporcional ao número de células viáveis.

O ensaio de citotoxicidade de biomateriais foi efetuado conforme a ISO 10.993-part 5 que recomenda uma linhagem celular estabelecida de mamíferos que é obtida de um repositório reconhecido como: American Type Culture Collection (ATCC). Foi utilizado nesse ensaio uma cultura de células de ovário de Hamster Chinês (ATCC CHO K1).

Neste trabalho, uma cultura de CHO em monocamada foi separada por tripsinização. A suspensão celular foi centrifugada e o precipitado ressuspense em meio RPMI 1640, contendo 10% de soro fetal bovino (SFB), após lavagem com PBS estéril. Uma microplaca de cultura celular de 96 poços foi preparada a partir da adição de diluições crescentes do extrato do biomaterial (50µL/poço, 4 poços/por diluição), em seguida, a placa foi equilibrada a 37° C numa atmosfera úmida de 5% de CO₂, enquanto se efetuou a tripsinização das células para o ensaio. Em seguida, pipetou-se 50µL da suspensão celular (~3000 células) nos poços. O volume total em cada poço deve ser de 100µL. Colunas controle de 4 poços foram preparadas com o meio sem a colocação das células (branco) e meio, ao invés de extrato, com as células (controle negativo=100%). Posteriormente, a microplaca foi incubada sob atmosfera úmida de CO₂. Após 72 h, 20 µL de uma mistura (20:1) de MTS a 0,2% e PMS a 0,09% em PBS foi adicionada aos poços testes e deixadas incubando por 2 horas. A incorporação do corante foi medido por meio de um leitor de microplacas à 490 nm contra o branco. A citotoxicidade (IC_{50%}) foi estimada pela curva de interpolação, como a concentração do extrato do biomaterial resultante da inibição de 50% da incorporação do MTS, correlacionando o percentual médio de células viáveis em relação à concentração dos extratos a partir do gráfico[98,99].

5.6.2. Adesão de plaquetas do sangue nas superfícies sintéticas

Sangue humano foi coletado em solução de ACD (citrato de sódio 3,8%) e o plasma rico em plaquetas (PRP) foi preparado após centrifugação a 700 g por 5 minutos. Após a adição de prostaglandina sódica (PGI₂, 50µg. mL⁻¹) e nova centrifugação do PRP a 900 g por 10 minutos, as plaquetas foram ressuspensas em solução de ACD pH 6,0 (6,86 mM citrato de sódio, 130 mM NaCl, 4 mM KCl e 5,5 mM de glicose). As plaquetas foram peletizadas novamente e em seguida ressuspensas em solução de HEPES-Tyrode (136 mM de NaCl, 2,7mM de KCl, 0,42 mM de NaH₂PO₄, 12 mM NaHCO₃, 5,5 mM de glicose, 2% de BSA e 5 mM de ácido 4,2 hidroxietil-1-piperazina etano sulfônico). A concentração de plaquetas foi ajustada para aproximadamente 2.10⁹ células. mL⁻¹ e em seguida foram marcadas com ⁵¹Cr pela adição de Na₂ ⁵¹CrO₄ (µCi. mL⁻¹) e incubação por 40 minutos à 20°C. As plaquetas marcadas com ⁵¹Cr foram lavadas duas vezes com tampão de HEPES-Tyrode, centrifugadas e

ressuspensas novamente no tampão. Após ajuste para uma concentração de 2.10^8 células x mL^{-1} , a solução de PRP foi utilizada no ensaio de adesão plaquetária.

Os discos do material DGEBA/endurecedores foram colocados separadamente em tubos de ensaio de adesão plaquetária e o teste foi efetuado após o contato das superfícies dos discos com plaquetas marcadas com ^{51}Cr .

Para o ensaio de adesão plaquetária, os tubos foram inicialmente preenchidos ($300\mu\text{L}$) com tampão de HEPES-Tyrode por 1 hora à 37°C . Após a remoção do tampão, o PRP, contendo as plaquetas marcadas com ^{51}Cr , foi adicionado através de uma bomba peristáltica e mantido em condições de fluxo por até 4 horas. Os poços da placa de Elisa foram lavados em seguida com a solução tampão de HEPES-Tyrode contendo solução MgCl_2 , 1mM . A radioatividade das amostras foi medida em um contador gama. Os resultados foram expressos como a média de 5 experimentos.

Para a observação do processo de adesão e agregação plaquetária, as amostras de DGEBA-TETA, DGEBA-DETA e DGEBA-AEP foram colocadas em contato com sangue humano, recentemente colhido, por 3 minutos a 37°C . Após desidratação com etanol a 5%, 20%, 50% e 95%, os elementos biológicos aderidos foram fixados com glutaraldeído a 1% e em seguida os discos foram secos em atmosfera de CO_2 no ponto crítico. Após revestir as superfícies das amostras com ouro, esse material foi observado ao microscópio eletrônico de varredura (MEV, Phillips XL30), (Figura 31).

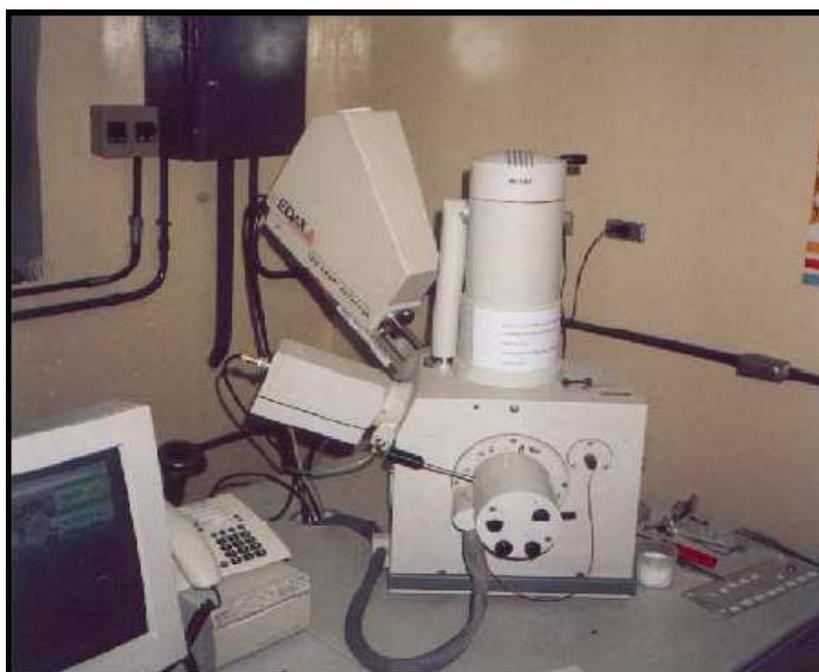


Figura 31 - Microscópio eletrônico de varredura Philips XL 30 (IPEN-USP) utilizado para as análises de adesão plaquetária.

5.6.3. Adsorção protéica

As proteínas albumina de soro humano (HSA) e fibrinogênio (HFB) foram marcadas com ^{125}I , segundo o método de Hunter-Grenwood modificado [95, 96, 97]. Empregou-se 0,5-0,7 mCi (18,5-25,9 MBq) de radioisótopo, 20 μg de proteína em 30 μL de tampão fosfato (PBS) 0,05 M. A purificação da proteína marcada foi feita por filtração em gel Sephadex G-100 para o HSA e G 250 para o HFB. Para um cálculo preciso dos coeficientes de distribuição dos picos radioativos (K_D). O coeficiente de distribuição permitiu a comprovação da pureza e identidade do marcado.

O estudo da adsorção protéica ocorreu após o contato das superfícies sintéticas com as proteínas marcadas radioisotopicamente em cubetas de PTFE. As superfícies sintéticas foram incubadas com as proteínas marcadas (2,0. 10^8 cpm. mL^{-1}) em solução PBS, pH 7,4 à 37°C.

A radioatividade das superfícies DGEBA-TETA, DGEBA-DETA e DGEBA-AEP, foi avaliada em um contador gama (Beckman) para a determinação da concentração das proteínas adsorvidas em função do tempo.

5.6.4. Formação de trombos

A formação de trombos nas superfícies dos discos do sistema DGEBA-TETA, DGEBA-DETA e DGEBA-AEP, foi estudada por microscopia de epifluorescência após o contato das superfícies sintéticas com sangue humano. O principio da técnica de epifluorescência baseia-se na incorporação de alaranjado de acridina (ACD) ao DNA mitocondrial. A localização de plaquetas ou seus agregados é feita por excitação do corante com luz UV.

Os discos de DGEBA-TETA, DGEBA-DETA e DGEBA-AEP contidos em tubos de teflon[®] foram inicialmente hidratados com solução PBS; pH 7,4 à 37°C por 15 minutos. Em seguida as superfícies foram colocadas em contato com o sangue humano previamente preparado com a solução de ACD. A reação de coagulação foi iniciada pela adição de 20 μL de CaCl_2 a 3,8%. Após um determinado intervalo de tempo, a reação de formação de trombos foi interrompida pela adição de solução fisiológica (NaCl a 0,9%). As superfícies testadas foram mantidas por 5 minutos em solução de glutaraldeído à 25%, para a fixação dos trombos, e em seguida coradas com alaranjado de acridina para observação por microscopia de epifluorescência.

Capítulo 6 – Resultados e discussões

6.0. Introdução

Considerar um material adequado para aplicação na área ortopédica pressupõe a sua respectiva compatibilidade ao nível mecânico e biológico. Os materiais sintéticos utilizados como biomateriais devem apresentar certos requisitos essenciais como: biocompatibilidade, biofuncionalidade, bioadesão, propriedades mecânicas semelhantes às do osso, tais como: módulo de elasticidade, resistência à tração e à fadiga, processabilidade, resistência à corrosão biológica e custos condizentes com a realidade brasileira.

Há mais de um século, os esforços de cientistas da área de biomateriais são dirigidos para o projeto de novos materiais com características adequadas para a restauração e substituição dos tecidos ósseos no corpo humano. Em uma fase inicial, a procura de tais compostos se deu através da utilização de materiais de origem biológica, como no caso dos enxertos e dos transplantes, os quais são classificados como autólogo (onde o doador é o próprio receptor), homólogo (proveniente de doador geneticamente distinto do receptor, porém da mesma espécie), heterólogos (quando os enxertos provém de outra espécie) e os aloplásticos (ou sintéticos) [77-81].

Os enxertos autólogos ou homólogos são utilizados na correção de falhas ósseas. Os enxertos autólogos são retirados do próprio paciente, de uma área doadora como a crista ilíaca. São enxertos considerados biologicamente ideais, pois possuem capacidade osteogênica, osteocondutora e osteoindutora, o que faz com que a osteointegração seja rápida e eficaz. As desvantagens da utilização deste tipo de enxerto são a quantidade limitada de osso que pode ser obtido da área doadora, por vezes insuficiente para correção de grandes perdas ósseas e um elevado índice de complicações cirúrgicas (8,0% a 20,0%) como infecções, hematoma, lesão nervosa, deformidade estética e instabilidade da articulação sacro-ilíaca [82-87].

Devido às desvantagens das técnicas de enxerto ósseo já citadas e também ao grande desenvolvimento científico e tecnológico, muitos trabalhos foram realizados com o objetivo de dispor de materiais de origem sintética com características adequadas que permitam

diminuir e em alguns casos eliminar o uso de materiais de origem biológica na engenharia do tecido ósseo.

As resinas epoxídicas estão entre os materiais mais versáteis da tecnologia de polímeros, sendo a resina bifuncional éter diglicidílico do bisfenol-A (DGEBA) reticulada por aminas, um dos sistemas epóxi mais utilizados como matriz em compósitos poliméricos [88-89].

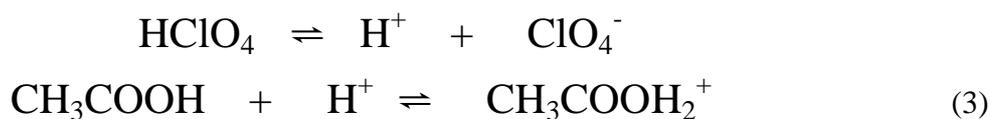
Quando as resinas baseadas no DGEBA são destinadas para aplicações especiais que solicitam elevada performance, é comum a revisão dos parâmetros da formulação para atingir as propriedades mecânicas mais adequadas. Neste caso, os principais parâmetros incluem a utilização de uma proporção adequada de resina e endurecedor, um programa de cura adequado que assegure a conversão máxima e um tempo de manipulação tal que garanta uma correta utilização da formulação [68].

A conversão máxima do sistema DGEBA/aminas alifáticas possibilita a obtenção de um produto no qual não haverá resíduos de agrupamentos amínicos e/ou epoxídicos. Esses resíduos são citotóxicos, a sua presença impossibilitaria a utilização do sistema DGEBA/aminas alifáticas como um biomaterial.

Os principais parâmetros a serem avaliados no processo de cura de uma dada formulação DGEBA/amina, são: a determinação do equivalente epoxídico e a determinação da razão estequiométrica DGEBA/aminas alifáticas. O equivalente epoxídico pode ser determinado por volumetria ou titulação ácido-base e pela técnica de potenciometria.

6.1. Titulação da resina DGEBA -Volumetria ácido-base

Em química analítica utiliza-se o ácido perclórico na realização de titulações em solventes não aquosos, especialmente em solução de ácido acético. Na adição, o ácido perclórico é convertido com ácido acético concentrado, produzindo ácido acético protonado, Equação 3. [94]



O cristal de violeta ($\text{pK}_a = 1,0$), indicador ácido-base, (Figura32), foi utilizado na titulação da resina DGEBA.

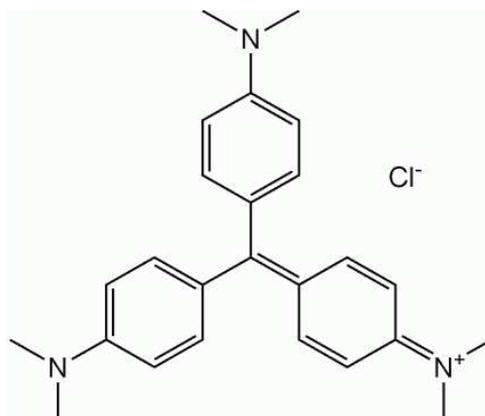
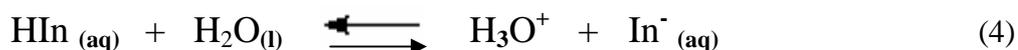


Figura 32 - Estrutura química do cloreto de hexametilpararosanilina – conhecido como hexametil , violeta de metila 10B, ou cristal violeta.

Por ser um ácido fraco, um indicador faz parte de um equilíbrio químico de transferência de prótons, Equação 4:



A escolha desse indicador para ser usado na titulação da resina DGEBA se deve ao fato do seu ponto de viragem ocorrer na faixa de 0 a 1,8; quando o sistema alcança o ponto estequiométrico[94]. Em titulações de ácidos fortes com bases fracas, o sal formado terá caráter ácido, ou seja, o pH da solução será menor que 7, evidentemente só iremos medir o ponto final da titulação usando um indicador apropriado, cuja mudança de cor (viragem) se dê no pH correspondente ao ponto de equivalência .

A titulação volumétrica para a padronização da solução aquosa de ácido perclórico foi realizada em quadruplicata, segundo as normas ASTM [93]. O volume de solução ácida consumido é anotado. Os cálculos da concentração Normal da solução aquosa ácida foram realizados segundo a Equação (5).

$$N = m_1 / E \times V \quad (5)$$

Sendo:

m_1 = massa em gramas do biftalato de potássio; E = equivalente-grama ($E = \text{MM} / \text{carga do cátion ou do ânion do sal}$); V = volume do ácido em litros; N = concentração eq-g/L. Os resultados obtidos nas titulações são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados das concentrações Normais das titulações da solução (aq) de ácido perclórico.

Massa (g) de biftalato de potássio	Volume (mL) de ácido perclórico	N (eq-g/L)
0,40001	23,25	0,1712
0,4000	23,23	0,1714
0,4001	23,24	0,1714
0,4002	23,26	0,1713
Média	23,24 ± 0.01	0,1713 ± 0.001

Os cálculos foram realizados na concentração Normal (IUPAC), para efeito de comparação dos resultados obtidos experimentalmente com os dados obtidos na literatura e pelo fabricante dos produtos que nos fornece os valores em eqg⁻¹.

O valor da concentração Normal da solução de ácido perclórico é o resultado da média de quatro titulações, sendo igual a 0,1713 eq-g/L, ± 0.001.

A solução de ácido perclórico padronizada foi utilizada na titulação da resina epoxídica DGEBA. A finalidade da titulação da resina DGEBA foi a determinação da concentração g/eq em epóxi. O resultado é a média de seis determinações.

No processo de titulação da resina DGEBA, imediatamente após ocorrer a viragem do indicador cristal violeta de azul para verde e estabilização da cor por aproximadamente 2 minutos, o volume da solução ácida consumida foi anotado.

O primeiro passo para a determinação do equivalente-grama epoxídico foi a determinação do percentual epoxídico. O cálculo do percentual epoxídico (E%) foi realizado segundo a Equação 6.

$$E \% = \frac{43 \times V \times N}{m} \quad (6)$$

Sendo:

V = volume (L) de solução aquosa de ácido perclórico consumido na titulação, N = concentração (g/eq) média da solução aquosa de ácido perclórico, m = massa da resina epoxídica (g), e o valor 43 corresponde a massa molecular do anel epoxídico.

O cálculo do equivalente-grama epoxídico (W), é determinado pela Equação (7).

$$W = 43 \times 100 / E \quad (7)$$

Os resultados dos cálculos descritos acima são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Resultados das titulações das amostras de resina DGEBA e os cálculos do percentual e da massa em gramas correspondente a um equivalente-grama epoxídico.

Massa (g) de resina	Volume (ml) de solução aq de ácido perclórico	E % epoxídico	W (eqg ⁻¹) epoxídico
0,4002g	12,46	22,933	187,5
0,4009g	12,48	22,930	187,53
0,4005g	12,47	22,934	187,49
0,4003g	12,46	22,927	187,55
0,4002g	12,45	22,915	187,65
0,4001 g	12,43	22,883	187,91
Média	-	22,920 ± 0,02	187,6 ± 0,2

O valor médio da concentração epoxídica (eqg⁻¹) igual a 187,6 ± 0,2, determinado pelo método de titulação potenciométrica, está em perfeito acordo com os dados fornecidos pelo fabricante da resina DGEBA [90].

6.2. Titulação potenciométrica das amins alifáticas

Os três agentes de cura amínicos estudados (TETA, DETA e AEP) foram titulados potenciometricamente. É de suma importância a determinação eficaz da concentração g/eq de hidrogênios ativos nos três compostos para a determinação da razão estequiométrica dos sistemas adesivos.

Os agentes de cura amínicos DETA e TETA correspondem a etilenoaminas polifuncionais com estruturas químicas alifáticas de cadeia linear contendo em suas estruturas amins primárias e secundárias. O agente de cura AEP apresenta estrutura química alifática de cadeia cíclica tendo também em sua estrutura amins primárias e secundárias.

O equivalente de amina dos agentes de cura TETA, DETA e AEP, foi determinado por titulação potenciométrica com solução padrão de HCl em meio aquoso (0,1732 N). O resultado obtido é a média de três titulações de cada um dos compostos estudados.

A titulação potenciométrica possibilita a determinação das inflexões relacionadas às diferenças de basicidades dos grupos amins presentes nos agentes de cura, visto que, os agentes de cura DETA e AEP possuem em sua estrutura amins primárias e secundárias e o agente de cura TETA amins primárias, secundárias e terciárias. Para a determinação do eq^{-1} desses agentes de cura se faz necessário os resultados das titulações de cada agrupamento amínico presente nos compostos.

6.2.1. Titulação potenciométrica do endurecedor TETA

O endurecedor 24 (Dow Química S.A. do Brasil S.A.) foi usado como recebido. Esse composto é um produto de grau comercial à base de trietilenotetramina (TETA) (60 %, da ACROS) contendo uma mistura de quatro amins alifáticas. Nessa mistura estão contidas amins primárias, secundárias e terciárias. O objetivo principal dessa titulação foi determinar o E_{HA} (equivalente de hidrogênio do tipo amina), presente no composto majoritário da mistura.

A Figura 33 mostra a estrutura química do TETA. Nessa estrutura encontramos os nitrogênios primários nas extremidades da cadeia (1° e 4° nitrogênio) e os secundários ao centro (2° e 3° nitrogênio)

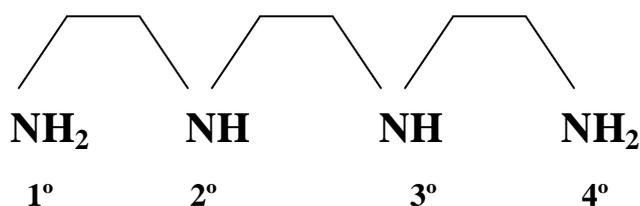


Figura 33 - Estrutura química do agente de cura TETA.

O gráfico da titulação do agente de cura TETA possui duas inflexões. Essas curvas são devido às diferenças nas basicidades dos grupos amins que podem assim ser detectadas na titulação potenciométrica. O momento decisivo durante a titulação para cada agrupamento amina é diferente, ou pelo menos para dois deles. O primeiro salto é atribuído às reações de protonação do ácido clorídrico com os nitrogênios primários e o segundo salto às reações de protonação do ácido com os nitrogênios secundários e/ou terciários. [64]

Os resultados das respectivas titulações potenciométricas são mostrados na Figura 34.

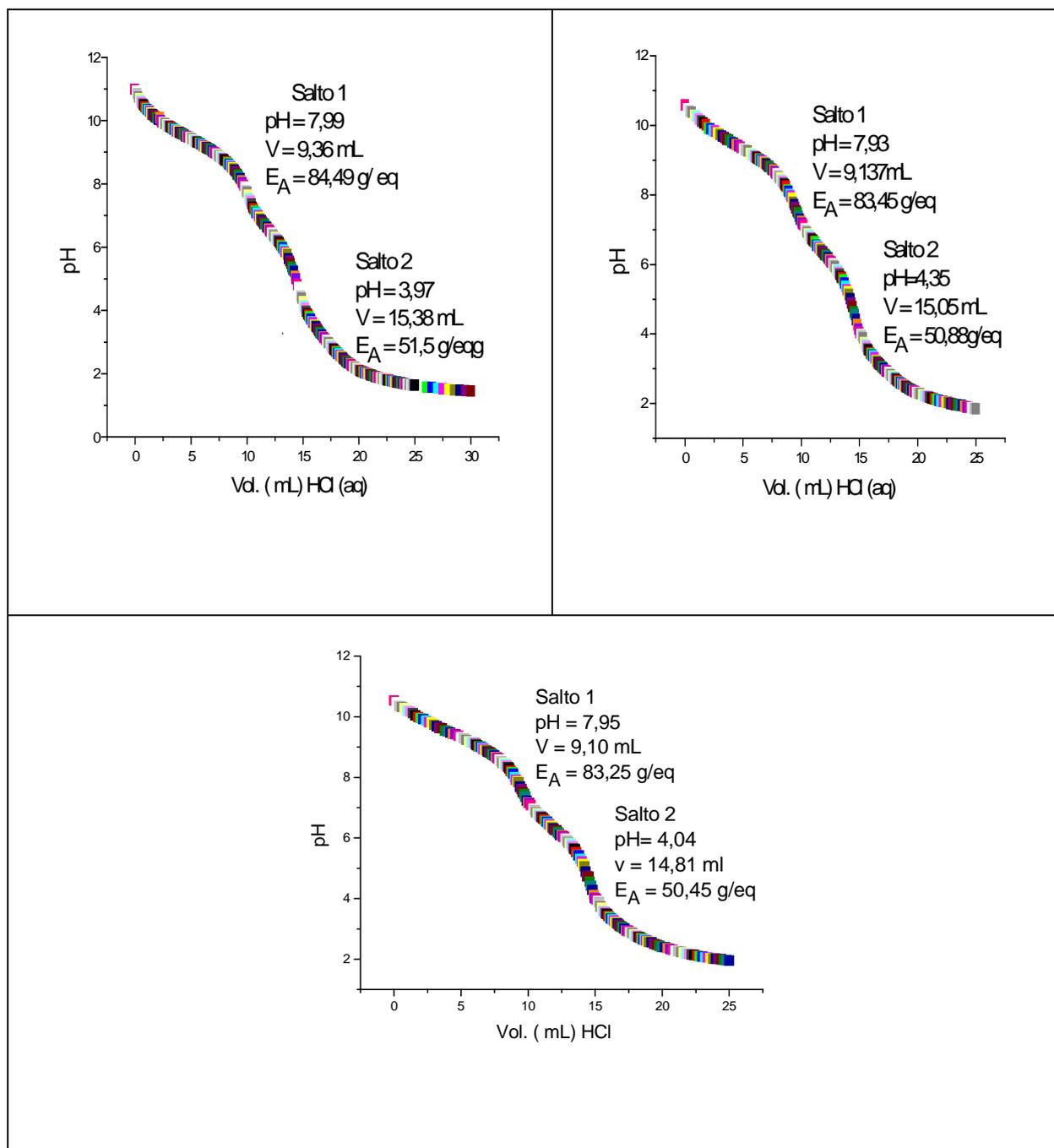


Figura 34 - Curvas potenciométricas das titulações do trietilenotetramina em solução aquosa à 25°C.

A primeira inflexão está relacionada ao grupo amina primária, por ser o mais básico, e a segunda inflexão aos agrupamentos amins secundárias e terciárias [64]. Para cada inflexão (salto), no gráfico das titulações, foi determinado o ponto estequiométrico e o ponto equivalente em volume de solução ácida utilizada. A Equação 8, permite o cálculo da concentração de equivalente amínico presente na massa da amostra titulada:

$$E_A = \frac{m}{E_{Ac}} \quad (8)$$

Sendo:

E_A = concentração de equivalente amínico na amostra (eqg^{-1}), m = massa em gramas de endurecedor, E_{Ac} = eqg^{-1} da solução ácida correspondente ao volume utilizado de solução.

Na Tabela 7, são apresentados os valores em eqg^{-1} de amina para cada ponto de inflexão.

Tabela 7 – Valores em eqg^{-1} de amina referentes a primeira e segunda inflexões.

Massa(g) TETA	(E_{A1}) do salto 1	(E_{A2}) do salto 2
0,1385	84,49	51,5
0,1388	83,45	50,88
0,1390	83,25	50,45
Média	$83,73 \pm 0,6$	$50,9 \pm 0,5$

O fator de correção (R_p), segundo a Equação 9, é obtido dividindo-se a concentração (C) da 1ª inflexão pela concentração (C) da 2ª inflexão:

$$R_p = \frac{E_{A1}}{E_{A2}} \quad (9)$$

O valor do fator de correção (R_p) corresponde à fração de hidrogênios amínicos ativos presentes na massa do composto titulado.

Os resultados dos cálculos efetuados para a determinação do R_p , estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Resultados dos cálculos dos fatores de correções Rp para o endurecedor TETA.

Massa (g)	E _{A1}	E _{A2}	Rp
0,1385	85,49	52,06	1,64
0,1388	86,3	55,5	1,64
0,1390	88,25	53,5	1,65
Média	86,68 ±1,7	53,68 ±1,7	1,64 ± 0,005

Analogamente, de acordo com as normas de Padronização Internacional para titulações em meio não aquoso [91], o cálculo do peso equivalente de hidrogênio na amina, realizando a titulação em meio aquoso pode ser calculado aplicando-se a Equação 10. Para esse cálculo leva-se em consideração o valor (E_A) correspondente a maior inflexão.

$$E_{HA} = E_{A2} / Rp \quad (10)$$

Sendo:

E_{HA} = peso equivalente de hidrogênio na amina, E_A = equivalente amínico do agente de cura na reação com HCl, e Rp = razão de equivalentes amínicos (E_A) da primeira e segunda inflexão.

A titulação em meio aquoso, por sua natureza, introduz um erro sistemático, uma vez que a segunda inflexão também incorpora a titulação do grupo amina terciário. Isto pode ser corrigido usando a equação empregada no método de titulação potenciométrica em meio não aquoso segundo as normas de Padronização Internacional [91], de acordo com a Equação 11.

$$E_{HA} = \frac{E_{A2} - (E_{A2} \times N_T / 100)}{Rp} \quad (11)$$

Sendo:

E_{HA} = peso equivalente de hidrogênio na amina (g.eq⁻¹), E_{A2} = equivalente amínico referente a segunda inflexão, Rp = razão entre os E_A da primeira e segunda inflexão, e o N_T = conteúdo de nitrogênio terciário em percentual em massa (4,1%), determinado de acordo com o Método de Padronização Internacional [91]. Os resultados são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Resultados dos cálculos das concentrações (C), fatores de correções (Rp), pesos equivalentes de hidrogênios na amina (E_{HA}) e as suas correções.

Massa(g)/TETA	E_{A2}	Rp	E_{HA} (g/eq)	E_{HA} (eqg ⁻¹) corrigido
0,1385	51,5	1,64	31,4	30,11
0,1388	50,88	1,64	31,0	29,72
0,1390	50,45	1,65	30,57	29,3
Média	$50,9 \pm 0,4$	$1,64 \pm 0,006$	$31,06 \pm 0,4$	$29,7 \pm 1,0$

6.2.2. Titulação potenciométrica do endurecedor DETA

O agente de cura amínico DETA é uma poliamina alifática contendo nitrogênios primários e secundários em sua estrutura. Ele é um produto com 99% de pureza. Em sua estrutura química, (Figura 35), estão presentes nitrogênios do tipo primário, que se encontram nas extremidades da cadeia (1° e 3° nitrogênio) e nitrogênios secundários, localizados no centro da cadeia (2° nitrogênio).

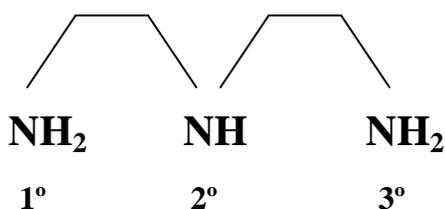


Figura 35 - Estrutura química do agente de cura DETA.

Na titulação do composto DETA foi realizado o mesmo procedimento utilizado para a titulação do endurecedor TETA. O resultado obtido é a média de três titulações. Assim como para o agente de cura TETA, observam-se também duas inflexões nos gráficos. Os resultados das titulações são mostrados na Figura 36.

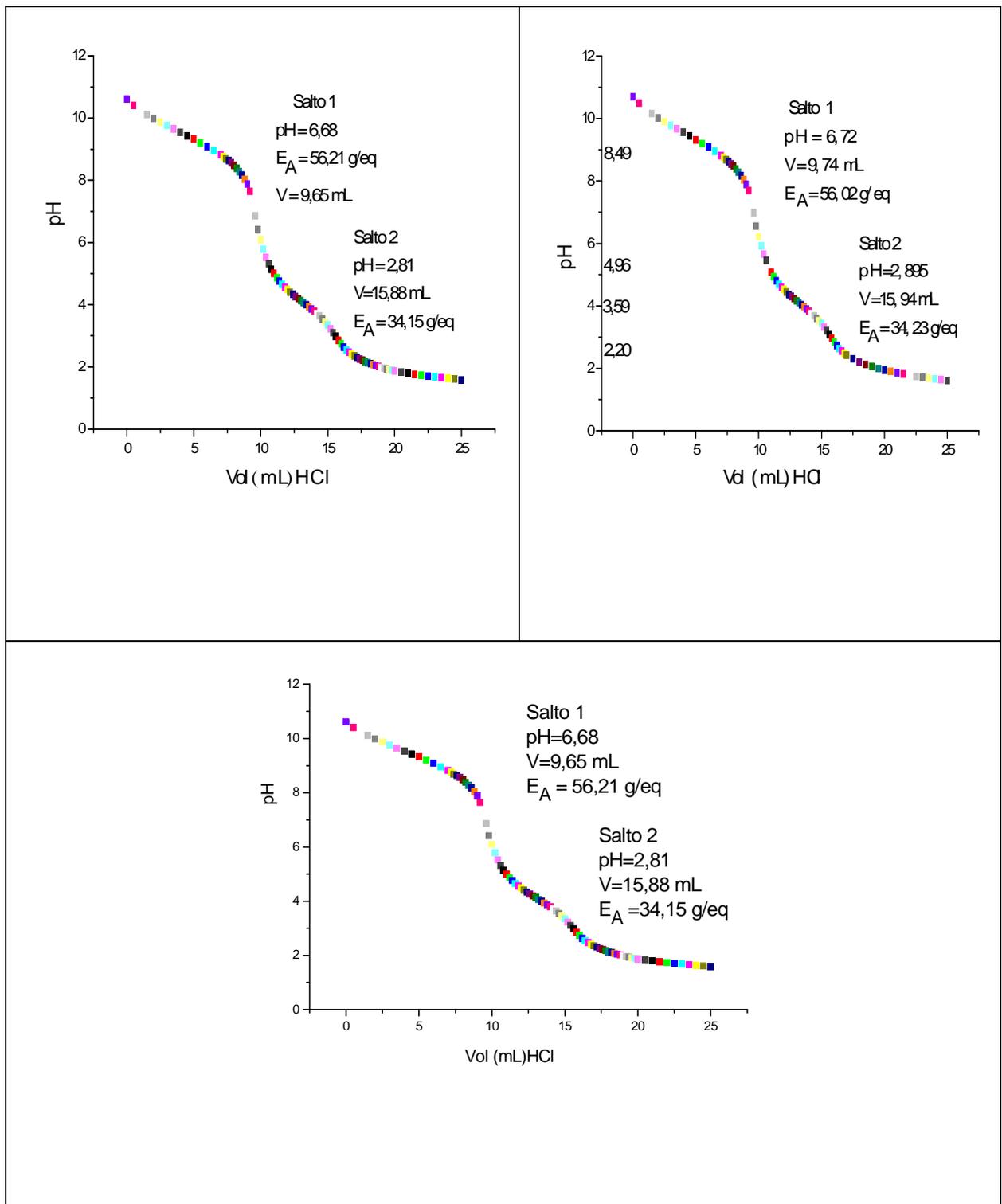


Figura 36 - Curvas potenciométricas das titulações do Dietilenotriamina em solução aquosa a 25°C.

Os cálculos de E_A , R_p e E_{HA} foram realizados segundo as Equações 08, 09, 10, respectivamente. Para o cálculo do E_{HA} leva-se em conta apenas a segunda inflexão. Isso se

deve ao fato de se considerar para o cálculo do equivalente-grama de hidrogênio na amina o valor da maior inflexão.

Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Resultados dos cálculos do E_{A2} , fator de correção (R_p), equivalente-grama de hidrogênio na amina (E_{HA}) e suas correções.

Massa(g) DETA	E_{A2} (g/eq)	R_p	E_{HA} (g/eq) Corrigido
0,1016	34,15	1,65	20,69
0,1022	34,23	1,64	20,87
0,1018	34,30	1,63	21,04
Média	$34,19 \pm 0,04$	$1,645 \pm 0,005$	$20,86 \pm 0.2$

6.2.3. Titulação potenciométrica do AEP

O agente de cura amínico AEP é um produto com 99% de pureza. Esse endurecedor é uma poliamina alifática e de cadeia cíclica contendo nitrogênios primários (3° nitrogênio), secundários (1° nitrogênio) e terciários (2° nitrogênio) em sua estrutura, (Figura 37).

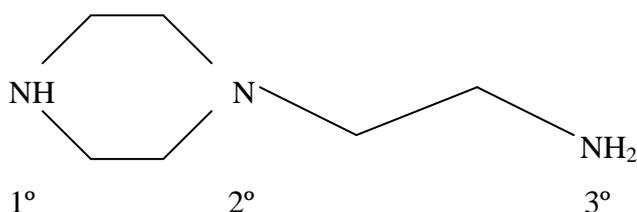


Figura 37 - Estrutura química do agente de cura AEP.

Em sua titulação foi utilizado o mesmo procedimento realizado para o endurecedor DETA e TETA. O resultado obtido é a média de três titulações.

Na titulação do agente de cura amínico aminoetilpiperazina (AEP) fica evidente a existência de apenas uma inflexão na curva potenciométrica, quando era de se esperar duas inflexões como ocorreu nos outros dois compostos (DETA e AEP) devido à presença em sua estrutura de nitrogênios do tipo terciários e secundários, além de nitrogênios primários. Os resultados das titulações são mostrados na Figura 38.

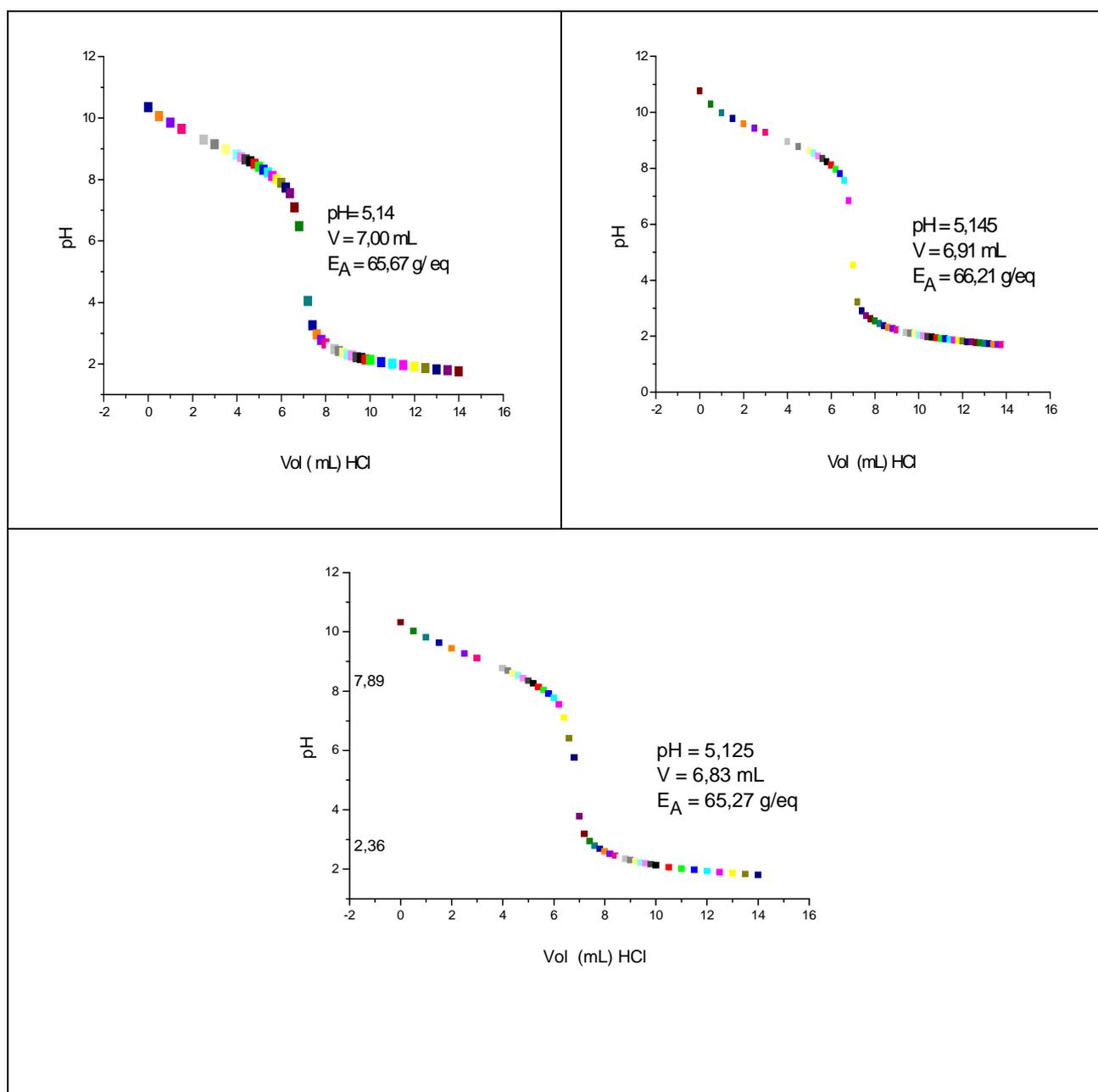


Figura 38 - Curvas potenciométricas das titulações do Aminoetilpiperazina em solução aquosa a 25°C.

Esse comportamento está relacionado à possível sobreposição das reações de protonação dos nitrogênios secundários e terciários com o nitrogênio primário [68].

A determinação do equivalente amínico (E_A) foi realizada segundo a Equação 08. Os resultados são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Resultados dos cálculos do equivalente amínico E_A .

Massa(g)	E_A
0,0861	65,67
0,0867	66,21
0,0835	65,27
0,0851±0.001	65,71 ± 0.001

A Tabela 12 mostra os valores teóricos dos equivalentes amínicos (E_A) e os equivalentes de hidrogênios ativos (E_{HA}) do tipo amina, calculados a partir da estrutura molecular de cada composto, e os valores experimentais obtidos a partir das titulações potenciométricas.

Tabela 12 - Equivalente amínico (E_A) e equivalente de hidrogênio do tipo amina (E_{HA}), teóricos e experimentais dos compostos DETA, TETA e AEP.

Endurecedores	g eq⁻¹ amínico com HCl (teórico)	G eq⁻¹ amínico com HCl (exp.)*	Massa equivalente de hidrogênio amina (teórico)	Massa equivalente de hidrogênio amina (exp.)*
DETA	34,39	34,19 ± 0,05	20,51	20,86 ± 0,2
TETA	36,56	50,9 ± 0,4	24	29,7 ± 1,0
AEP	64,60	65,71 ± 0,5	43,06	43,7 ± 0,5

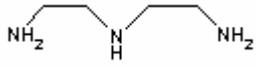
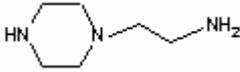
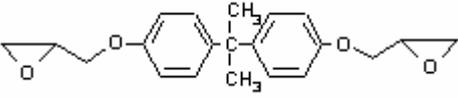
*(exp.)- Valores experimentais resultantes da média dos valores encontrados nos procedimentos de titulação realizados para cada composto, em três análises.

Na tabela 13, são apresentados os E_{HA} dos produtos TETA, DETA e AEP, e o equivalente epoxídico (W) da resina DGEBA, obtidos pelo método experimental de titulação, e na Tabela 14, os valores dos E_{HA} e W dos grupos funcionais dos produtos estudados, divulgados na literatura [64, 66, 68, 92].

Tabela 13 - Resultados das titulações para o cálculo dos equivalentes de hidrogênios ativos do tipo amina (E_{HA}) dos agentes de cura TETA, DETA e AEP, e o equivalente epoxídico (W) presente na resina DGEBA.

Produtos	Eqg ⁻¹
DETA	20,86 ± 0,2
TETA	29,7 ± 1,0
AEP	43,7 ± 0,5
DGEBA	187,6 ± 0,2

Tabela 14 - Valores dos equivalentes de hidrogênios ativos do tipo amina (E_{HA}) dos agentes de cura TETA, DETA e AEP, e o equivalente epoxídico (W) presente na resina DGEBA, divulgados na literatura.

Produtos	Estruturas químicas	(eqg ⁻¹) dos Grupos funcionais
Dietilenotriamina		21,0
Trietilenotetramina		27,5
1-(2-Aminoetil)piperazina		43,0
Éter diglicidílico do Bisfenol A		187,0

Nota-se uma boa concordância entre os valores teóricos experimentais e os divulgados na literatura, [64, 66, 68, 92], confirmando a eficácia do método utilizado.

6.3. Determinação da Tg e do calor de reação utilizando a calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial tem sido utilizada para o estudo da relação entre o tempo de cura e a temperatura dos sistemas DGEBA/aminas alifáticas. Nesse caso, a temperatura de transição vítrea (T_g) é um parâmetro de aproximação para monitorar o processo de cura. Os resultados da literatura mostraram que a T_g para sistemas epoxídico/amina alifática é uma função de conversão, independente da temperatura de cura, [100].

As propriedades mecânicas dos sistemas epoxídicos podem ser controladas por mudanças tanto de formulação como de condições de cura. Entretanto, as melhores propriedades são alcançadas quando se utilizam proporções estequiométricas. Nessa condição, o sistema consegue a estrutura de rede mais completa porque alcança a conversão máxima, e como consequência disso é possível se obter a temperatura de transição vítrea máxima ($T_{g\infty}$) na qual o sistema vitrifica. No entanto, quando se usa proporção estequiométrica, não são observadas mudanças na resistência à tensão por um período de um ano, mas, se observa um ligeiro aumento nas propriedades mecânicas em flexão em condições de intemperismo [68,105].

Na Tabela 15, são apresentadas as razões estequiométricas, em phr, obtidas pelo método de titulação dos três sistemas estudados (DGEBA/TETA, DGEBA/AEP e DGEBA/DETA).

Tabela 15 - Razão estequiométrica (phr) dos sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP).

Sistemas epoxídicos	phr* experimental
DGEBA/TETA	14
DGEBA/DETA	11
DGEBA/AEP	23

phr* - partes de endurecedor para cada 100 partes de resina.

Considerando que a trietilenotetramina é o componente majoritário do endurecedor TETA (60%), esperava-se uma razão estequiométrica de 13 phr (esse valor, 13 phr, corresponde à razão estequiométrica do sistema epoxídico calculado com base no valor teórico do E_{HA} do agente de cura e da concentração g/eq de grupos epoxídicos da resina DGEBA). Esse resultado não foi encontrado experimentalmente, indicando que as impurezas reativas afetam a sua funcionalidade, enquanto para os sistemas DGEBA/AEP e DGEBA/DETA os resultados obtidos das razões em phr foram os esperados.

As razões estequiométricas dos sistemas epoxídicos DGEBA/TETA (14 phr), DGEBA/AEP (23 phr) e DGEBA/DETA (11 phr) necessitam ser confirmadas, visto que, o método de titulação potenciométrico empregado está baseado em determinações indiretas, uma vez que não utiliza a reação com o grupo epoxídico. Entretanto, quando se conhece o equivalente epoxídico, é possível obter de modo direto o equivalente de amina (gramas de endurecedor que contém um equivalente de hidrogênio amínico), pelo emprego da calorimetria exploratória diferencial (DSC).

A finalidade da realização das análises térmicas no modo dinâmico foi a de confirmar os resultados das razões estequiométricas obtidas pelo método de titulação potenciométrica. Os resultados das experiências dinâmicas são apresentados nas curvas calorimétricas dos sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP, ilustradas nas Figuras 39 e 40 .

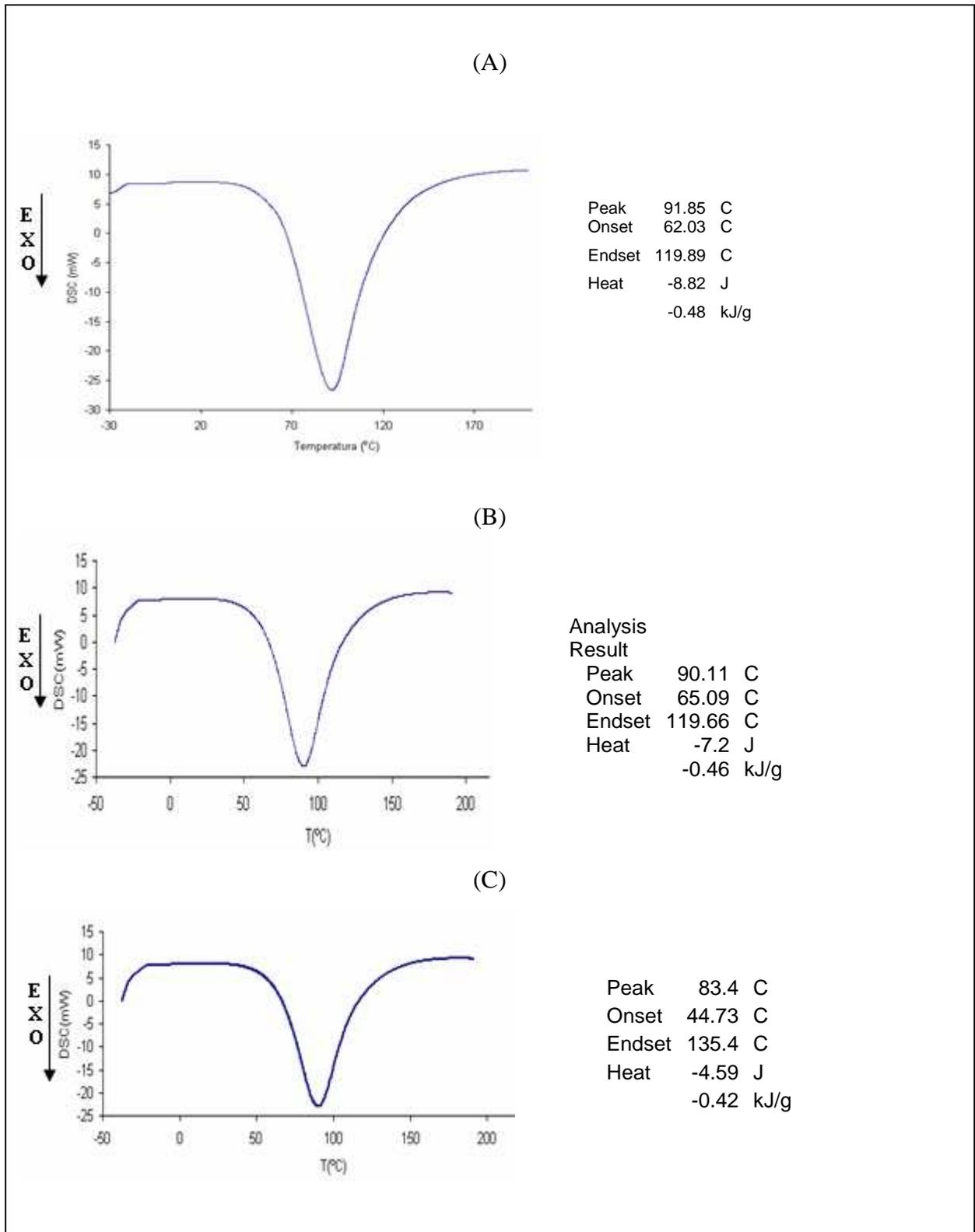


Figura 39 - Curvas calorimétricas do 1º ciclo térmico para obtenção do calor de reação (ΔH) dos sistemas DGEBA/TETA (A), DGEBA/DETA (B) e DGEBA/AEP (C). As concentrações de TETA, DETA e AEP são respectivamente 14 , 11 e 23 phr, respectivamente.

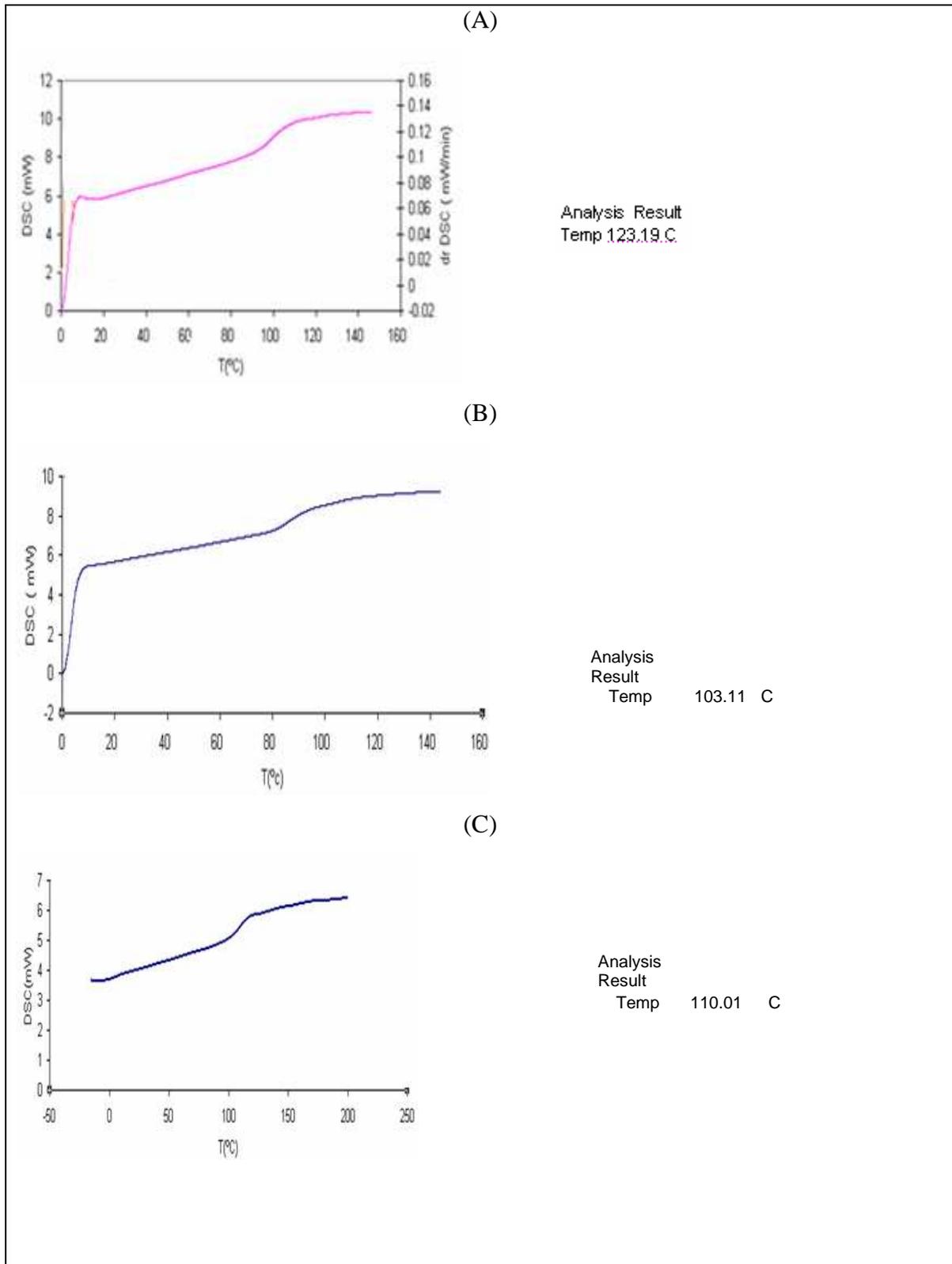


Figura 40 - Curvas calorimétricas do 2º ciclo térmico para obtenção da temperatura de transição vítrea (T_g) dos sistemas DGEBA/TETA (A), DGEBA/DETA (B) e DGEBA/AEP (C).

Segundo a literatura [68], os resultados obtidos dos calores das reações para os sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/AEP e DGEBA/DETA, respectivamente de: -486 J/g, -420 J/g e -460 J/g e respectivas temperaturas de transições vítreas iguais à 123°C, 110,01°C e 103,11°C, estão em perfeito acordo com os valores divulgados na literatura para os sistemas epóxi/ aminas alifáticas [68,92]. Com base nos resultados das análises térmicas foi confirmado as razões estequiométricas dos sistemas DGEBA/TETA DGEBA/AEP e DGEBA/DETA como sendo de 14, 23 e 11 phr respectivamente, em concordância com o método químico de titulação potenciométrica [68,92].

6.4. Programa de cura

As resinas termoestáveis como a DGEBA não são polimerizáveis completamente, isso significa que após a polimerização ainda restam alguns monômeros no material.

Para os sistemas constituídos pela resina epoxídica do tipo DGEBA com aminas alifáticas, é frequente o emprego de um programa de cura que utilize uma temperatura inicial moderada, onde possa ocorrer a gelificação e a vitrificação. Esses sistemas podem ser utilizados com êxito à temperatura ambiente na etapa inicial.

Considerando que os fenômenos de gelificação e vitrificação acontecem em um tempo de 24 horas, é possível assegurar que mesmo nestas condições, a reação não alcança a conversão máxima. Por isso é necessário que se averigüe o grau de conversão da reação [68]. Essa averiguação é realizada através da obtenção do calor residual do sistema.

6.4.1. Análises DSC – sistema curado resina/aminas alifáticas

O grau de conversão dos sistemas epoxídicos estudados curados à temperatura ambiente foi determinado através de análises DSC no modo dinâmico com a finalidade de determinar o calor residual.

As curvas calorimétricas mostram os resultados das avaliações das quantidades de calor residual (J/g) para os sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/AEP e DGEBA/DETA, (Figuras 41, 42 e 43), respectivamente.

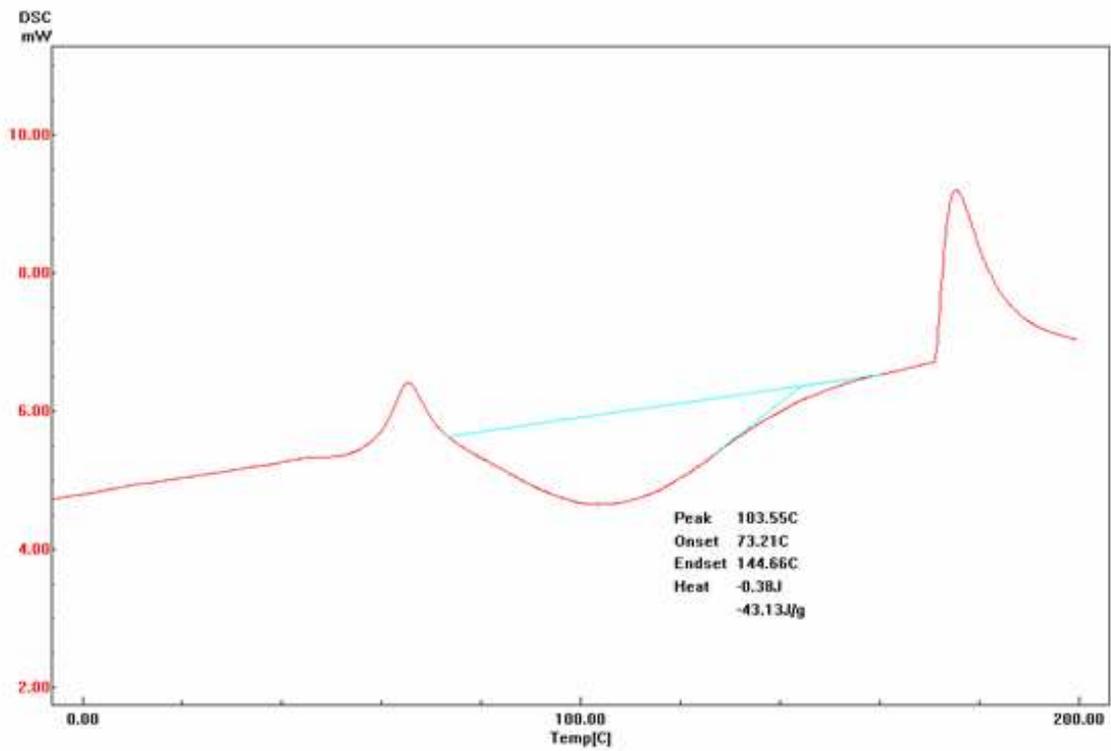


Figura 41– Curva calorimétrica do sistema DGEBA/TETA, calor residual igual a -43,13 J/g.

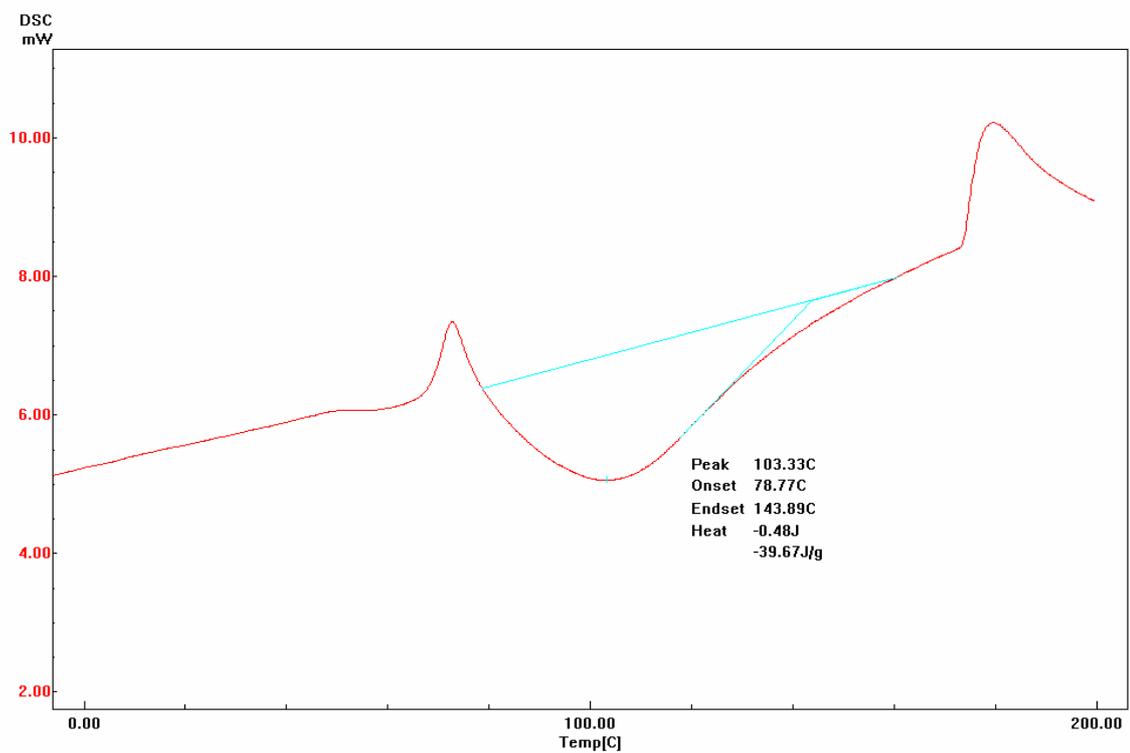


Figura 42 - Curva calorimétrica do sistema DGEBA/AEP, calor residual igual a - 39,67 J/g.

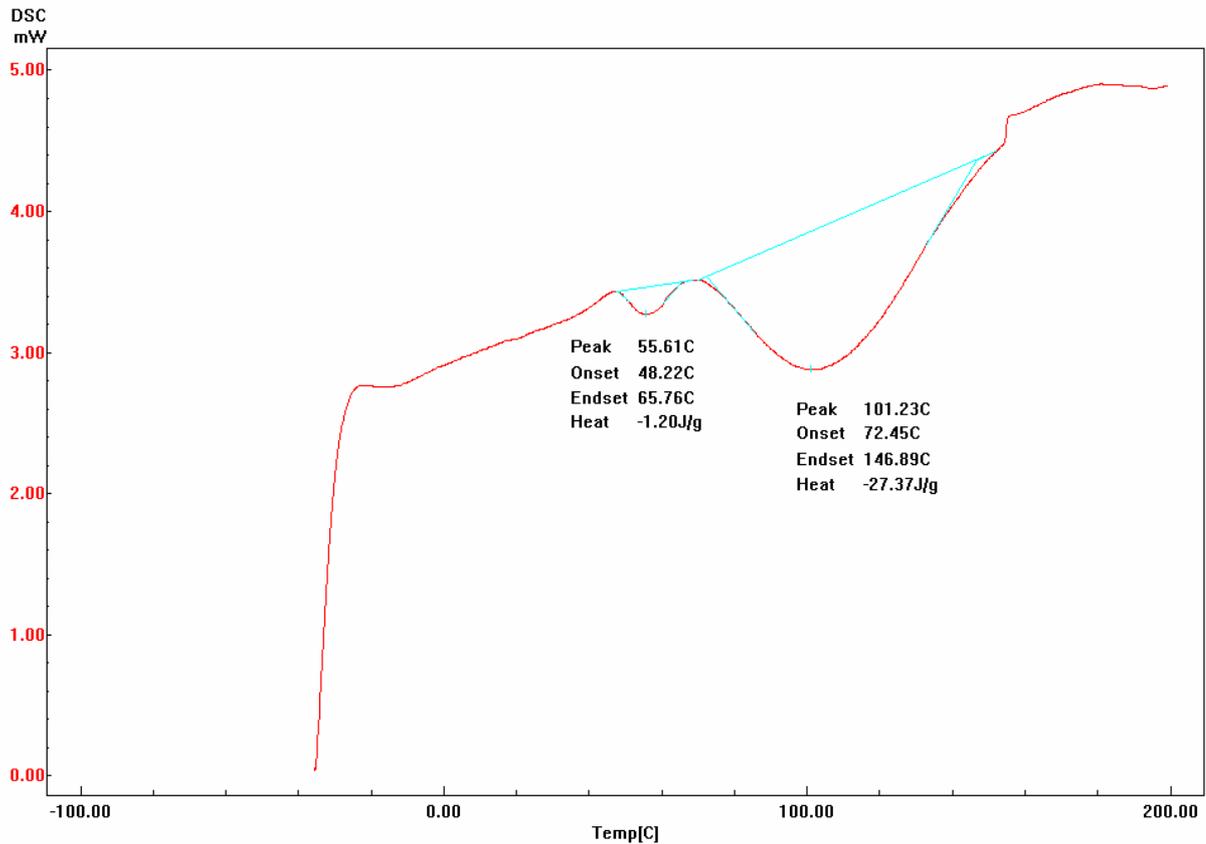


Figura 43 - Curva calorimétrica do sistema DGEBA/DETA, calor residual igual a $-27,37$ J/g.

Após a obtenção dos resultados desses ciclos térmicos, foi possível determinar o percentual de grupos funcionais que reagiram. A conversão final (η) alcançada após cada experiência isotérmica foi determinada pela Equação 12 [68].

$$\eta = 1 - \frac{\Delta H_R}{\Delta H_T} \quad (12)$$

O cálculo percentual da conversão final (η) nos permite determinar a razão não estequiométrica que deverá ser utilizada em cada uma das formulações adesivas.

Os resultados dos cálculos η são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 - Conversão final (η) alcançada após cada experiência isotérmica e a razão não estequiométrica para os três sistemas resina/amina.

Resina/amina	ΔH_R (J/g) 37°C	ΔH_T (J/g)	(η) %	Razão estequiométrica phr	Razão não estequiométrica phr
DGEBA/TETA	43,13	480	90,2	14	12,7
DBEBA/AEP	39,67	420	89,0	23	20,72
DGEBA/DETA	27,37	460	93	11	10

Os resultados apresentados na tabela 16 indicam que após a cura dos sistemas epoxídicos ainda há resíduos de grupos amínicos e epóxi não reagidos. Essa constatação foi feita pela determinação do calor residual. O cálculo do percentual (η) está relacionado à conversão máxima que os sistemas alcançaram. Através desse percentual foi possível determinar uma nova relação não estequiométrica para os sistemas epoxídicos, eliminando-se o excesso amínico.

Os sistemas epoxídicos utilizados nesse trabalho foram preparados na razão não estequiométrica. Através da eliminação do excesso de grupos amínicos espera-se obter um produto final com baixa ou nenhuma citotoxicidade.

6.5. Caracterizações biológicas do sistema DGEBA / amins alifáticas

Os materiais utilizados no reparo do tecido ósseo enquadram-se em uma classe denominada de biomateriais e devem apresentar propriedades físicas e biológicas compatíveis com os tecidos vivos hospedeiros de modo a estimular uma resposta adequada dos mesmos. Tais propriedades caracterizam a biocompatibilidade [101,102].

A biocompatibilidade de um material artificial está diretamente relacionada à resposta celular quando esse é posto em contato com um sistema biológico. A resposta celular é

influenciada pelas proteínas que adsorvem na interface do implante com o fluido biológico [103].

O material para ser considerado um biomaterial deve ser não tóxico, não carcinogênico, não antigênico e não mutagênico [103].

As complicações oriundas dos dispositivos implantados irão variar de acordo com a sua aplicação, por exemplo: infecções e biodegradação irão afetar dispositivos que têm aplicações de longa duração como próteses permanentes.

O organismo humano tem um modelo de funcionamento que pode ser afetado por agressões de diversas naturezas. Qualquer situação não identificada pelo organismo como normal ou fisiológica, pode despertar um conjunto de reações relacionadas aos mecanismos de defesa ou de compensação do sistema imunológico.

Ao ser introduzido no sistema biológico, um polímero sintético é identificado pelo organismo humano como um agente agressor e como tal, suscita uma série de reações que levam a alterações significativas no equilíbrio fisiológico do organismo, constituindo-se em um agente agressor complexo e multifatorial [104].

O grau de conversão das resinas termoestáveis é de aproximadamente 90%, significando que ao final da polimerização ainda restam monômeros no material. Segundo a literatura, no caso da resina DGEBA, os resíduos do monômero Bis-fenol A, podem ter influências no DNA humano [67,51].

6.5.1. Ensaio de citotoxicidade contra células de mamíferos

O ensaio de citotoxicidade representa a fase inicial dos testes de biocompatibilidade do material com potencial para aplicações médicas, sendo utilizado em uma primeira análise para detectar se o material sintético apresenta características de biomaterial quanto à sua interação com o tecido biológico. Esse ensaio é importante para o prosseguimento de outros testes “*in vitro*”, como: genotoxicidade, hemocompatibilidade e a realização de estudos “*in vivo*”, para análise do comportamento do material dentro do meio biológico, por exemplo, avaliação da sensibilidade (capacidade de distinção entre materiais tóxicos e não tóxicos) [98].

Os testes para avaliar os efeitos biológicos desfavoráveis ao uso de materiais metálicos, poliméricos, cerâmicos ou compósitos, em dispositivos médicos, são sugeridos pela norma ISO 10993. O teste de citotoxicidade “*in vitro*”, de acordo com a referida norma,

parte 1, deve ser um dos ensaios iniciais para avaliar a biocompatibilidade de qualquer biomaterial.[99]

O contato do biomaterial ou do seu extrato com uma cultura celular de mamíferos é à base dos testes de citotoxicidade “*in vitro*”. A verificação das alterações celulares é realizada por diferentes mecanismos, tais como, a incorporação de um corante vital ou a inibição da formação de colônias celulares. O parâmetro mais utilizado para avaliar a toxicidade do material é a viabilidade celular. As membranas celulares podem ser danificadas por muitas substâncias, resultando na diminuição da captura de um corante vital, sendo assim se faz necessário a utilização de um espectrofotômetro para quantificar as células vivas, danificadas ou mortas, efetuadas pela intensidade da cor da cultura celular [75]

O teste de citotoxicidade é vantajoso em relação à rapidez, à sensibilidade e ao baixo custo [75]

O nível de citotoxicidade dos polímeros epoxídicos pós-cura foi relativamente baixo, conforme pode ser observado na Figura 44. O material utilizado como controle positivo, solução de fenol, apresentou atividade citotóxica extremamente alta, pois praticamente não restaram colônias sobreviventes sobre a placa de controle. Para as redes poliméricas DGEBA/TETA, DGEBA/AEP, DGEBA/DETA, o percentual de colônias sobreviventes foi bem elevado, indicando que as resinas epoxídicas curadas apresentam uma baixa atividade citotóxica.

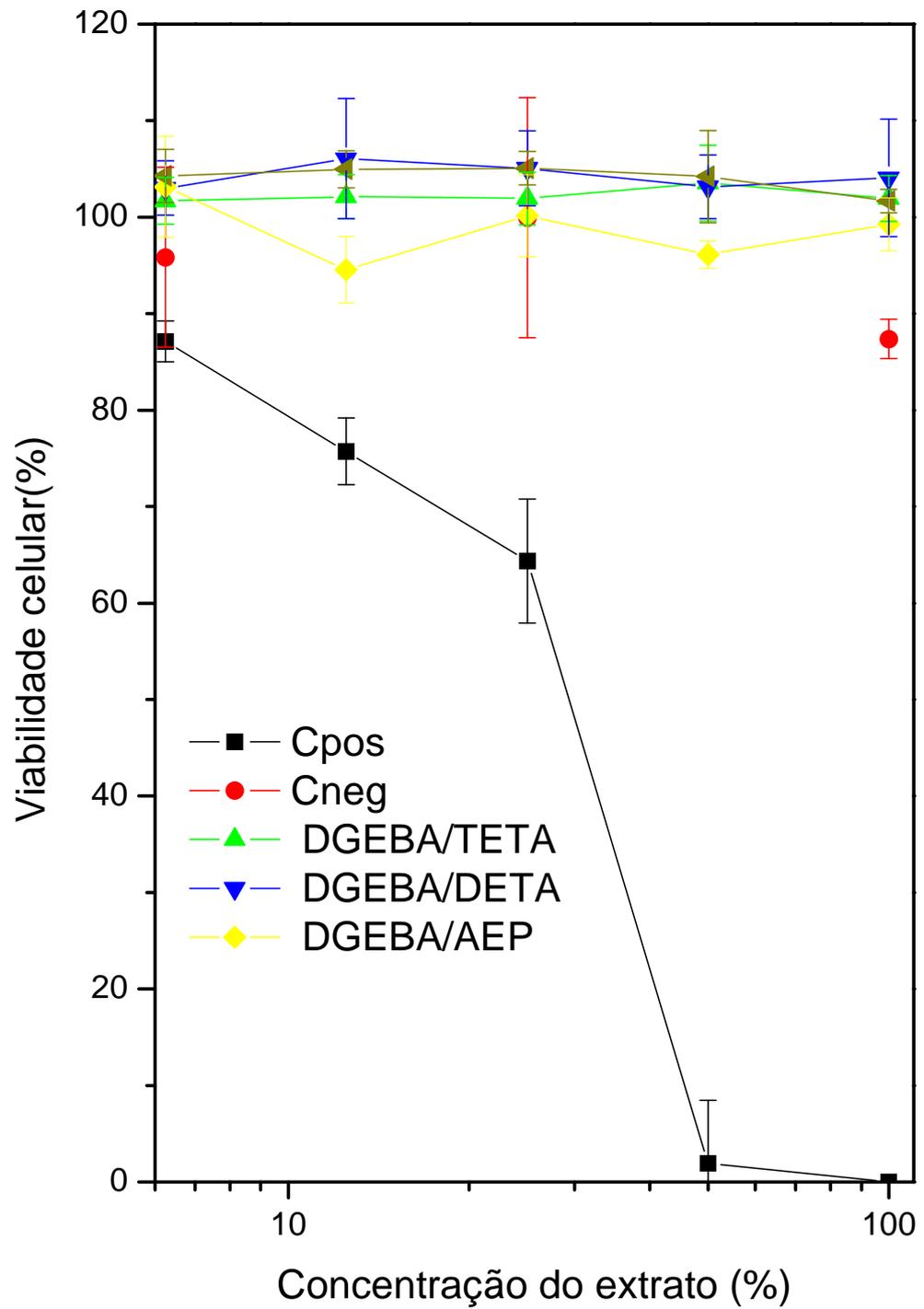


Figura 44 - Citotoxicidade dos extratos das redes pós-curadas de DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP. Controle negativo (UHMWPE) (●) e controle positivo (fenol) (■), em contato com células de ovário de hamster chinês (CHO).

6.5.2 Adsorção protéica

A adsorção protéica é o primeiro evento resultante da interação entre uma superfície sintética e o sangue. Ela pode influenciar nos demais eventos como adesão plaquetária e a formação de trombos [106-107]

A formação de uma interfase por adsorção protéica em uma superfície de um biomaterial é determinada por uma série de fatores influenciados pela termodinâmica do sistema que, através de variações entálpicas e entrópicas, dirigem o potencial termodinâmico de Gibbs para o processo de adesão e agregação da célula sanguínea na superfície do material sintético [108-109].

O equilíbrio de adsorção de uma proteína e suas mudanças conformacionais resultantes é expresso exatamente em função da energia livre de Gibbs, Equação 13.

$$\Delta G_{\text{ads}} = \Delta H_{\text{ads}} - T\Delta S_{\text{ads}} \quad (13)$$

Sendo que H, S e T, referem-se à entalpia, entropia e temperatura absoluta, respectivamente, e Δ às mudanças termodinâmicas ocorridas durante o processo.

A adsorção de proteínas, embora seja um processo de múltiplos parâmetros e de múltiplos estágios, pode ser descrita por uma única condição termodinâmica. Se ΔG for negativo, a adsorção de proteínas na superfície do biomaterial ocorrerá espontaneamente [108-109]. Entretanto, deve-se recordar que o caráter não temporal da termodinâmica impede o estabelecimento de uma avaliação mais criteriosa da dinâmica da interação célula sanguínea/superfície do biomaterial.

A importância atribuída à interação entre proteínas e superfícies é geralmente considerada como um passo fundamental para a aplicação bem sucedida de qualquer biomaterial. Após o contato com fluidos fisiológicos, muitas proteínas adsorvidas nas superfícies implantadas induzem a interação indireta das células com o material.

Para as estruturas de redes epoxídicas pós-curadas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP estudadas nesse trabalho, verificou-se a ocorrência de uma maior adsorção de HSA, comparada à adsorção de fibrinogênio conforme ilustrado na Figura 45, indicando uma tendência à não trombogenicidade dessas superfícies sintéticas. A adsorção de fibrinogênio tem grande importância no fenômeno da hemocompatibilidade dos materiais poliméricos uma vez que por ser um dos fatores da coagulação facilita a adesão plaquetária, participando de

reações de troca com outras proteínas importantes no mecanismo de coagulação sanguínea [106].

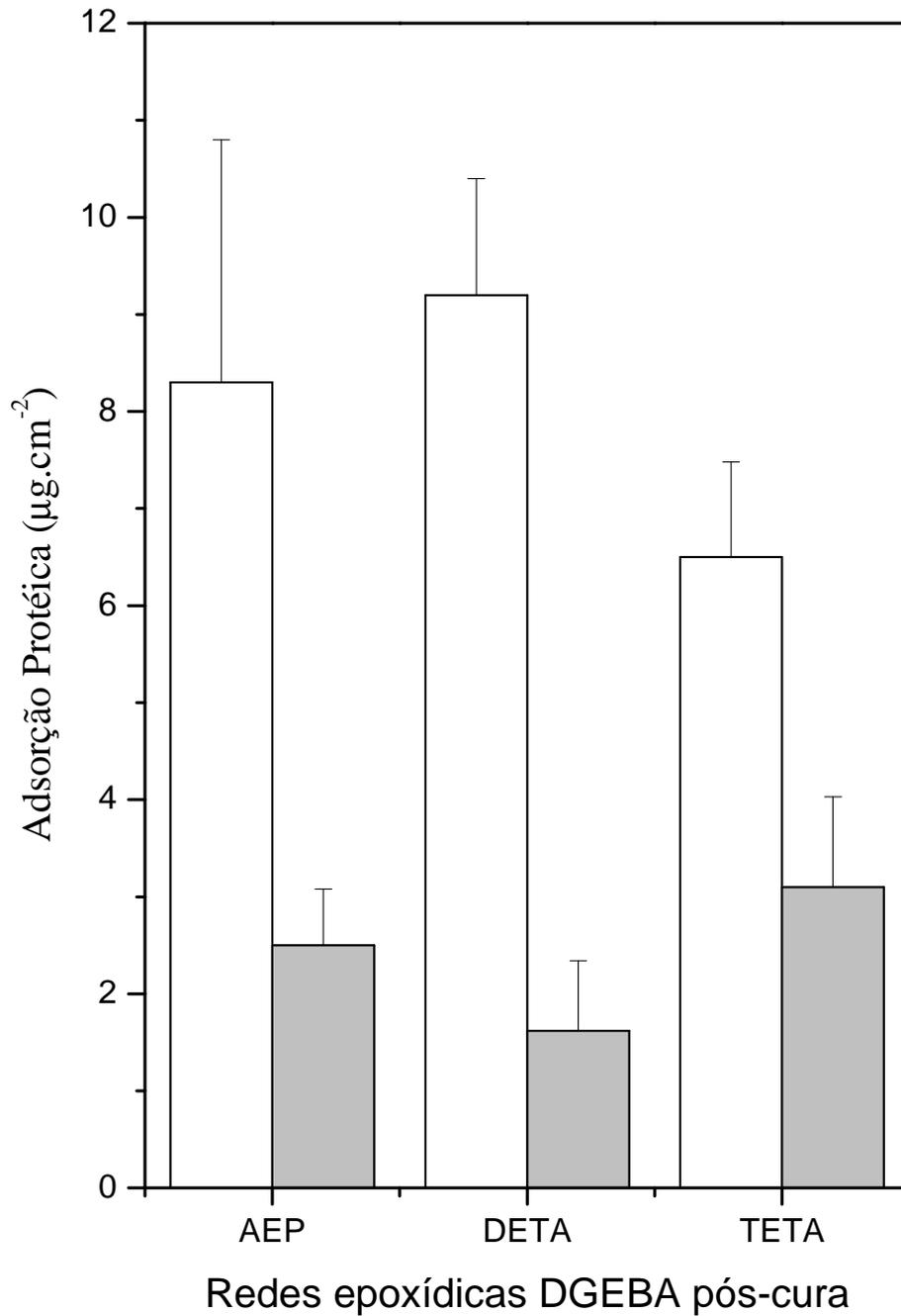


Figura 45 - Adsorção das proteínas séricas albumina humana (HSA) e fibrinogênio (HFB) sobre a superfície das redes epoxídicas DGEBA curadas com as amins AEP, DETA e TETA, respectivamente. Em branco e preto estão representados a adsorção de HSA e HFB, respectivamente ($p < 0,008$).

6.5.3. Hemocompatibilidade “*in vitro*” do sistema DGEBA/Aminas

A coagulação sanguínea é um fenômeno complexo; há pelo menos quinze fatores implicados no processo. A coagulação sanguínea não se inicia quando o sangue entra em contato com o ar, como se acreditou durante muito tempo. A sequência de eventos começa quando plaquetas encontram uma superfície rugosa, como a de um tecido lesado. Isso estimula a liberação de uma substância chamada tromboplastina. Essa substância pode ser liberada pelo próprio tecido lesado. O mesmo efeito ocorre quando as plaquetas tocam uma superfície de vidro, como a de um tubo de ensaio; esta é uma das razões que tornaram tão difícil analisar o processo natural [110]

A coagulação do sangue pode ocorrer através de duas vias básicas: intrínseca (em que os elementos necessários à coagulação já estão presentes no sangue) e extrínseca (em que há necessidade de um elemento externo ao sangue para que o processo). A via intrínseca e extrínseca conflui para uma via final comum [110].

Como se pode perceber, a via extrínseca é mais simples que a via intrínseca. Na via extrínseca, o início do processo de coagulação ocorre quando a tromboplastina tecidual é liberada devido à lesão do tecido biológico. A tromboplastina atua sobre o fator VII, na presença de Ca^{+2} , ativando-o. O fator VII ativado age sobre o fator X, já na via final comum. Na via intrínseca, a calicreína deflagra a ativação dos fatores XII, XI e IX, em cascata, ou seja, um ativa o seguinte numa sequência ordenada. O fator IX, em presença de cálcio e fator VIII (anti-hemofílico), ativa o fator X, iniciando a via final comum.

Na via comum, a protombina é ativada pelo fator X ativado (tenha o processo se iniciado pela via extrínseca ou pela via intrínseca) formando-se a trombina. A trombina converte Fibrinogênio em Fibrina, mas também ativa o fator XIII, responsável pela polimerização da fibrina. A cascata de coagulação do sangue é representada esquematicamente na Figura 46.

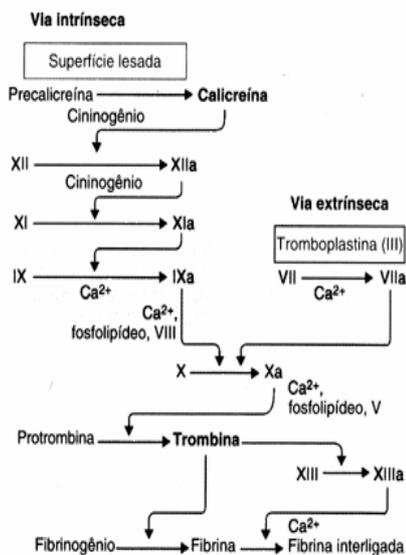


Figura 46 - Esquema da cascata de coagulação.

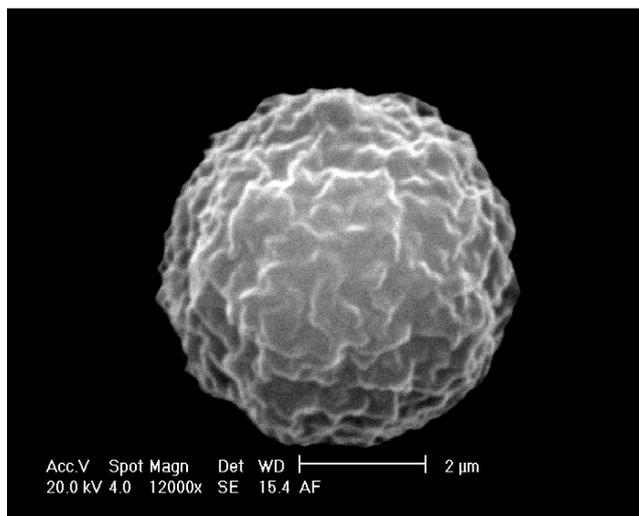
A cascata de coagulação é o principal fator bioquímico que limita a aplicação de polímeros bioativos diretamente na circulação sanguínea. Um polímero é considerado hemocompatível ou antitrombogênico se não houver ativação da cascata de coagulação intrínseca do sangue bem como ausência de plaquetas e leucócitos ativados aderidos em sua superfície. Na Tabela 17 são apresentados os fatores envolvidos na cascata de coagulação [111]

Tabela 17 - Fatores de coagulação sanguínea

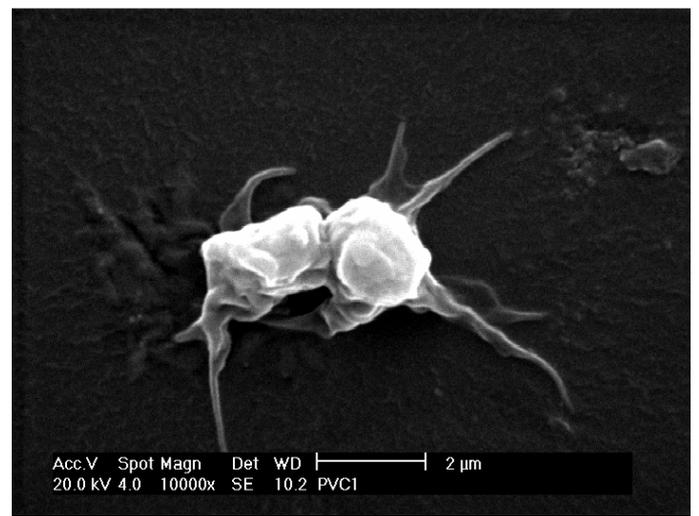
Fator	Nome comum
I	Fibrinogênio
II	Protombina
III	Tromboplastina
IV	Cálcio
V	Proacelerina
VII	Poconvertina
VIII	Fator anti-hemolítico
IX	Fator de Christmas
X	Fator Stuart ou Autoprotrombina III
XI	Antecedente tromplastínico do plasma
XII	Fator Hageman
XIII	Fator estabilizante de fibrina Precalicreína Cininogênio Fator de Von Willebrand Plaquetas

As células sanguíneas, durante o contato com a superfície sintética, estão sujeitas à ação de diversas forças que diferem das forças que atuam na circulação normal. As hemácias, os leucócitos e as plaquetas podem ser profundamente afetados pelo contato com essa superfície. Fenômenos, como a adesão plaquetária, são desencadeados dificultando significativamente a função das células sanguíneas [107].

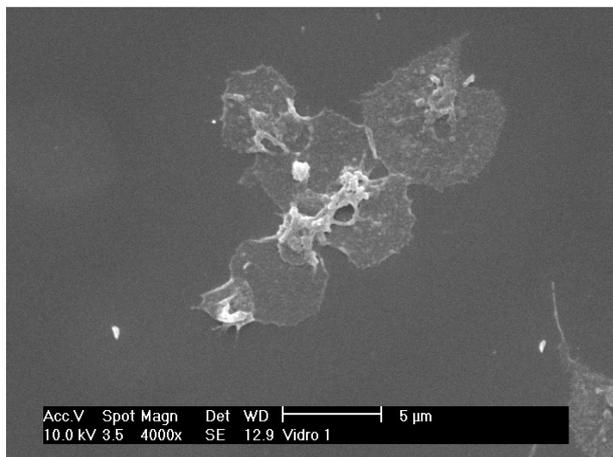
As plaquetas sanguíneas ou trombócitos são fragmentos de megacariócitos (células da medula óssea). São anucleadas, isto é, desprovidas de núcleo (assim como as hemácias), medem de 1,5 - 3,0 micrômetros de diâmetro e circulam no sangue com o formato de disco achatado quando não estão estimuladas, (Figura 47) [112]. Sua principal função é a formação de coágulo.



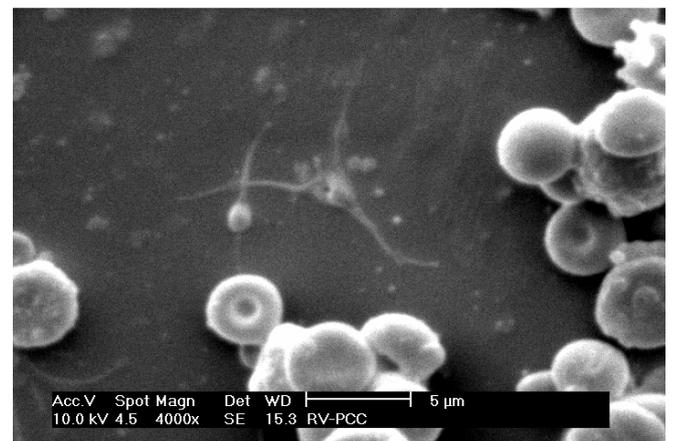
(A)



(B)



(C)



(D)

Figura 47 - Fotomicrografias (MEV) de plaquetas sanguíneas ou trombócitos interagindo com superfícies sintéticas: não ativadas em superfície de Teflon® (A), ativadas e agregadas em superfície de polietileno de baixa densidade (B), estágio final da agregação com ruptura de membrana e liberação dos fatores de coagulação em superfície de vidro (C) e trombos formado na superfície de vidro (D).

Estudos indicam que o processo de adesão plaquetária envolve a interação física ou química dos receptores de membrana desta célula com a superfície do material sintético [80]. Os receptores da membrana plaquetária, como a glicoproteína VI (GPVI) e complexo glicoproteína Ib-IX-V (GPIb-IX-V) interagem com a superfície do material sintético, promovendo a sua adesão [123].

A adesão de plaquetas na superfície do material sintético é medida pelo fator VII da coagulação sanguínea, podendo ser liberados alguns constituintes do agregado plaquetário dentro do plasma. Essas transformações estão sob o controle da prostaglandina, íons Ca^{+2} , AMP e ADP [110]. As plaquetas estão diretamente envolvidas em diversas patologias importantes, sejam essas síndromes ou quadros trombóticos graves como a trombose arterial.

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) realizada em algumas superfícies epoxídicas da rede TETA, após o contato com o sangue, (Figura 48), resultou na atividade de adesão plaquetária, sendo observado em pequenas áreas agregados de plaquetas.

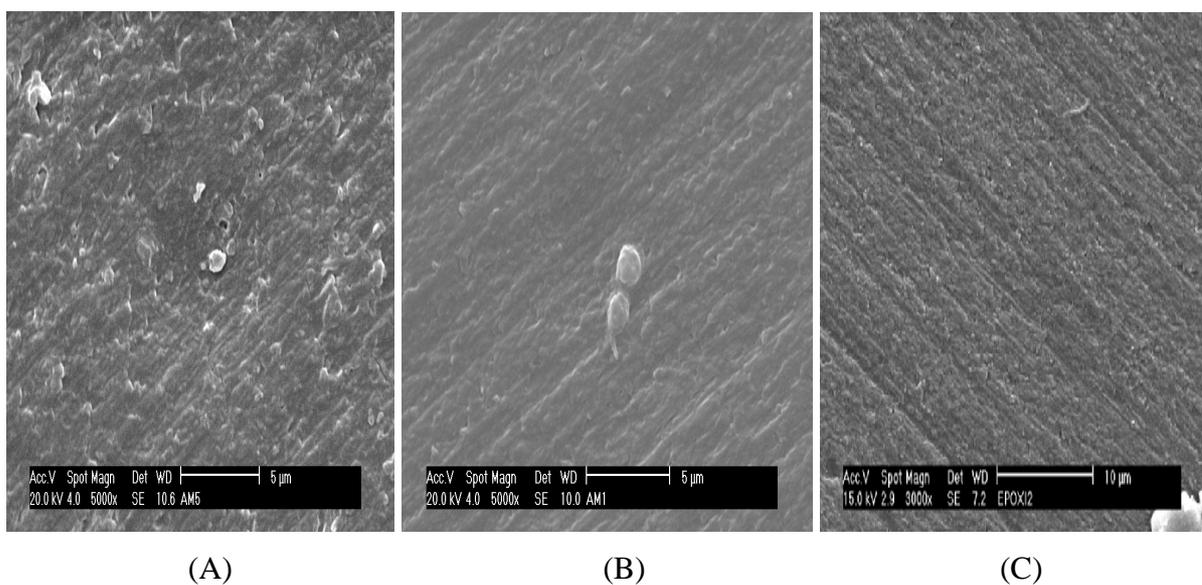


Figura 48 - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das superfícies de rede epoxídicas de DGEBA curadas com a amina TETA (A, B e C), após incubação em sangue humano fresco à 37°C por 180 s.

A Figura 49 mostra os resultados das análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) realizados em algumas superfícies epoxídicas das redes AEP e DETA após o contato com sangue fresco. Nessas análises não foi observada atividade de adesão plaquetária nas superfícies.

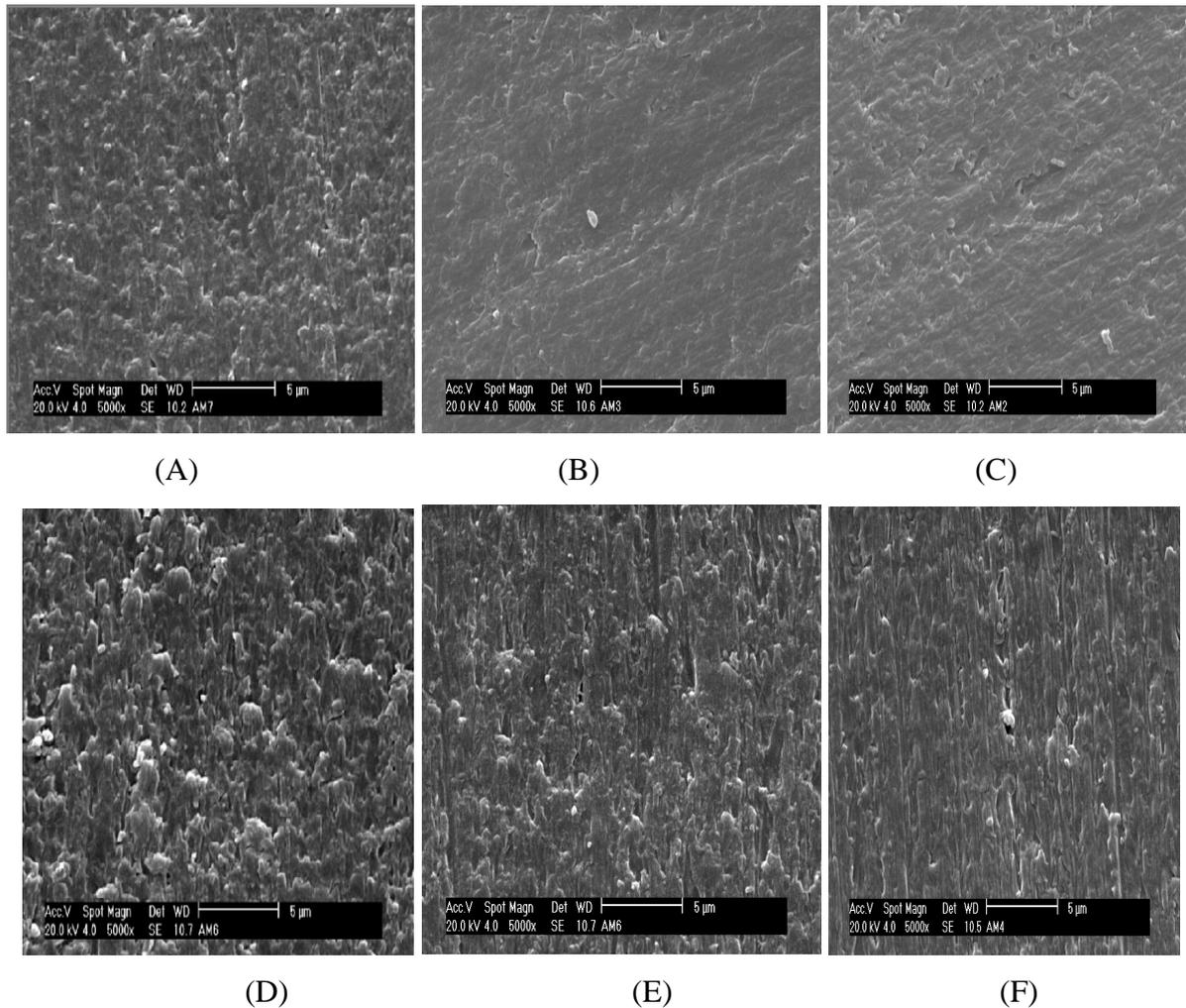


Figura 49 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das superfícies de rede epoxídicas de DGEBA curadas com as aminas AEP (A, B e C) e DETA (D, E e F), após incubação em sangue humano fresco à 37°C por 180 s.

As proteínas específicas e fosfolipídios da membrana plaquetária são de importância primordial para a aceleração e controle do processo de coagulação. Por sua vez, as plaquetas aderidas sobre a superfície sintética podem ser ativadas levando ao início de um conjunto de reações complexas que conduzem à formação de trombos [104].

Essa formação está diretamente relacionada à polimerização da fibrina e essa por sua vez é resultado da reação catalisada pelo fator VIII ativado, que se comporta como uma amidase. A fibrina polimerizada é insolúvel, ela arranja-se formando um retículo que aprisiona células do sangue formando um tampão ou coágulo cujo objetivo original seria o fechamento de uma solução de continuidade na parede do vaso. Quando o sistema é ativado dentro do vaso (ou na superfície de um material implantado), o coágulo obstrui o fluxo sanguíneo, sendo o processo chamado de trombose. O coágulo é o trombo.

O coágulo formado pode obstruir ou ser levado pelo fluxo sanguíneo comprometendo gravemente a saúde do paciente. A Figura 50 ilustra o mecanismo de polimerização da fibrina [111].

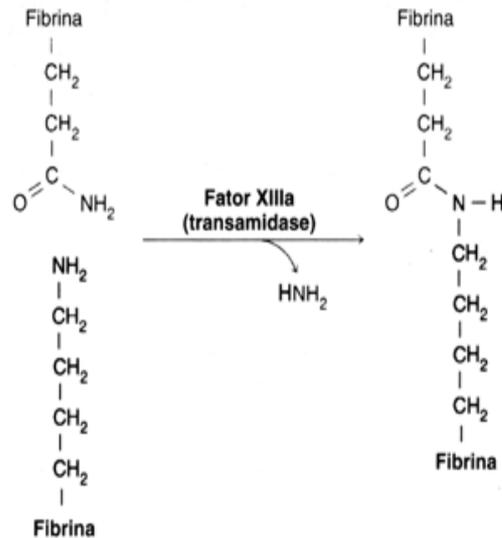


Figura 50 - Ilustração do mecanismo de polimerização da Fibrina.

Após 24 a 48 horas do início do processo de coagulação, em um processo denominado fibrinólise, o coágulo formado é reabsorvido simultaneamente com a cicatrização da parede do vaso sanguíneo. O processo de adesão de plaquetas é a primeira etapa do processo de formação de trombo. A Figura 51 ilustra a localização de plaquetas realizada por micrografias de epifluorescência nas superfícies das redes TETA (B), AEP (C) e DETA (D).

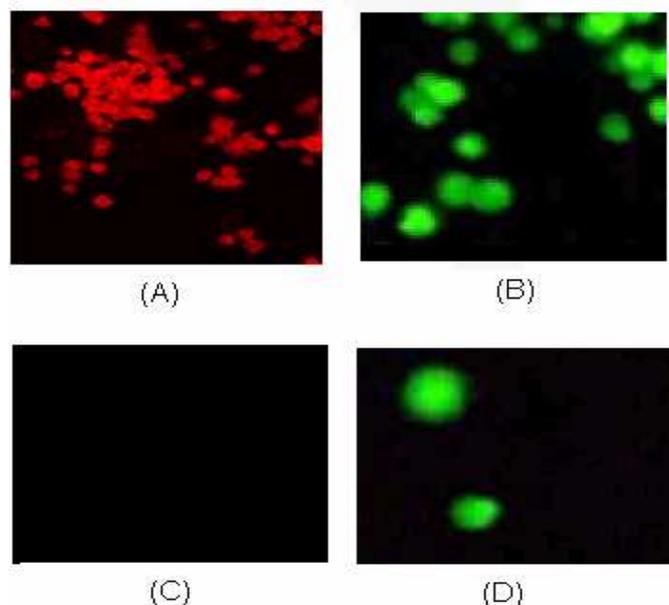


Figura 51- Micrografias de Epifluorescência das superfícies das redes epoxídicas. Em (A) – controle positiva vidro, (B) - rede Teta, (C) – rede AEP e (D)- rede DETA.

Os resultados das micrografias de epifluorescência mostram uma maior adesão plaquetária na superfície da rede TETA em comparação com as outras redes, isso se deve ao fato de uma maior adsorção de fibrinogênio em sua superfície. Porém, comparando-o com o controle positivo (vidro) a adesão plaquetária foi relativamente pequena.

A quantidade de trombos formado na superfície foi avaliada gravimetricamente através da Equação 14:

$$\text{Trombos (\%)} = \frac{W_t}{W} \cdot 100 \quad (14)$$

Sendo:

W_t o peso do trombos formados no vidro após 60 minutos (referência da coagulação total) e W representa o peso dos trombos formados nas superfícies dos sistemas epoxídicos após um certo tempo de reação. A relação de plaquetas aderidas por unidade de área e a velocidade de formação de trombos está representadas nas Figuras 52 e 53. Observa-se que a afinidade por HSA das redes de DGEBA pós-curadas com a amina TETA não foi suficiente para inibir a adesão plaquetária.

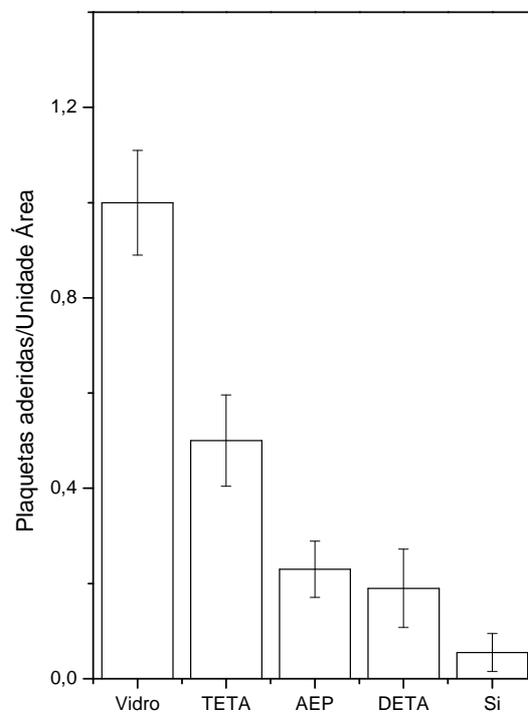


Figura 52 - Relação de plaquetas aderidas por unidade de área ($100.000 \mu m^2$), nas superfícies de rede do epóxi após exposição ao sangue humano. Vidro e silicone de uso medicinal (Si) foram usados como controle positivo e negativo, respectivamente.

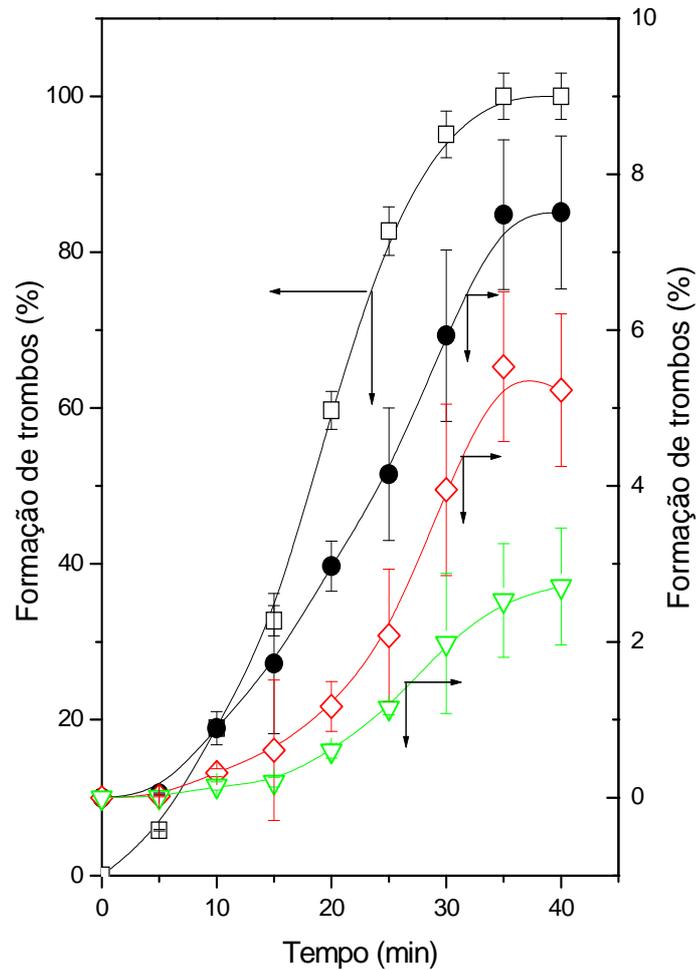


Figura 53 - Velocidade de formação de trombos nas redes de DGEBA reticuladas com as aminas TETA (●), DETA (◇) e AEP (▽). Vidro (□) foi utilizado como controle positivo.

6.6. Ensaio mecânico via Dureza Vickers

No estudo da ciência dos materiais, bem como no seu dimensionamento, são de grande importância vários parâmetros obtidos através dos ensaios mecânicos. Pode-se definir ensaio mecânico, como a observação do comportamento mecânico de um material quando submetido à ação de agentes externos, como por exemplo; um esforço mecânico. Dentre os ensaios de materiais, o ensaio de dureza possui extrema importância, pois fornece inúmeras informações sobre o material, o que permite trabalhar com maior confiabilidade e obter maior longevidade do mesmo em aplicações em ciências dos biomateriais [113].

A dureza de um material não é um conceito simples de se definir, podendo originar diversas interpretações. Num bom dicionário, dureza é qualidade ou estado de duro. Por sua vez, um material duro é definido como aquele difícil de penetrar ou de riscar, consistente, sólido. Observa-se, portanto, que essas definições não caracterizam o que é dureza para todas as situações, pois ela assume um significado diferente conforme o contexto em que é empregada [114].

É importante destacar que, apesar das diversas definições, um material com grande resistência à deformação plástica permanente também terá alta resistência ao desgaste, alta resistência ao corte e será difícil de ser riscado, ou seja, será duro em qualquer uma dessas situações. Os ensaios de dureza são realizados com maior frequência do que qualquer outro ensaio mecânico, pois são simples, mais baratos e não comprometem funcionalmente a peça ensaiada [115].

O ensaio de dureza de materiais teve um avanço excepcional entre o século XVII, quando se estimava a dureza das pedras preciosas friccionando-as com uma lima, e o século XX, quando em 1925, Smith e Sandland abriram caminho para a determinação de microdureza a partir do ensaio de dureza Vickers [116-118].

A dureza Vickers se baseia na resistência que o material oferece à penetração de uma pirâmide de diamante de base quadrada e ângulo entre faces de 136°, sob uma determinada carga. O valor de dureza Vickers (HV) é o quociente da carga aplicada “F” pela área de impressão “A” deixada no corpo ensaiado [114]. A máquina que faz o ensaio Vickers não fornece o valor da área de impressão da pirâmide, mas permite obter, por meio de um microscópio acoplado, as medidas das diagonais “d₁” e “d₂” formadas pelos vértices opostos da base da pirâmide. Conhecendo as medidas das diagonais e a sua média “d”, é possível calcular a dureza Vickers através da Equação (15) [114].

$$HV = \frac{1,8544 \times F}{d^2} \quad (15)$$

A fórmula para o cálculo da dureza Vickers em função da profundidade h da penetração no material é mostrada na Equação 16 [119]:

$$HV = \frac{1,8544 \times F \times \cos^2 74^\circ}{4 \times h^2 \times \cos^2 16^\circ} \quad (16)$$

Os Resultados das análises de microdureza dos sistemas epoxídicos curados e pós-curados são apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 - Resultados das análises de Dureza Vickers dos sistemas epoxídicos estudados.

Sistema Resina/ Aminas	TETA 13 phr 24h	TETA 14 phr 24h	TETA 14 phr Pós-cura	DETA 10 phr 24h	DETA 11 phr 24h	DETA 11 phr Pós-cura	AEP 21 phr 24h	AEP 23 phr 24h	AEP 23 phr Pós-cura
Dureza Vickers (MPa)	149,0	151,02	159,8	145,1	154,9	166,7	149,0	164,75	177,9

Os menores valores de dureza foram obtidos para as redes epoxídicas curadas (24 h) preparadas na razão não estequiométrica que correspondem aos sistemas TETA (13 phr), DETA (10 phr) e AEP (21 phr). Dentre os sistemas curados (24 h) e preparados nas razões estequiométricas: TETA (14 phr), DETA (11 phr) e AEP (23 phr), obteve-se um maior valor de dureza para o sistema AEP. Os sistemas pós-curados e preparados estequiometricamente apresentaram os maiores valores de dureza.

Os aumentos percentuais de dureza dos sistemas epoxídicos estequiométricos curados, TETA, DETA e AEP, em relação aos mesmos sistemas estequiométricos pós-curados, são respectivamente: 5,5%, 7,1% e 7,39%. Isso demonstra que as melhores propriedades mecânicas são obtidas para as composições estequiométricas pós-curadas, porque nessas condições a conversão máxima é alcançada obtendo uma estrutura de rede mais completa. [120-121].

A influência do endurecedor nas propriedades mecânicas é bem evidenciada pelos resultados apresentados. Isto pode ser explicado a partir das estruturas químicas destes agentes de cura e sua relação na formação de diferentes estruturas de redes e diferentes densidades de ligações cruzadas.

De acordo com a literatura, a formação de cadeias menores diminui a densidade de ligações cruzadas, conferindo ao composto melhores propriedades mecânicas, como: dureza, flexibilidade, resistência à tração, etc. [120].

Os agentes de cura trietilenotetramina (TETA) e dietilenotriamina (DETA) apresentam alta funcionalidade, 6 e 5, respectivamente, onde os grupos hidrogênicos ativos do tipo amina primária e secundária na estrutura química da molécula destes endurecedores estão localizados entre sequências de grupos etilênicos numa cadeia linear. Nessa estrutura linear, os grupos hidrogênicos ativos do tipo amina primária estão localizados nos extremos da cadeia.

Essas estruturas das moléculas dos agentes de cura, baseadas numa cadeia linear com grupos funcionais ativos espaçados a uma distância curta na cadeia principal confere alta funcionalidade, e como consequência disso, a estrutura de rede do material termorrígido apresenta relativa rigidez e baixa mobilidade molecular devido à pequena separação entre os pontos de entrecruzamento que caracterizam esta rede tridimensional.

A molécula de N-(2-aminoetil) piperazina (AEP) apresenta na sua estrutura química uma combinação de estruturas alifáticas do tipo linear e cíclica. A estrutura linear está baseada numa única cadeia etilênica com grupos hidrogênicos ativos do tipo amina primária em um extremo da cadeia. Nessa cadeia etilênica, o outro extremo está ligado a um átomo de nitrogênio do tipo amina terciária pertencente a uma estrutura cíclica do tipo piperazina, e finalmente o extremo oposto da estrutura cíclica corresponde a um nitrogênio do tipo amina secundária. Essa combinação estrutural e a menor funcionalidade (Funcionalidade igual a 3), dessa molécula, quando comparada aos dois endurecedores anteriores, garantem uma estrutura de rede que apresenta maior separação entre os pontos de entrecruzamento e menor densidade de ligações cruzadas, o que lhe confere uma maior dureza.

Uma comparação entre os sistemas estudados e alguns materiais já utilizados em próteses fixas odontológicas pode ser visto na Tabela 19.

Tabela 19 - Comparativo entre materiais já utilizados em próteses (sistemas de resina acrílica composta com carga cerâmica) e os desenvolvidos nesse trabalho. Em ordem decrescente de dureza, da esquerda para a direita.

	Art Glass* (Kulzer)	Solidex* (Shofu)	Vita Zeta LC* (Vita)	Sinfony* (Espe)	TETA Pós-cura 14 phr	DETA Pós-cura 11 phr	AEP Pós-cura 23 phr
Dureza Vickers (MPa)	441	422	265	216	159,8	166,7	177,9

*FONTE: Folheto de divulgação do produto Solidex (Shofu Dental Corporation Kyoto Japão). [122]

Nota-se pelos resultados apresentados na Tabela 19, que as redes TETA, DETA e AEP pós-curadas e preparadas na razão estequiométrica apresentam uma dureza menor comparada à dureza de alguns produtos já disponíveis no mercado, porém, as resinas acrílicas comercializadas são compostas com carga mineral que melhoram as suas propriedades mecânicas, enquanto os três sistemas epoxídicos estudados nesse trabalho são isentos de qualquer composto inorgânico, e mesmo assim, os valores obtidos de dureza para os sistemas epoxídicos ficaram próximos dos valores de dureza dos sistemas acrílicos carregados com carga mineral.

Os valores de dureza Vickers obtidos para os cilindros dos sistemas epoxídicos DETA, AEP e TETA, permitem que os cilindros sejam usinados na forma de parafusos com as dimensões dos utilizados em implantes ortopédicos, Figura 54.



Figura 54 - Parafusos obtidos através da usinagem de cilindros do sistema DGEBA/ DETA.

Segundo a literatura, é possível obter uma melhoria significativa das propriedades mecânicas dos sistemas epoxídicos com a adição de compostos fibrosos à matriz polimérica, como por exemplo: fibras de carbono[52].

Um material utilizado para a fabricação de próteses ortopédicas e/ou odontológicas ou como um cimento ósseo, precisa resistir aos esforços do corpo e ao mesmo tempo não ser extremamente rígido ao ponto de não acompanhar a flexibilidade do osso, como no caso de uma prótese metálica [13]. Uma dureza muito elevada do material pode levar a degeneração óssea, porém uma dureza muito baixa levaria a um desgaste muito rápido do material implantado [60].

Capítulo 7- Conclusões

O comportamento físico, químico e biológico de resinas epoxídicas DGEBA curadas com as aminas alifáticas TETA, DETA e AEP foram estudados através de técnicas analíticas que envolvem a volumetria ácido-base, análise térmica, ensaios mecânicos e de biocompatibilidade. Os resultados obtidos permitem concluir que:

- 1) Os eqg^{-1} de hidrogênios ativos presentes nos agentes de cura TETA, DETA e AEP utilizados neste trabalho foram 28, 20 e 43 eqg^{-1} , respectivamente.
- 2) O eqg^{-1} epoxídico da resina DGEBA foi igual a 187 eqg^{-1} .
- 3) Os resultados das razões estequiométricas baseados nos valores de eqg^{-1} dos três sistemas epoxídicos estudados a saber: DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP, são respectivamente: 13 phr, 11phr e 23 phr.
- 4) A análise por calorimetria exploratória diferencial dos sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP preparados na razão estequiométrica e curados por 24 horas indicaram a presença de calor residual, significando que mesmo após o processo de cura ainda havia grupos amínicos e epoxídicos que não reagiram. Com base neste resultado, novas composições das três misturas foram preparadas eliminando-se o excesso dos grupos amínicos. As composições das novas formulações dos sistemas DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP foram iguais a 13 phr, 10 phr e 21 phr, respectivamente.
- 5) Os ensaios de dureza Vickers mostraram que os sistemas pós-curados e preparados estequiometricamente apresentaram os maiores valores de dureza. Os aumentos percentuais de dureza dos sistemas epoxídicos estequiométricos curados, DGEBA/TETA, DGEBA/DETA e DGEBA/AEP, em relação aos mesmos sistemas estequiométricos pós-curados, foram: 5,5%, 7,1% e 7,39%, respectivamente. Estes resultados demonstram que as melhores propriedades mecânicas são obtidas para as composições estequiométricas pós-curadas, uma vez que, nessas condições a conversão máxima é alcançada obtendo uma estrutura de rede mais completa.
- 6) Dentre os sistemas pós-curados e preparados nas razões estequiométricas, o sistema DGEBA/AEP foi o que apresentou um maior valor de dureza.

- 7) A influência do endurecedor nas propriedades mecânicas é bem evidenciada pelos resultados apresentados. Este comportamento pode ser explicado com base na formação de diferentes estruturas de redes e diferentes densidades de reticulações, relacionadas à funcionalidade de cada agente de cura. A menor funcionalidade, (funcionalidade igual a 3), da molécula de AEP, quando comparada aos outros dois endurecedores, garante uma estrutura de rede que apresenta maior separação entre os pontos de entrecruzamento e menor densidade de ligações cruzadas, o que lhe confere uma maior dureza.
- 8) A dureza do sistema epoxídico DGEBA/ AEP, em comparação com um dos materiais utilizados em próteses (sistemas de resina acrílica composta com carga cerâmica) comercializado, mostra que a sua dureza em relação a essa resina é apenas 17,64% inferior. Esses valores de dureza obtidos para os três sistemas epoxídicos permitem que o material seja trabalhado, por exemplo, na confecção de parafusos cirúrgicos.
- 9) O estudo das propriedades de biocompatibilidade mostraram que as redes epoxídicas DGEBA/TETA, DGEBA/AEP e DGEBA/DETA são materiais que apresentam baixa citotoxicidade para as células de mamíferos.
- 10) A microscopia eletrônica de varredura evidenciou que o sistema DGEBA/TETA é o mais propenso à adesão plaquetária, provavelmente devido à adsorção da proteína HFb. Nesse sentido, a formação de trombos mostrou que a afinidade por HSA das redes de DGEBA pós-curadas com a amina TETA não foi suficiente para inibir a adesão de plaquetas do sangue.

Considerando todos os testes realizados nos três sistemas epoxídicos, podemos afirmar que as redes DETA, AEP e TETA apresentam propriedades biocompatíveis adequadas para o desenvolvimento de materiais destinados à área médica, particularmente revestimentos compatíveis com o sangue. Entretanto, deve ser observado que aplicações na medicina ortopédica e ortodôntica exigem a melhoria nas propriedades mecânicas do material.

Capítulo 8 - Perspectivas futuras

As resinas epoxídicas estão entre os materiais mais versáteis da tecnologia de polímeros sendo a resina bifuncional éter diglicídico do bisfenol-A (DGEBA) reticulada por aminas, um dos sistemas epóxi mais utilizados como matriz em compósitos poliméricos. A utilização dos sistemas epoxídicos baseados na resina DGEBA e os agentes de cura amínicos TETA, DETA e AEP, utilizados neste trabalho, demonstram ser uma vertente promissora quanto ao desenvolvimento de novos biomateriais.

Para dar continuidade a essa linha de pesquisa propõe-se:

1. Avaliar o módulo elástico das composições epoxídicas estudadas neste trabalho.
2. Investigar os efeitos da adição de cargas inorgânicas a exemplo das biocerâmicas, quartzo e sílica nas composições apresentadas objetivando-se a melhoria das propriedades mecânicas como a dureza Vickers e o módulo elástico.
3. Estudar os efeitos da adição de biocerâmicas nos três sistemas epoxídicos quanto ao processo de crescimento do tecido ósseo e das propriedades mecânicas.
4. Avaliar os sistemas epoxídicos quanto a força de adesão e molhabilidade, visando à aplicação destes materiais como cimentos ósseos.
5. Desenvolver sistemas amínicos para cura à temperatura fisiológica (37 °C).
6. Incorporar agentes antimicrobianos a exemplo de antibióticos e compostos naturais como o eugenol para o desenvolvimento de cimentos ortopédicos bioativos.

Dados da Associação Brasileira de Importadores e Distribuidores de Implantes (Abraidi) indicam que cerca de 200 mil pessoas vivem em cadeiras de rodas por falta de um implante ortopédico no Brasil e outras tantas podem estar definitivamente imobilizadas por terem implantado próteses de má qualidade. Vale ressaltar que a Abraidi representa cerca de 1640 empresas fabricantes, importadoras e distribuidoras de produtos de ortopedia. Ainda segundo o INTO – Instituto Nacional de Traumatologia-Ortopedia, vinculado ao Ministério da Saúde (MS), dez mil pacientes aguardam um implante ortopédico. As cirurgias ortopédicas são consideradas procedimentos de alta complexidade pelo MS, que gastou com elas cerca de apenas 5% do orçamento de R\$ 12 bilhões destinados a gastos com ortopedia, o equivalente a R\$ 645 milhões (2003).

Vale ressaltar que, nos Estados Unidos, que têm uma população de 290 milhões de habitantes, são realizadas cerca de 850 mil cirurgias anuais para implantes ortopédicos. O Brasil, com cerca de 180 milhões de habitantes realiza apenas 15 mil. Em 2006, o INTO realizou cerca de 3,5 mil cirurgias de quadril e joelho. Em 2006, 581 pacientes aguardavam a fila de cirurgias de quadril. Uma estatística muito triste aponta que muitos pacientes morrem ou ficam para sempre sem andar, principalmente aqueles que dependem do sistema público de saúde.

A continuidade dessa linha de pesquisa parece ser relevante para o desenvolvimento de novos materiais para a área ortopédica em nosso país. Este projeto poderá possibilitar o desenvolvimento de tecnologia para a obtenção de formulações de cimentos ósseos para a área ortopédica, técnica dominada por poucos países. Isso permitirá, futuramente, uma redução de preços significativa e essencial para a população de baixa renda, uma vez que o material utilizado atualmente é importado e demasiado caro para grande parte de nossa população.

Capítulo 9 - Referências bibliográficas

- [1] SILVER, F.; DOILLON, C., *Biocompatibility, Interactions and Implantable Materials 1*. New York, VCR, (1989).
- [2] PARK, J., *Biomaterials Science and Engineering*. Plenum Press, New York, (1984).
- [3] <http://www.sric-bi.com/Explorer/BM.shtml>, acessado em 12/02/2008.
- [4] LAET, C.E.; POLS, H.A., *Fractures in the elderly: epidemiology and demography Best Pract Res Clin Endocrin. Metab.*,14:171-9, (2000).
- [5] YOUNG, L.; AHMAD H., *Trauma in the elderly: a new epidemic? Aust NZ., J. Surg.*; 69: 584-6, (1999).
- [6] SCHWAB, C.W.; KAUDER, D.R., *Trauma in the geriatric patient. Arch Surg.*,127:701-6, (1992).
- [7] JACOBS D.G., *Special considerations in geriatric injury. Curr Opin Crit Care*, 9:535-9, (2003).
- [8] <http://www.biomet.com>, acessado em 18/02/2008.
- [9] *National Osteoporosis Foundation, Physician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis*. Exempta Med., Belle Mead, NJ, 1998.
- [10] www.saude.gov.br/sctie/decit, acessado em 15/01/08.
- [11] www.baumer.com.br, acessado em 14/02/08.
- [12] GINEBRA, M.P.; TRAYKOVA, T. and PLANELL, J. A., *Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems: A review. J. of Control. Release*, 113 (2): 102-110, (2006).
- [13] SIMÕES, J. A.; MARQUES, A. T.; JERONIMIDIS, G., *Design of a controlled-stiffness composite proximal femoral prosthesis. Composit. Sci. and Technol.*, 60 (4): 559-567, (2000).
- [14] PASSUTI, N.; And GOUIN, F., *Antibiotic-loaded bone cement in orthopedic surgery. J. Bone Spine*, 70 (3): 169-174, (2003).
- [15] LEWIS, G.; JANNA, S. and BHATTARAM, A., *Influence of the method of blending an antibiotic powder with an acrylic bone cements powder on physical, mechanical, and thermal properties of the cured cements. Biomaterials*, 26 (20): 4317-4325, (2005).

- [16] VIRTO, M.R.; FRUTOS, P.T.; SUSANA F.G., *Gentamicin release from modified acrylic bone cements with lactose and hidroxypropylmethylcellulose*. *Biomaterials*, 24 (1): 79-87, (2003).
- [17] GUELCHER, S.A.; SRINIVASAN, A.; DUMAS, J. E., *Synthesis mechanical properties, biocompatibility, and biodegradation of polyurethane networks from lysine polyisocyanates*. *Biomaterials*, 35 (2): 1-14, (2008).
- [18] THEODORA, S.T.; YANNIS; F.M., *Protein–material interactions: From micro-to-nano scale*. *Mater. Sci. and Eng.*, 21: 61-70, (2008).
- [19] DOUGHERTY, P.J; CARTER, P.R.; SELIGSON, D., *Orthopaedic surgery advances resulting from World War II*. *J Bone Joint Surg. Am.*, 86: 176-81, (2004).
- [20] CHARNLEY, J., *Anchorage of the femoral head prosthesis to the shaft of the femur*. *J Bone Joint Surg. Br.*, 42: 28-30, (1960).
- [21] DONKERWOLCKE, M.F.B.; MUSTER, D., *Tissues and bone adhesives-historical aspects*. *Biomaterials*, 19 (16): 1461 – 1466, (1998).
- [22] MOURSI, A.M.; WINNARD, A.V.; WINNARD, P.L.; LANNUTTI, J.J.; SEGHI, R.S., *Enhanced osteoblast response to a polymethylmethacrylate–hydroxyapatite composite*. *Biomaterials*, 23: 133-144, (2002).
- [23] BOESEL, L.F.; REIS, R.L., *A review on the polymer properties of Hydrophilic, partially Degradable and Bioactive acrylic Cements (HDBC)*. *Progres. in Polym. Sci.*, 33 (2): 180-190, (2008).
- [24] RUSEN, E.Z.; ZECHERUA, C.; MARCULESCU, T. FILMON, B.; CHAPPARD, R.; BADULESCU, D.; CINCUA, R., *Synthesis and characterization of core–shell structures for orthopaedic surgery*. *J. of Biomech.*, 32: 5533-5543, (2007).
- [25] CORCHON, G.M.A.; SALVADO, M.T.; COLLIA, B.J.F.P.; BLANCA, J.A.V.; SAN, J. R., *Injectable and self-curing composites of acrylic bioactive glass and drug systems. A Histomorphometric analysis of the behaviour in rabbits*. *Biomaterials*, 27 (9): 1778-1787, (2006).
- [26] GARCIA, J.M.P.; JORGE, H.E.; ROCHA, A.; MAESTRO, M.; CASTILLO-OLIVARES J.L; MILLAN, I., *Comparative study of the mechanical behaviour of a cyanoacrylate and a bioadhesive*. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 15 (2):109-115, (2004).
- [27] CAROLI, A.; MARQUES A.P.; VAZ, F., *An experimental study of a cyanoacrylate biological adhesive in view of its use in the fixation of various fractures of the fingers*. *Polymer*, 16 (2): 138-145, (1997).

- [28] BONZANI, I.C.; ADHIKARI, R.H.; SHADI, M.R.; GUNATILLAKE, P.; STEVENS, M.M., *Synthesis of two-component injectable polyurethanes for bone tissue engineering*. *Biomaterials*, 28 (3): 423-433, (2007).
- [29] www.cirurgiasdacoluna.com.br/tecnicascirurgicas, acessado em 27/11/2008.
- [30] PROVENZANO, M.J.; MURPHY, K.P.J.; RILEY, L.H., *Bone Cements: Review of their physiochemical and biochemical properties in percutaneous vertebroplasty*. *AJNR Am J Neuroradiol*, 25: 1286–1290, (2004).
- [31] FRUTOS, C.P.; DIEZ, P.E.; BARRALES-RIENDA, J.M.; FRUTOS, G., *Validation and in vitro characterization of antibiotic- loaded bone cement release*. *Int. J. of Pharm.*, 209 (1-2): 15-26, (2000).
- [32] RUIZ, D.S.M.; BURKHARDT, K.; JEAN, B.; MUSTER, M.; MARTIN, J.B.; BOUVIER, J.; FASEL, J.H.D.; RUFENACHT, D.A.; KURT, A.M., *Pathology finding with acrylic implants*. *Bone, Supp.*, 25 (2), Supp. (1): 85S - 90S, (1999).
- [33] OGAWA, C.A.; PLEPIS, A.M., *Liberção in vitro de cloridrato de ciprofloxacina em compósitos hidroxiapatita: colágeno*. *Polím. Ciência e Tecnol.*, 12 (2): 115-122, (2002).
- [34] RIES, M.D.; YOUNG, E.; AL-MARASHI, L.; GOLDSTEIN, P.; HETHERINGTON, A.; PETRIE, T.; PRUITT, L.; *In vivo Behavior of acrylic bone cement in total hip arthroplasty*. *Biomaterials*, 27 (2): 256-261, (2006).
- [35] DEMIAN, H.W.; MC. DERMOTT, K., *Regulatory perspective on characterization and testing orthopedic bone cements*. *Biomaterials*, 19 (17): 1607-1618, (1998).
- [36] MURPHY, B.P.; PRENDERGAST, P. J., *On the magnitude and variability of the fatigue strength of acrylic bone cement*. *Int. J. of Fatigue*, 22 (10): 855-864, (2000).
- [37] CERVANTES-UCA, J.M.; VAZQUEZ-TORRESA, H.; CAUICH-RODRIGUEZ, J.V.; VAZQUEZ-LASAC, B.; BARRIOC, J.S.R., *Comparative study on the properties of acrylic bone cements prepared with either aliphatic or aromatic functionalized methacrylates*. *Biomaterials*, 26: 4063–4072, (2005).
- [38] BETTENCOURT, A.; CALADO, A.; AMARAL, J.; ALFAIA, A.; VALE, F.M.; MONTEIRO, J.; MONTEMOR, M.F.; FERREIRA, M.G.S.; CASTRO, M., *Surface studies on acrylic bone cement*. *Int. J. of Pharm.*, 278(1): 181 – 186, (2004).
- [39] MOUSA, W.F.; KOBAYASHI, M.; SHINZATO, S., KAMIMURA, M.; NEO, MASASHI, S.Y; NAKAMURA, T., *Biological and Mechanical properties of PMMA based bioactive bone cements*. *Biomaterials*, 21 (21): 2137-2146, (2000).
- [40] BUMA, P.; RAMRATTAN, N.N.; TIENEN, T.G.V.; VETH R.P.H., *Tissue engineering of the meniscus*. *Biomaterials*, 25: 1523–1532, (2004).

- [41] MIAO, X.; HU, Y.; LIU, J.; WONG, A. P., *Porous calcium phosphate ceramics prepared by coating polyurethane foams with calcium phosphate cements*. Mater. Lett., 58 (3-4): 397-402, (2004).
- [42] SRIVASTAVA, V.K.; RASTOGI, A.; GOEL, S.C.; CHUKOWRY, S.K., *Implantation of tricalcium phosphate-polyvinyl alcohol filled carbon fiber reinforced polyester resin composites into bone marrow of rabbits*. Mater. Sci. and Eng., A. 448 (1-2): 335-339, (2007).
- [43] MAITY, T.; SAMANTA, B. C.; DALAI, S.; BANTHIA, A. K., *Curing study of epoxy resin by new aromatic amine functional curing agents along with mechanical and thermal evaluation*. Mater. Sci. and Eng., A, 464 (1-2): 38-46, (2007).
- [44] UN-JUN, H.; UN-JUNG, Y.; SU-KYOUNG, K.; JAE-HYOUNG, Y.; SOON-CHUL, M.; SAE-CHUL, K.; YEON-PYO, H., *Developmental Toxicity by Exposure to Bisfenol A Diglycidyl Ether during gestation and lactation period in sprague-dawley male rats*. J Prev Med, 40 (2): 151-161, (2007).
- [45] JIN, F-L.; PARK, S-J., *Impact-strength improvement of epoxy resins reinforced with a biodegradable polymer*. Mater. Sci. and Eng., A, (2007).
- [46] PEREIRA, D.S.; FILHO, N.L.D.; VECCHI, G.D., *Caracterização físico-química e mecânica do sistema Éster de Silsexquioxano/ resina epóxi DGEBA/dietilenotriamina*, Rev. Mater., 10 (2): 317 – 330, (2005).
- [47] BARCIA, F.L.; AMARAL, T.P.; SOARES, B.G., *Synthesis and of epoxy resin modified with epoxy-terminated liquid polybutadiene*. Polym., 44 : 5811-5819, (2003).
- [48] D' ALMEIDA, J.R.M.; MONTEIRO, S., *The influence of the amount of hardener on the tensile mechanical behavior of on epoxy system*. Polym. for Adv. Technol., 9: 216-221, (1998).
- [49] PASCAULT, J.P.; SAUTEREAU, H.; VERDU, J.; WILLIAMS, R.J.J., *“Thermosetting Polymers”*. Marcel Dekker, Inc.,(2002).
- [50] WAN, Y.Z.; WANG, Y.L.; HUANG, Y.; HE, B.M.; HAN, K.Y., *Hygrothermal aging behaviour of VART Med three dimensional braided carbon-epoxy composites under external stresses*. Composites: Part A. Appl. Sci. and Manufact., 36 (8): 1102–1109, (2005).
- [51] FUJIHARA, K.; TEO K.; GOPALA, R.; LOHB, P.L.; GANESHB, V.K.; RAMAKRISHNA, S.; FOONG, K.W.C.; CHEW C.L., *Fibrous composite materials in dentistry and orthopaedics: review and applications*. Compos. Sci. and Technol., 64: 775–788, (2004).

- [52] XU, Z.; HUANG, Y.; ZHANG, C.; ZHANG, L.L.Y.; WANG, L., *Effect of c-ray irradiation grafting on the carbon fibers and interfacial adhesion of epoxy composites*. Compos. Sci. and Technol., 67: 3261–3270, (2007).
- [53] WAN, Y.Z.; WANG, Y.L.; HUANG, Y.; ZHOU, F.G.; HE, B.M.; CHEN, G.C.; HAN, K.Y., *Moisture sorption and mechanical degradation of VART Med three-dimensional braided carbon–epoxy composites*. Compos. Sci. and Technol., 65 (7-8): 1237–1243, (2005).
- [54] LUO, H.L.; LIAN, J.J.; WAN, Y.Z.; HUANG, Y.; WANG, Y.L.; JIANG, H.J., *Moisture absorption in VART Med three-dimensional braided carbon- epoxy composites with different interface conditions*. Mater. Sci. and Eng.: A, 425: 70–77, (2006).
- [55] MIGLIARESI, C.; NICOLI, F.; ROSSI, S.; PEGORETTI, A., *Novel uses of carbon composites for the fabrication of external fixators*. Compos. Sci. and Technol., 64 (6): 873–883, (2004).
- [56] ZHAO, J-L.; FU, T.; HAN, Y.; XU, K.W., *Reinforcing hydroxyapatite/ thermosetting epoxy composite with 3-D carbon fiber fabric through RTM processing*. Mater. Lett., 58 (1-2): 163-168, (2004).
- [57] FU, T.; ZHAO, J.L.; XU, K.W., *The designable elastic modulus of 3-D fabric reinforced biocomposites*. Mater. Lett., 61 (2): 330–333, (2007).
- [58] TEH, P.L.; MARIATTI, M.; AKIL, H.M.; YEOH, C.K.; SEETHARAMU, K.N.; WAGIMAN, A.N.R.; BEH, K.S., *The properties of epoxy resin coated silica fillers composites*. Mater. Lett., 61: 2156–2158, (2007).
- [59] MORRISON, C.; MACNAIR, R.; MACDONALD, C.; WYKMAN, A.; GOLDIE, I.; GRANT, M. H., *In vitro biocompatibility testing of polymers for orthopedic implants using cultured fibroblasts and osteoblasts*. Biomaterials, 16 (13): 987-992, (1995).
- [60] SIMÕES, J.A.; MARQUES, A.T., *Determination of stiffness properties of braided composites for the design of a hip prothesis*. Compos. Part A: Appl. Sci. and Manufact., 32: 655-662, (2001).
- [61] MAY, C.A., *“Epoxy Resins: Chemistry and Technology”*. Marcel Dekker Inc., New York, (1988).
- [62] [www. Silaex.com.br](http://www.Silaex.com.br) , acessado em 21/05/08.
- [63] SCOLA, D.A., *Novel curing agents for epoxy resins; in Developments in Reinforced Plastics-4*. Elsevier Appl. Sci. Publ.,165, (1984).
- [64] GARCIA, F.G.; MIGUEZ, E.; SOARES B.G., *Caracterização do sistema éter diglicidílico do bisfenol A / poliaminas alifáticas*. Polím. Ciência e Tec.,15 (4): 261-267, (2005).

- [65] RUSHING, R.A.; THOMPSON, C.; CASSIDY, P.E., J. Applied Polymer Science, 53: 1211-1219, (1994).
- [66] GARCIA, F.G., SOARES, B.G., *Determination of the epoxide equivalent weight of epoxy resins based on diglycidyl ether of bisphenol A (DGEBA) by proton nuclear magnetic resonance*. Polym. Test., 22: 51–56, (2003).
- [67] Scientific Committee on Food (SFC). *Opinion on bisphenol a diglycidil ether (DGEBA)*. Commission of the European Communities, (1999).
- [68] GARCIA, F.G.; SILVA P.M.; SOARES B.G.; BRIONES J.R., *Combined analytical techniques for the determination of the amine hydrogen equivalent weight in aliphatic amine epoxide hardeners*. Polym. Test., 26(1): 95-101, (2007).
- [69] DENQ, B-L; MONSOY, A.; ISACHSEN K., *The curing reaction and physical properties of DGEBA/DETA epoxy resin blended with propyl ester phosphazene*. J. of Appl. Polym. Sci., 74: 229-237, (2007).
- [70] GARCIA, F.G.; GALEGO F.N., *Estúdio de la reacción de curado del sistema éter diglicidílico del bisfenol-A (DGEBA) y la dietilenotriamina (DETA) por calorimetria diferencial de barrido*. Ciências e Tecnol., 10: 218-223, (2000).
- [71] ADURIZ, X.A.; LUPI, C.; BOYARD, N.; BAILLEUL, J.L.; LEDUC, D.; SOBOTKA, V.; LEFEVRE, N.; CHAPELEAU, X.; BOISROBERT, C.; DELAUNAY, D., *Quantitative control of RTM6 epoxy resin polymerization by optical index determination*. Compôs. Sci. and technol., 67(15-16): 3196-3201, (2007).
- [72] QUINTELA, L.A.; PRENDES, P.; PAZOS-PELLIN, M.; PAZ, M.; PAZ-ABUIN, S., *Cis/trans reactivity: Epoxy-amine systems*. Macromolecules, 31 (15): 4470-4776, (1998).
- [73] MONSERRAT, S.; CIMA, I., *Isothermal curing of a resin by alternating differential scanning calorimetry*. Thermochimica Acta, 330:189-200, (1999).
- [74] ADAMSON, W; GAST, A.P., *Physical Chemistry of Surfaces*. Wiley-Interscience, (1997).
- [75] BOREFREUND, E; PUERNER, J.A., *A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assay (HTD/NR-90)*. J.Tissue Culture Meth., 9 (7-9), (1984).
- [76] BARLTROP, J.A., *5-(3-carboximethoxyphenyl)-2(4,5-dimethylthiazol)-3-(4 sulphoenyl) tetrazolium, inner salt (MTS) and related analogs of 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5 diphenyltetrazolium bromide (MTT) reducing to purple water-soluble formazans as cells viability indicators*. Bioorg. & Med. Chem Lett, 1:611, (1991).
- [77] CHRISTOPHER, G.; FINKEMEIER, *Bone–Grafting and Bone-Graft Substitutes*. J. Bone Joint Surg. Am., 84: 454 – 464, (2002).

- [78] FODOR, W. L., *Tissue engineering and cell based therapies, from the bench to the clinic : the potential to replace, repair and regenerate*. *Reprod Biol Endoc.*, 13 (1):102, (2003).
- [79] LANZA, R.P.; LANGER, R.; VACANTI, J.P; *Principles of tissue engineering*. Academic Press ed. San Diego, (2002).
- [80] BRADDOCK, M.; HOUSTON, P.; CAMPBELL, C.; ASHCROFT, P., *Born again bone: tissue engineering for bone repair*. *News Physiol Sci*, 16: 208-213, (2001).
- [81] RAMOSHEBI, L.N.; MATSABA, T.N.; TEARE, J.; RENTON, L.; PATTON, J. RIPAMONTI, U., *Tissue engineering: TGF [-beta] superfamily members and delivery systems in bone regeneration*. *Expert Rev Mol Med.*, 4:1-11, (2002).
- [82] KEATING, J.F.; MC QUEEN, M.M.; *Substitutes for autologous bone graft in orthopaedic trauma*. *J Bone Joint Surg [Br]*, 82: B3-8, (2001).
- [83] SUMMERS, B. N.; EISENSTEIN, S.M., *Donor site pain from the ilium: a complication of lumbar spine fusion*. *J Bone Joint Surg [Br]*, 71: B677-80, (1989).
- [84] YOUNGER, E.M.; CHAPMAN, M.W., *Morbidity at bone graft donor site*. *J. Orthop. Trauma*, 3:192-5, (1989).
- [85] BONFIGLIO, M.; JETER, W.S., *Immunological responses to bon*. *Clin. Orthop.*,18:19-27, (1972).
- [86] BOS, G.D.; GOLDBER, G.V.M.; ZIKA, J.M.; HEIPLE, K.G.; POWER, A.E., *Immune responses of rats to frozen bone allografts*. *J. Bone Joint Surg. [Am]*, 65-A: 239-46, (1983).
- [87] DAMIEN, C.J.; PARSONS, J.R., *Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications*. *J. Appl. Biomater.*, 2:187-208, (1991).
- [88] LEE, H.; NEVILLE, K., *Handbook of Epoxy Resins*. McGraw -Hill,Inc.,4 -7, (1967).
- [89] GROB, A.; BROCKMANN, H.; KOLLEK, H.; *Model studies on the cross-linking of epoxy resins with amines at room temperature*. *Int. J. Adhes. and Adhes.*, 7 (1): 33-38, (1987).
- [90] www.dowepoxy.com, acessado em 15/04/2008.
- [91] ISO 9702:1996(E), *Plastics - Amine epoxide hardeners - Determination of primary, secondary and tertiary amine group nitrogen content*.
- [92] GARCIA, F.G.; RODRIGUES, J.R.; PIRES, L.M.A.; SAMPAIO, E.M.; TAVARES, B.M.I., *Avaliação da aderência de juntas de cisalhamento coladas com adesivos epoxídicos modificados usando endurecedores do tipo poliaminas alifáticas*, 17º CBECIMAT, (2008).
- [93] ASTM D 1652-97. Standard test methods for epoxy content of epoxy resins.
- [94]http://www.ping.be/at_home/indic-vir.htm#liens, acessado em 12/12/2008.

- [95] BARTOLINI, P., *Efeitos da radiodação sobre as atividades biológicas, imunológicas, de ligação de receptores e propriedades físico-químicas do hormônio de crescimento humano*. Tese (Doutoramento pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN/USP), (1984).
- [96] MOROI, M.; JUNG, S.M.; OKUMA, M.; SHINMYOUZ, K.; *Platelet adhesion to collagen-coated wells: analisys of this complex process and a comparision with the adhesion to matrigel-coated wells*. Bioch. Biophys. Acta., 1137: 1-9, (1992).
- [97] SANTOS, V.M.; CUNHA, S.F.C; DA CUNHA D.F., *Velocidade de sedimentação das hemácias: utilidades e limitações*. Rev. Ass. Méd. Br., 46 (3), Julho/Setembro,(2000).
- [98] SILVA, A.R.P., *Estudo das propriedades bioquímicas de sistemas poliméricos arborescentes PGDL-AAS para o tratamento do câncer*, 142 f. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia)-Universidade Federal de Itajubá, MG., (2008).
- [99] ISO 10993: 1992, *Biological, evaluation of medical devices-Part 5- Tests for cytotoxicity: in vitro methods*.
- [100] GUIBE, C.; FRANCILLETTE, J., *Diagramas de cura Tempo – Temperatura Transformação (TTT): Relação entre Tg, temperatura de cura e tempo de sistemas DGEBA/DETA*. J. of Appl. Polym. Sci., 62: 1941-1951, (1997).
- [101] WILLIAMS, D.F., *In Definitions in biomaterials*. Ed. Elsevier: 66-71, (1987).
- [102] WILLIAMS, D. F., *In Concise encyclopedia of medical & dental materials*. Ed.; Pergamon Press, Oxford: 52, (1990).
- [103] DOLATSHAHI-PIROUZ, A.; RECHENDORFF, K.; HOVGAARD, M.B.; FOSS, M.; CHEVALLIER, J.; BESENBACHER, F.; BIOINTERFACES,V., *Bovine serum albumin adsorption on nano-rough platinum surfaces studied by QCM-D*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 66: 53–59, (2008).
- [104] ALBUQUERQUE, C.A., *Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de sistemas nanoscópicos bioativos*, 115 f. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia)-Universidade Federal de Itajubá, MG. (2008).
- [105] HORIE, K.; HIURA, H.; SAWADA, M.; MITA. I.; KAMBE, H., *Calorimetric investigation of polymerization reactions III. Curing reactions of epoxides with amines*. J. Polym. Sci. 8 (A-1): 1357, (1970).
- [106] KEATING, J.F.; MCQUEEN, M.M., *Substitutes for autologous bone graft in orthopaedic trauma*. J. Bone Joint Surg. [Br], 82: B3-8, (2001).
- [107] DAMIEN, C.J.; PARSONS, J.R., *Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications*. J. Appl. Biomater., 2:187-208, (1991).

- [108] DE QUEIROZ, A.A.A.; BARRAK, E.R.; DE CASTRO, S.C., *Thermodynamic analysis of the surface of biomaterials*. J. of Molec. Struct. (Theochem), 394: 271-279, (1997).
- [109] TSAPIKOUNI, T.S.; MISSIRLIS, Y.F., *Protein-material interactions: From micro-nano scale*. Mater. Sci. and Eng. B, (2008).
- [110] CURTIS, H., *Biology*, 1: 567-571, (1977).
- [111] OKANO, T.; YUI, N.; KATAOKA, K.; SANUI, K.; OGATA, N.; SAKURAI, Y., *Characterization of the microstructure of poly (propylene oxide)-segmented polyamide and its suppression of platelet adhesion*. J. Polym., 16 (2): 119 - 128, (1984).
- [112] QUEIROZ, A.A.A.; HIGA, O.Z.; ALVES, S.B., *Digital Image Processing For Biocompatibility Studies Of Clinical Implante Materials*. Art. Organs, 27 (5): 444-446, (2003).
- [113] TSUI, T.Y.; JOO, Y., *A new technique to measure through film thickness fracture toughness*. Thin solid films, 401: 203-10, (2001).
- [114] SOUZA, S.A., *Ensaio Mecânicos de Materiais Metálicos*. Edgard Blucher LTDA, 3ª ed, (1974).
- [115] CHANG, S.C.; JAHN, M.T.; WAN, C.M.; LEE, J.Y.M., *Determination of tensile properties from hardness measurements for Al-Zn-Mg alloys*. J Mater. Sci, 11 (4): 623-630, (1976).
- [116] SMITH, R.L., SANDLAND, G.E., *An Accurate Method of Determining the Hardness of Metals, with Particular Reference to Those of a High Degree of Hardness*. Proc. of the Inst. of Mechanic. Eng., 1: 623-641, (1922).
- [117] MEYERS and CHAWLA; *Mechanical Behavior of Materials*. "Section 3.8", Prentice Hall, Inc., (1999).
- [118] MEYERS and CHAWLA; *Mechanical Behavior of Materials*,. "Section 3.9". Prentice Hall, Inc.1999).
- [119] SUWANPRATEEB, J.A., *Comparison of Different Methods in Determining Load-and Time- Dependence of Vickers Hardness in Polymers*. Polym. Test.,17: 495-5006, (1998).
- [120] MYA, K.Y.; HE, C.; HUANG, J.; XIAO, Y.; DAI, J.; SIOW. Y.P., *Preparation and thermomechanical properties of epoxy resins modified by octafunctional cubic silsesquioxane epoxides*. J. of Polym. Sci.: Parte A: Polym. Chem., 42: 3490-3503, (2004).
- [121] GUPTA, N.; VARMA, I.K., *Effect of structure of diamines on curing characteristics, thermal stability, and mechanical properties of epoxy resins*. I. J. of Appl. Polym. Sci., 68: 1759-1766, (1998).
- [122] Disponível em <http://www.shofu.com>, acessado em 27/10/08.

[123] KATO, K.; KANAJI, T.; RUSSELL, S.; KUNICKI, T.J.; FURIHATA, K.; KANAJI, S.; MARCHESE, P.; REININGER, A.; RUGGERI, Z.M.; WARE, J., *The contribution of glycoprotein VI to stable platelet adhesion and thrombus formation illustrated by targeted gene deletion*. J. The Am. Soc. of Hematol., 101:1701-1707, (2003).

OSTEÓLISE - Doença que causa a dissolução do osso, envolve particularmente a remoção ou perda de cálcio.

AFROUXAMENTO ASSÉPTICO- Consiste na falência de uma prótese articular devido a uma reação imune à prótese.

OSTEOPOROSE - Doença que atinge os ossos. Caracteriza-se quando a quantidade de massa óssea diminui substancialmente e desenvolve ossos ociosos, finos e de extrema sensibilidade, mais sujeitos a fraturas

OSTEOARTRITE - Osteoartrite ou artrose (artrite degenerativa, doença degenerativa das articulações)-Perturbação crônica das articulações caracterizada pela degeneração da cartilagem e do osso adjacente que pode causar dor articular e rigidez.

OSTEOMIELITE – Do grego osteos = osso + myelós = medula, é, em princípio, inflamação óssea, usualmente causada por infecção, bacteriana ou fúngica, que pode permanecer localizada ou difundir-se, comprometendo medula, parte cortical, parte esponjosa e periósteo.

ARTROSCOPIA - Procedimento cirúrgico minimamente invasivo para examinar e tratar lesões no interior de articulações. A artroscopia é feita com o uso de artroscópio, um tipo de endoscópio que é inserido dentro da articulação através de uma pequena incisão. Procedimentos de artroscopia podem ser feitos para avaliar ou tratar problemas ortopédicos.

OSTEOSSÍNTESE - Redução cirúrgica das fraturas pela reunião dos fragmentos ósseos com o auxílio de parafusos, fios, placas metálicas ou outros meios mecânicos. Este material é geralmente retirado quando a fratura está consolidada.

ARTROPLASTIA - Operação plástica destinada a reconstituir as superfícies articulares, restabelecendo o seu uso.

ANASTOMOSE INTESTINAL – Nome que se dá a uma operação cirúrgica que promove a união de dois vasos sanguíneos, duas partes do tubo digestivo, etc. Um exemplo de anastomose cirúrgica é a colostomia, uma abertura criada entre o intestino e a pele abdominal.

PSEUDOARTROSE - É a não consolidação de uma fratura. Também definida como falsa articulação, a pseudoartrose caracteriza-se então pela falta de consolidação óssea em relação a uma fratura ou mesmo a uma artrose.

OSTEOBLASTOS - São células responsáveis por sintetizar a parte orgânica (colágeno tipo I, proteoglicanas e glicoproteínas) da matriz óssea. Possuem a capacidade de concentrar fosfato de cálcio, participando ativamente da mineralização da matriz óssea. Localizam-se geralmente nas superfícies ósseas, lado a lado, num arranjo que lembra um tecido epitelial simples.

FIBROBLASTOS – São células predominantes da segunda camada da pele humana (derme) e têm como uma de suas funções primordiais a produção de colágeno e elastina.

