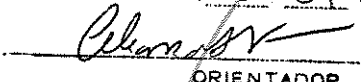


ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE A REDAÇÃO FINAL DA
TESE DEFENDIDA POR LIANA RITA MARQUES
DOS SANTOS E APROVADA PELA
COMISSÃO JULGADORA EM 12 / 07 2002

ORIENTADOR

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA

Estudo Eletroquímico das Características Trombogênicas de Hidrogéis Poliméricos

Autor: **Liana Rita Marques dos Santos**
Orientador: **Célia Marina de A. Freire**

07/2002

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA
COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS**

Estudo Eletroquímico das Características Trombogênicas de Hidrogéis Poliméricos

Autor: Liana Rita Marques dos Santos

Orientador: Profa.Dra.Célia Marina de Alvarenga Freire

Curso: Engenharia Mecânica

Área de Concentração: Materiais e Processos de Fabricação

Tese de Doutorado apresentada à comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Engenharia Mecânica, como requisito para obtenção do título de Doutor em Engenharia Mecânica.

Campinas, 2002
S.P. - Brasil.

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T/UNICAMP
	Sa59e
V	EX
TOMBO BC/	51785
PROC.	16-837-02
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	12/12/02
Nº CPD	

CM0017709B-3

B113 ID 271582

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA - BAE - UNICAMP

Sa59e Santos, Liana Rita Marques dos
Estudo eletroquímico das características
trombogênicas de hidrogéis poliméricos / Liana Rita
Marques dos Santos. --Campinas, SP: [s.n.], 2002.

Orientador: Célia Marina de Alvarenga Freire.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica.

1. Polímeros solúveis em água. 2. Espectroscopia de
impedância. 3. Eletroquímica. I. Freire, Célia Marina de
Alvarenga. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia Mecânica. III. Título.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA
COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS**

TESE DE DOUTORADO

**Estudo Eletroquímico das Características
Trombogênicas de Hidrogéis Poliméricos**

Autor: **Liana Rita Marques dos Santos**

Orientador: **Profa.Dra.Célia Marina de Alvarenga Freire**



**Profa. Dra. Célia Marina de Alvarenga Freire, Presidente
Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia Mecânica**



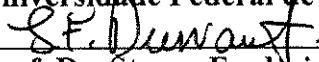
**Profa. Dra. Margarita Ballester
Universidade Estadual de Campinas – IFGW**



**Prof. Dra. Eliana Aparecida de Rezende Duek
Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia Mecânica**



**Prof Dr. Álvaro Antonio Alencar de Queiroz
Universidade Federal de Itajubá**



**Prof. Dr. Steven Frederick Durrant
Universidade do Vale do Paraíba**

Campinas, 12 de Julho de 2002

00258027

Dedicatória:

Aos meus pais, José de Ribamar e Aparecida
Aos meus irmãos Lúcia, Lourival e Netinho
Aos meus filhos, Nayara e Yan

Agradecimentos

Agradeço a Deus, facho de luz permanente iluminando a sombra de minhas dúvidas.

A minha família: pais, irmãos e ao Steven; aos meus filhos, pela paciência .

De todo coração agradeço a Célia* e Margarita* pelos dias compartilhados na paciência ou fora dela, porque percebi há muito tempo que este trabalho, para além de seu objetivo científico, trouxe-me a oportunidade de conhecê-las e confirmar, nesta união, que a amizade prepondera acima de quaisquer aspectos de nossas vidas.

Ao professor Dr. Álvaro Antonio Alencar de Queiroz pela co-orientação, pelo apoio incondicional e, o mais importante, por sua amizade, que não enxerga as barreiras do tempo.

Ao professor Dr. Kamal Abdel Radi Ismail pelo apoio à nossa estadia no programa.

Aos amigos, que em muitos momentos fortaleceram-me com seus conselhos verbais e virtuais, empurrões, olhares, abraços e até piadas, compondo esta imprescindível torcida para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho: Dinossauros Ângelo, Gustavo, Beto Bola e Wyzer; Sidney, Sílvia, Natal, Sheilinha, Marcelo Zanotello, Wilton, Gentile, Zé Luiz e Ticão; Mayard e Maurício, Tuiuiú e a toda família Nabolense; Sílvia e Olivaldo; Hidetoshi e Bilica, João e Elsa Sampaio; Denise, Andréa e Rose, irmãs da Luz; Gerald e Ana Weber (“stop everything and just do it!”).

À Lilica pela grande e espontânea ajuda no término deste trabalho.

À Ritinha** e ao Zé** por toda ajuda técnica.

Ao pessoal da vidraria do Instituto de Física pelo precioso auxílio na confecção da célula para os ensaios eletroquímicos.

Ao prof. Dr. Edvaldo Sabadini e à Melissa pelos ensaios de hidrofiliçidade.

Ao pessoal do Biotério da Faculdade de Medicina pelo auxílio essencial nos ensaios de hemocompatibilidade.

Ao CNPq e ao FAEP pelo apoio financeiro.

* Professoras Célia Marina de A. Freire e Margarita Ballester

** Técnicos do DEMA: Rita Helena B.Jacon e José Luiz Lisboa

“Sou também como a água:
Nenhuma barreira poderá represar-me
e impedir que me torne um grande oceano;
se barrarem a minha passagem
colocando grandes pedras no meu leito,
converter-me-ei em torrente, cachoeira e
saltarei impetuosamente;
se me fecharem todas as saídas,
eu me infiltrarei no subsolo,
permanecerei oculta por algum tempo,
mas não tardarei a reaparecer;
em breve estarei jorrando
através de fontes cristalinas,
para saciar deliciosamente a sede dos transeuntes.
Se me impedirem também de penetrar no subsolo,
eu me transformarei em vapor,
formarei nuvens e cobrirei o céu
e, chegando a hora,
atrairei furacão, provocarei relâmpagos e trovões,
desabarei torrencialmente,
inundarei e romperei quaisquer diques e
serei finalmente um grande oceano.”

Autor desconhecido.

Resumo

SANTOS, Liana Rita Marques dos, *Estudo Eletroquímico das Características Trombogênicas de Hidrogéis Poliméricos*, Campinas: Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2002. 106 p. Tese de Doutorado.

Hidrogéis poliméricos a serem utilizados como biomateriais hemocompatíveis, têm sido estudados com relação a suas propriedades biológicas, mecânicas, físico-químicas e morfológicas, entre outras, não se tendo conhecimento de estudos eletroquímicos relacionados às características de hemocompatibilidade. Neste trabalho, filmes de PE de baixa densidade, previamente oxidados, foram revestidos com blendas de poli (álcool vinílico) e poli (vinil pirrolidona), dois hidrogéis bastante estudados individualmente e albuminas de soro bovino e humano. A hemocompatibilidade das blendas foi avaliada através de ensaios de Adesão Plaquetária em sangue humano e monitorada por Microscopia Eletrônica de Varredura. Medidas de Ângulo de Contato foram realizadas para avaliação do comportamento hidrofílico das superfícies poliméricas. As amostras revestidas com hidrogéis e albumina foram estudadas por Espectroscopia de Impedância Eletroquímica, objetivando-se o estudo desta técnica na avaliação da trombogenicidade dos polímeros. Filmes de PE virgem e oxidado também foram caracterizados visando-se verificar uma possível contribuição do processo de oxidação no comportamento eletroquímico dos filmes-matrizes. Os resultados apontaram para uma grande sensibilidade da técnica na detecção das variações resultantes do processo de oxidação nos filmes matrizes, sem, entretanto, ter sido possível estabelecer uma relação padrão. A análise eletroquímica dos filmes revestidos revelou ocorrer uma diminuição nos valores do módulo de impedância paralelamente à melhora das características anti-trombogênicas e do caráter hidrofílico destes filmes. O comportamento eletroquímico dos filmes foi avaliado com o auxílio da teoria de circuitos equivalentes, tendo-se obtido o circuito análogo para os sistemas polímero/solução.

Palavras-Chave

- Polímeros Hemocompatíveis, Hemocompatibilidade, Hidrofilicidade, Espectroscopia de Impedância Eletroquímica, Hidrogéis Poliméricos.

Abstract

SANTOS, Liana Rita Marques dos, *Electrochemical Study of the Thrombogenic Characteristics of Polymeric Hydrogels*, Campinas: Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 2002. 106 p. Tese de Doutorado.

Polymeric hydrogels to be used as hemo-compatible biomaterials, have been studied in relation to their biological, mechanical, physico-chemical and morphological properties, among others, but as far as is known no studies have treated their hemo-compatible characteristics from an electro-chemical perspective. In this work, previously oxidized low density polyethylene film surfaces were covered with blends of PVA and PVP, two well studied hydrogels, and solutions of human and bovine serum albumin. The hemo-compatibility of the blends were evaluated through Platelet Adhesion Tests in human blood and monitored by Scanning Electron Microscopy. Contact angle measurements were performed to evaluate the hydrophilic behavior of the polymeric surfaces. The samples covered with hydrogels and albumin were analyzed by Electrochemical Impedance Spectroscopy, with the object of evaluating this technique for the examination of the thrombogenicity of polymers. Virgin and oxidized PE films were also characterized with the aim of verifying a possible contribution of the oxidation process in the electrochemical behavior of the film matrices. The results indicate a great sensitivity of the technique in the detection of variations resulting from the process of oxidation of the film matrices, without, however, having been possible to establish a standard relation. The electrochemical analysis of the covered films revealed a decrease in the modulus of the impedance together with an improvement in the anti-thrombogenic and hydrophilic characteristics of these films. The films' electrochemical behavior were evaluated by the equivalent circuit's theory and the analogous circuit for the polymer/solution systems was established.

Key-Words

- Hemocompatible Polymers, Hemocompatibility, Hydrophilicity, Electrochemical Impedance Spectroscopy, Polymeric Hydrogels.

Índice

Lista de Figuras	ii
Lista de Tabelas	v
Nomenclatura	vi
1 Introdução	01
2 Revisão da Literatura	05
3 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica	31
4 Procedimento Experimental	44
5 Resultados e Discussão	51
6 Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros	98
Referências Bibliográficas	101

Lista de Figuras

Figura	pág.
2.1: Estrutura química do PVA	17
2.2: Estrutura química do PVP	18
2.3: Superfícies hidrofóbica e hidrofílica após tratamento superficial	24
2.4: Ângulo de Contato (θ) de um líquido com um sólido.	25
2.5: Tensões superficiais do líquido, do sólido e tensão interfacial (δ_{SL} , δ_L , δ_S)	27
3.1: Representação do sinal de perturbação em um sistema e sua resposta	34
3.2: Perturbação em torno de um ponto de um sistema	36
3.3: Circuito Elétrico Equivalente de um sistema eletroquímico simples	38
3.4: Curvas de Bode para o Circuito representado na figura 3.3	40
3.5: Curva Nyquist para o Circuito representado na figura 3.3	40
3.6: Circuito Elétrico Equivalente para filmes de PE e Filmes Revestidos	38
4.1: Célula Eletroquímica para ensaios EIS	50
5.1: Espectros de Infravermelho dos filmes de Polietileno	
5.1-A: Polietileno Não-Oxidado	52
5.1-B: Polietileno Oxidado	53
5.2: Micrografia do polietileno não-oxidado	55
5.3: Micrografia do polietileno oxidado	55
5.4: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE Não-oxidado	57

5.5: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE oxidado	57
5.6: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA	58
5.7: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA	58
5.8: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA	59
5.9: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA	59
5.10: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/PVP	60
5.11: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/PVP	60
5.12: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/PVP	60
5.13: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/PVP	61
5.14: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/BSA	61
5.15: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/BSA	62
5.16: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/BSA	62
5.17: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/BSA	62
5.18: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/HSA	63
5.19: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/HSA	63
5.20: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/HSA	64
5.21: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/HSA	64
5.22: Ângulo de Contato dos filmes de PE e filmes revestidos.	66
5.23: Curva de Bode – Módulo para a Solução	68
5.24: Curva de Bode – Fase para a Solução	69
5.25: Curva de Bode - Módulo – Filmes de PE e PE Oxidado em (t_0)	70
5.26: Curva de Bode - Fase – Filmes de PE e PE Oxidado em (t_0)	70
5.27: Curvas de Nyquist - -- Filmes de PE e PE Oxidado em (t_0)	71
5.28: Curva de Bode - Módulo – Filmes de PE e PE Oxidado (t_{24})	72
5.29: Curva de Bode - Fase – Filmes de PE e PE Oxidado (t_{24})	72
5.30: Curvas de Nyquist - -- Filmes de PE e PE Oxidado em (t_{24})	73
5.31: Curva de Bode/Módulo - Filmes de PE e PE Oxidado em t_0 e t_{24}	74
5.32: Curva de Bode/Fase - - Filmes de PE e PE Oxidado em t_0 e t_{24}	75
5.33: Curva de Nyquist - Filmes de PE e PE Oxidado em t_0 e t_{24}	75
5.34: Curva de Bode/Módulo – PE/PVA/PVP	77

5.35: Curva de Bode/Fase – PE/PVA/PVP	77
5.36: Curva de Nyquist – PE/PVA/PVP	78
5.37: Curva de Bode/Módulo – PE/PVA/BSA	78
5.38: Curva de Bode/Fase – PE/PVA/BSA	79
5.39: Curva de Nyquist – PE/PVA/BSA	79
5.40: Curva de Bode/Módulo – PE/PVA/HSA	80
5.41: Curva de Bode/Fase – PE/PVA/HSA	80
5.42: Curva de Nyquist – PE/PVA/HSA	81
5.43: Curva de Bode/Módulo – PE/PVA	81
5.44: Curva de Bode/Fase – PE/PVA	82
5.45: Curva de Nyquist – PE/PVA	82
5.46: Curva de Bode/Módulo - filmes de PE e filmes revestidos – t_0	84
5.47: Curva de Bode/Fase - filmes de PE e filmes revestidos - t_0	84
5.48: Curva de Bode/Módulo - filmes de PE e filmes revestidos – t_{24}	85
5.49: Curva de Bode/Fase - filmes de PE e filmes revestidos - t_{24}	85
5.50: Curvas Experimental e Ajuste para PE Não oxidado (t_0)	87
5.51: Curvas Experimental e Ajuste para PE Oxidado (t_0)	87
5.52: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA/PVP (t_0).	88
5.53: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA/BSA (t_0)	88
5.54: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA/HSA (t_0)	89
5.55: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA (t_0)	89
5.56: Curvas Experimental e Ajuste para PE Não oxidado (t_{24})	90
5.57: Curvas Experimental e Ajuste para PE Oxidado (t_{24})	91
5.58: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA/PVP (t_{24})	91
5.59: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA/BSA (t_{24})	92
5.60: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA/HSA (t_{24})	92
5.61: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA (t_{24})	93
5.62: Curva de Bode-Módulo: filmes revestidos com hidrogéis	95
5.63: Curva de Bode-Fase: filmes revestidos com hidrogéis	95
5.64: Curva de Nyquist: filmes revestidos com hidrogéis	96

Lista de Tabelas

Tabela	pág.
2.1: Fatores de Coagulação do Sangue	10
3.1: Elementos de circuitos equivalentes e suas equações de impedância.	38
5.1: Variação do Módulo da Impedância dos Filmes(patamares resistivos)	86
5.2: Valores dos Elementos de Circuito equivalente para os filmes em t_0	90
5.3: Valores dos Elementos de Circuito equivalente para os filmes em t_{24}	93
5.4: Características eletroquímicas x físico-químicas dos filmes revestidos	97

Nomenclatura

Siglas

EIS	Electrochemical Impedance Spectroscopy
PE	polietileno
PVA	poli(álcoolvinílico)
PVP	poli(vinilpirrolidona)
PMMA	poli(metilmetacrilato)
PHEMA	polihidroxi(etilmetacrilato)
FTIR-ATR	Fourier Transformed Infrared – Attenuated Total Reflexion
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura

Letras Gregas

θ	ângulo de contato entre um líquido e a superfície de um sólido
γ	energia livre interfacial
γ_{sv}	energia livre interfacial sólido-vapor
γ_{sl}	energia livre interfacial sólido-líquido
γ_{lv}	energia livre interfacial líquido-vapor
ω_a	energia livre de superfície (adesão)
ω_l	energia livre de superfície (imersão)
ΔI	variação no potencial
ΔE	variação na corrente

ω_s	energia livre de superfície (espalhamento)
δ_{SL}	tensão superficial do líquido
δ_L	tensão superficial do sólido
δ_s	tensão interfacial

Letras Latinas

E	diferença de potencial (V-Volts)
I	corrente elétrica (A – Ampères)
R	resistência (Ω - Ohms)
Z	impedância (Ω - ohms)
F	frequência (hz – hertz)
θ	ângulo de fase (graus)

Capítulo 1

Introdução

1.1 Considerações Gerais

Importantes polímeros são utilizados em várias práticas biomédicas, com aplicações em cirurgias remediadoras de partes de organismos vivos que sofreram algum tipo de dano. São vários os tipos de acidentes que deixam seqüelas em seres humanos, provocando modificações em suas atividades normais como a locomoção, alterando a sistemática respiratória, alimentar e outras e, portanto, dificultando sua sobrevivência como um todo.

Tais materiais, normalmente designados como Biomateriais Poliméricos, passaram a ocupar nas últimas décadas, lugar de destaque na pesquisa e desenvolvimento de Materiais Biocompatíveis, componentes fundamentais na fabricação de próteses humanas, bem como em outras atividades que exijam elementos similares.

Segundo a conferência consensual da Sociedade Européia para Biomateriais, realizada em 1986, um Biomaterial é definido como: “qualquer substância (que não drogas) ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que possa ser usada por qualquer período de tempo, como todo ou parte de um sistema, o qual trata, reconstrói ou substitui qualquer tecido, órgão ou função do corpo humano” (Williams, 1986).

Desta forma, as propriedades necessárias a um material para que este possua compatibilidade com o meio fisiológico, ou, em outras palavras, para que este seja caracterizado como biocompatível, deverão constituir caráter prioritário na pesquisa e desenvolvimento de tais materiais, independentemente do fim específico a que se destinam dentro do campo das aplicações biomédicas.

As reações decorrentes do contato destes materiais com os tecidos e demais substâncias de um organismo vivo têm despertado o interesse de diversos pesquisadores gerando vários trabalhos, os quais têm contribuído para a prevenção e correção de reações indesejáveis no sistema polímero/organismo, reações estas inerentes a características relacionadas com a pureza do material e sua conseqüente estabilidade no meio fisiológico, entre outras.

Se nos referirmos a materiais cujas superfícies entrem em contato direto com a corrente sanguínea, como no caso de próteses cardiovasculares, verificaremos que estes devem ser criteriosamente avaliados com relação à sua biocompatibilidade e mais especificamente no que concerne às suas características de compatibilidade com o sangue, ou seja, sua hemocompatibilidade. Tal necessidade tem dirigido os estudos neste campo tanto para a síntese de polímeros cujas superfícies sejam hemocompatíveis, bem como para a modificação de superfícies poliméricas originalmente trombogênicas através de seu revestimento com materiais anti-trombogênicos (Sano, 1993), (Ratner, 1995).

Neste contexto, a pesquisa de hidrogéis poliméricos, uma das mais estudadas classes de biomateriais, vem se destacando notadamente por suas características particulares, entre elas, sua hidrofilicidade ou capacidade de agregar água à estrutura.

A estrutura de rede presente nos hidrogéis permite-lhes a retenção de quantidades substanciais de água, sem que o polímero se dissolva. A habilidade de reter água ou outros fluidos confere a estes materiais baixa tensão interfacial, promovendo sua permeabilidade a espécies de baixo peso molecular, o que é uma vantagem, por exemplo, na utilização biomédica em sistemas liberadores de drogas (Cauich-Rodriguez, 1996). Assim, hidrogéis têm sido cada vez mais usados como revestimento para biomateriais objetivando-se melhorar ou mesmo conferir biocompatibilidade e/ou hemocompatibilidade a estes (Queiroz, 1997).

Nesta pesquisa, a partir de hidrogéis de PVA, os quais encontram-se já bastante estudados e utilizados em aplicações biomédicas, são propostas novas blendas com PVP e albuminas humana e bovina, buscando-se a melhora da hemocompatibilidade de superfícies revestidas com estas blendas.

Quando um material é colocado em contato com o meio fisiológico, os fenômenos ocorrentes na interfase (adsorção protéica, adesão plaquetária, formação de cápsula fibrosa) determinarão se o material será ou não utilizável como um biomaterial. Sendo tais fenômenos

característicos de reações superficiais, importa obter-se materiais com características de superfícies as quais promovam sua aceitação pelo meio em questão (Williams, 1987).

Em aplicações nas quais a hemocompatibilidade seja condição imperativa, como no caso de próteses cardiovasculares, é de vital importância caracterizar a resposta trombogênica do material, ou seja, a capacidade de formação de coágulos em sua superfície, quando colocado em contato com sangue. Quanto maior o grau de trombogenicidade da superfície do material de implante pior será sua hemocompatibilidade.

Neste caso, mais especificamente a adsorção protéica e a adesão plaquetária, fenômenos comprovadamente ocorrentes na interface sangue/biomaterial e, portanto, intimamente ligados ao processo de coagulação sanguínea, têm sido estudados através de ensaios específicos como identificadores dos aspectos trombogênicos de biomateriais e caracterizados por técnicas analíticas já bastante fundamentadas como a Microscopia Eletrônica de Varredura (Haycox, 1993), a Elipsometria (Lundström, 1987) e a Espectroscopia Eletrônica para Análise Química (Ratner, 1987), entre outras, as quais possibilitam a avaliação destes fenômenos do ponto de vista das propriedades físico-químicas, químicas e fisiológicas destes materiais.

Medidas de Ângulo de Contato, Técnicas de Infravermelho para análises superficiais, Espectrometria de Massa para Íons Secundários, também têm sido reportados como de grande auxílio na caracterização das propriedades de superfícies de Biomateriais (Ratner, 1993).

Do ponto de vista eletroquímico, técnicas de Impedância e Medidas de Potencial Zeta têm sido rotineiramente utilizadas na análise individual de características de materiais ou então, associando-se as informações obtidas através de suas aplicações com aquelas fornecidas pelas técnicas convencionais anteriormente citadas (MacDonald, 1987).

No campo dos biomateriais, a técnica de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS) foi utilizada com êxito na avaliação qualitativa da modificação superficial de filmes de polietileno, por enxertia com diferentes concentrações de poliacrilamida, um biomaterial de aplicações já fundamentadas (Schulz, 1985). Seu estudo estendeu-se para a caracterização superficial de outros polímeros para uso médico, mostrando-se a EIS como ferramenta promissora neste campo (Watanabe, 1993), (McAdams, 1993).

Considerando-se que, dentro do processo de coagulação sanguínea, a indesejável formação de trombos nas paredes do biomaterial e dos vasos sanguíneos é uma reação química interfacial, a evidência de um mecanismo eletroquímico de trombose estudada por Saiwer em

1970, foi utilizada neste trabalho como um dos fundamentos para avaliação das propriedades eletroquímicas de biomateriais hemocompatíveis.

1.2 Objetivos

A partir das considerações previamente introduzidas, a técnica de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS) foi proposta como ferramenta para a caracterização de filmes poliméricos modificados superficialmente para aplicações hemocompatíveis.

Assim, este trabalho teve por objetivos:

- o estudo da EIS como ferramenta de análise do comportamento trombogênico de filmes de polietileno de baixa densidade (PEBD) revestidos com hidrogéis de PVA (polivinilálcool), blendas de PVA/PVP (polivinilálcool/ polivinilpirrolidona) e PVA/Albumina de plasma sanguíneo humano e bovino, tendo por meta estabelecer relações entre a trombogenicidade, a hidrofilicidade e as características eletroquímicas destes materiais.
- o estudo de novas blendas de PVA /PVP e albumina de plasma sanguíneo humano e bovino, buscando-se uma melhor resposta hemocompatível através da mistura destes materiais.

Capítulo 2

Revisão da Literatura

2.1 - Biomateriais

Biomateriais ou Materiais Biomédicos são materiais utilizados para reparar, restaurar ou substituir órgãos ou tecidos lesados ou para interfacear o sistema fisiológico em cirurgias ou tratamentos de longo ou curto prazo.

O termo Biomaterial tem sido freqüentemente utilizado de forma indevida, sendo aplicado a qualquer material utilizado para tratamento da saúde de pacientes, como no caso dos materiais para embalagem de medicamentos.

Um Biomaterial tem íntima ligação com o meio e sistema fisiológico, devendo, para tanto, estar plenamente adequado às funções deste meio, sem agredi-lo e sem ser por este agredido, de forma a não comprometer as funções pelas quais foi ali introduzido (Ratner, 1998).

Biomateriais podem ser de origem natural ou sintética, podendo-se citar dentre os naturais o colágeno, as fibras protéicas (cabelo, pele, lã, p.ex.), os polissacarídeos (algodão, celulose) ou mesmo os tecidos tratados, como o pericárdio. Tais materiais possuem estruturas normalmente muito complexas e de difícil caracterização (Mark, 1985).

Biomateriais sintéticos são obtidos a partir da manipulação de materiais metálicos, cerâmicos e poliméricos, os quais têm sido amplamente estudados, objetivando-se torná-los

perfeitamente adequados ao uso em contato com o meio fisiológico humano, seja externa ou internamente a este.

O registro mais antigo de utilização de biomateriais data de 4000 anos atrás, referindo-se a aplicações em suturas de ferimentos. A literatura Indiana antiga (2500 anos) descreve o uso de cabelo, couro, tendão animal e casca de árvores como materiais de sutura. O uso de suturas de fios de ouro em 1550 foi a primeira aplicação registrada como um material biomédico sintético e foi seguida pelo amplo uso de placas e pinos de metal para reparar fraturas ósseas (Mark et al, 1985)

Os recentes avanços na ciência de materiais e na medicina reparadora tornaram possível, ao longo das duas últimas décadas, reconstruir muitas partes do corpo humano. O uso de biomateriais e órgãos artificiais tem favorecido o desenvolvimento de terapias substitutivas, um dos componentes em franco crescimento no setor médico. Próteses em materiais metálicos, cerâmicos e poliméricos ou conjugando-se duas ou mesmo as três classes são, atualmente, objeto de intensas pesquisas, sendo que várias destas já encontram aplicações práticas, podendo-se citar como exemplos as reconstruções de juntas de quadris, as próteses dentais, as membranas para diálise e as matrizes para liberação de drogas, entre muitas outras.

2.1.1 - Biocompatibilidade

Como visto, no exposto acima, biomateriais têm sido amplamente usados em dispositivos médicos com grande sucesso. Entretanto, as estruturas químicas das superfícies de biomateriais não são totalmente reconhecidas pelos organismos vivos. Assim, as reações biológicas aos biomateriais são inicialmente influenciadas por interações não específicas ocorrentes em suas superfícies. A partir disto, muitos pesquisadores têm buscado estratégias visando desenvolver caminhos biológicos específicos para a produção de biomateriais os quais induzam ativamente o processo de cura e reconstrução dos tecidos ou órgãos lesados (Ratner, 1998). Desta forma, no desenvolvimento de um biomaterial a pesquisa baseia-se preliminarmente na questão da biocompatibilidade, ou seja, da compatibilidade com o meio biológico.

Materiais biocompatíveis foram inicialmente definidos como materiais que se comportavam de forma inerte, quando em contato com o meio fisiológico. Com a evolução nas pesquisas em biomateriais, esta definição passou a incluir materiais os quais possuem pequena interação com o meio fisiológico. Na verdade é improvável que um biomaterial absolutamente inerte possa ser encontrado, mas a resposta fisiológica a qualquer biomaterial pode ser mantida dentro de limites aceitáveis (Allen, 1982).

Um biomaterial pode ser biocompatível numa aplicação para um propósito específico, mas poderá não ser numa aplicação similar, porém, num diferente local do sistema fisiológico. Portanto, as especificações de biocompatibilidade devem incluir, preponderantemente, as condições de uso do material a ser implantado e a avaliação detalhada destas.

Atualmente nenhum dos biomateriais utilizados é absolutamente ideal. Cada um deles é responsável por uma reação local ou geral no sistema fisiológico: reações ao corpo estranho (implante), trombose e resposta inflamatória geral no corpo humano. Por muitos anos, estas reações foram pouco compreendidas e as pesquisas eram de natureza empírica. Os progressos na ciência de materiais e na biologia celular e molecular trouxeram uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos nestas reações promovendo, conseqüentemente, o desenvolvimento dos materiais biocompatíveis (Loisance, 1995).

2.1.2 - Hemocompatibilidade

A compatibilidade com o sangue ou hemocompatibilidade é considerada como um aspecto diferenciado da biocompatibilidade devido à particularidade das reações ocorrentes entre o sangue e o material de implante. Materiais hemocompatíveis devem relacionar-se com os componentes sanguíneos de forma a não induzir o processo de coagulação, o que poderia ocasionar danos severos, senão fatais, ao paciente submetido a um implante.

A formação de trombos na superfície do material de implante é o maior problema associado ao uso de próteses e dispositivos do sistema cardiovascular. Como resultado do íntimo contato com o sangue, após o implante podem ocorrer reações indesejadas na química sanguínea

as quais, dependendo de uma série de fatores, podem, finalmente, levar à formação de coágulos sanguíneos (Durrani, 1987).

Muitas das mortes em animais usados como cobaias para corações artificiais foram devidas à formação de coágulos sanguíneos em reação à presença do implante e não pelo seu mau funcionamento. Inicialmente, como na discussão sobre biocompatibilidade, os pesquisadores assumiram que deveriam ser escolhidos materiais quimicamente inertes para os dispositivos implantáveis o que levaria a superar o problema da formação de trombos na superfície de um implante que tivesse contato com o sangue. Entretanto, observou-se que tais materiais ditos inertes, quando expostos ao ambiente dinâmico do sistema sanguíneo, não atendiam às expectativas de hemocompatibilidade. Atualmente, os trabalhos de inúmeros pesquisadores têm mostrado que a formação de coágulos sanguíneos na superfície dos materiais de implante é um fenômeno extremamente complexo. Desta forma, o projeto e desenvolvimento de biomateriais hemocompatíveis é dependente de uma série de fatores, tais como a natureza química do material, suas características de superfície e os parâmetros de dispositivo (geometria, condições de uso, ergonomia, etc) dentre outros. A seleção final de materiais trombogenicamente seguros dependerá, obviamente, dos estudos prévios de toxicidade realizados em animais (Durrani, 1987; Loisançe, 1995).

2.1.2.1 - O Sangue e o Mecanismo de Coagulação

O sangue é um fluido heterogêneo, composto de elementos celulares, como os glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e as plaquetas, os quais estão suspensos no plasma.

As plaquetas ou trombócitos contém ADP, serotonina, histamina, glicogênio e outros materiais, podendo ativar a tromboplastina, substância envolvida no mecanismo de coagulação.

Aproximadamente 55% do sangue é constituído pelo plasma. No plasma sanguíneo estão contidas também proteínas e enzimas, sendo que três famílias de proteínas - imunoglobulinas, albumina e proteínas de coagulação - são de especial interesse na formação de trombos. Na tabela 2.1 são listadas as principais proteínas de coagulação as quais são uma série de enzimas e

fatores de coagulação, que atuam de forma sequencial na chamada cascata de coagulação (Josefowicz, 1984).

Quando o sangue entra em contato com a superfície de um biomaterial, ocorre, nesta, uma rápida adsorção de proteínas plasmáticas, as quais são, principalmente: albumina, γ - globulina, fibrinogênio e pro-trombina. Desta forma é gerado o meio necessário para a ligação e ativação do Fator XII ou fator de Hageman. Quando ativado, este fator desencadeará um conjunto de reações que conduzirão à transformação final do fibrinogênio em fibrina e à formação de coágulos, também conhecidos como trombos.

Muitos polímeros adsorvem o fibrinogênio rapidamente e tem sido sugerido que, um importante papel nas etapas que levam à coagulação do sangue pode ser dependente da adsorção preferencial de uma espécie de proteína sobre a outra. O processo de adsorção de proteínas efetivamente ativa as próximas interações com os componentes sanguíneos, especialmente as Plaquetas, as quais aderem ao material proteinado. Esta série de reações constituem o chamado caminho extrínseco na cascata de coagulação (Josefowicz, 1984).

Com a liberação de adenosina, mais e mais plaquetas são estimuladas a aderir à superfície do material e o processo de liberação de ativadores da coagulação é repetido, o qual eventualmente leva à formação do Agregado Plaquetário. O processo de coagulação começa na superfície onde as Plaquetas se agregam com a formação da rede de fibrina. Um coágulo é então formado da combinação de plaquetas mutuamente unidas, somando-se a estas a fibrina insolúvel e as células que ele capturou do sangue. Esta série de reações constitui o chamado caminho intrínseco na cascata de coagulação (Durrani, 1987).

O caminho extrínseco da cascata de coagulação ocorre quando o sangue entra em contato com superfícies naturais, porém estranhas ao sistema vascular, como, por exemplo, nas lesões traumáticas dos tecidos fisiológicos. Na presença de tromboplastina dos tecidos (fator III) e íons Ca^{++} , o fator VII é ativado e a atividade enzimática resultante causa a ativação dos fatores IX e X, ocorrendo a formação de trombina. (Josefowicz, 1984).

A trombina é uma enzima fundamental na cascata de coagulação sanguínea. Tem um potente efeito na agregação plaquetária, estimulando a liberação de vários fatores plaquetários e sendo uma das últimas enzimas formadas antes da formação do coágulo na superfície do biomaterial (Phaneuf, 1997).

Tabela 2.1: Fatores de Coagulação do Sangue

FATOR	SINÔNIMO COMUM
I	FIBRINOGENIO
II	PROTROMBINA
III	TROMBOPLASTINA
IV	ION Ca^{+2}
V	PRÓ-ACELERINA
VII	PRÓ-CONVERTINA
VIII	FATOR ANTI-HEMOFÍLICO
IX	COMPONENTE DA TROMBOPLASTINA DO PLASMA
X	FATOR STUART-POWER
XI	ANTECEDENTE DA TROMBOPLASTINA DO PLASMA
XII	FATOR DE HAGEMAN
XIII	FATOR ESTABILIZANTE DA FIBRINA

Assim, por qualquer um dos caminhos, extrínseco ou intrínseco, a cascata de coagulação leva à formação de trombina, a qual desempenha as seguintes funções: inicialmente ela induz à agregação plaquetária; em seguida ela pode ativar o fibrinogênio levando como última consequência a formação de fibrina, que é um polímero solúvel. A fibrina solúvel é catalizada pelo fator XIII ativado, formando o coágulo de fibrina insolúvel e, novamente, a trombina é envolvida na ativação do fator XIII. Agregados plaquetários, proteínas do plasma e outras células sanguíneas também são capturados na rede de ligações cruzadas da fibrina insolúvel (Josefowicz, 1984).

Num material sintético trombogênico, as plaquetas aderidas podem ser ativadas levando ao início de um conjunto de reações que conduzem à formação de trombos. Assim, a análise da ativação de plaquetas na superfície de materiais sintéticos tem sido utilizada como metodologia para a investigação da trombogenicidade de possíveis biomateriais poliméricos. Neste contexto, um aspecto clínico mais relevante é a possibilidade destas plaquetas serem capazes de promover a formação de coágulos (isto é, se elas estão no estado pré-coagulante, no qual a protrombina é rapidamente gerada) (Grunkmeier, 1998).

Além da quantificação da adesão plaquetária, a morfologia das plaquetas aderidas numa superfície polimérica mostra-se ser tão importante quanto a trombogenicidade (Hari, 1993).

Desta forma, evidencia-se a importância de se controlar o processo inflamatório e, aliando-se os conhecimentos da biologia celular e da ciência dos biomateriais, têm-se buscado sintetizar biomateriais com superfícies tromboresistentes através do recobrimento biológico da superfície do biomaterial, o que significaria, em teoria, inativar esta reação enzimática aguda.

2.2 - Biomateriais Hemocompatíveis

2.2.1 - Considerações Gerais

Biomateriais Hemocompatíveis são materiais projetados para uso em contato com a corrente sanguínea, buscando-se, portanto, em seu desenvolvimento, uma perfeita compatibilidade com o sangue. Tais materiais são extremamente diferentes com relação a sua origem (sintéticos ou naturais) e a suas propriedades físico-químicas (estrutura química, morfologia e energia de superfície), sendo que a seleção de um material hemocompatível, deve ser baseada em estudos de toxicidade *in vitro* e *in vivo*, de forma a obter-se um biomaterial de aplicação segura em termos de hemocompatibilidade (Loisance, 1997).

Biomateriais Hemocompatíveis vêm sendo crescentemente utilizados para desenvolver estratégias de tratamentos baseadas na substituição de funções defeituosas de partes do sistema fisiológico humano relacionadas ao sistema sanguíneo, como no caso de reparos no sistema

cardiovascular devido a problemas como infartos, e outras patologias ou disfunções. Corações artificiais, válvulas cardíacas, cateteres e outros órgãos artificiais são, atualmente, implantes cirúrgicos comuns. Estes órgãos artificiais, assim como os já plenamente utilizados equipamentos e acessórios para circulação extra-corpórea, são construídos principalmente a partir de materiais poliméricos, os quais têm, predominantemente, dominado as aplicações em dispositivos implantáveis e, particularmente, nos dispositivos hemocompatíveis (Durrani, 1987).

Quando se tem em meta o projeto e preparo de biomateriais com uma perfeita compatibilidade sanguínea, o objetivo é encontrar materiais que apresentem superfícies as quais não induzam a formação de trombos, fenômeno que acarreta sérios problemas no funcionamento de implantes e outros dispositivos médicos (Aldenhoff, 1995).

Deste modo, a pesquisa em materiais compatíveis com o sangue deve evoluir de estudos fundamentais e inter-relacionados abrangendo:

- 1) as propriedades físico-químicas de superfície (química, morfologia e energia superficiais).
- 2) adsorção de componentes do plasma e sua troca com outras proteínas plasmáticas, e
- 3) a trombogenicidade da superfície, tanto na fase inicial após o contato sangue-material e depois de um tempo prolongado.

A partir destas três abordagens, muitos estudos têm se fundamentado trazendo esclarecimento para o desenvolvimento de biomateriais seguramente hemocompatíveis (Haycox, 1993).

2.2.2 - Polímeros Hemocompatíveis

O uso de polímeros em medicina data de quase a mesma época do início da ciência de polímeros. De certa forma, cada polímero tem encontrado seu uso em estudos cirúrgicos experimentais logo após sua descoberta ou invenção, sendo que muitos se tornaram matérias primas da prática clínica. O uso das suturas de Nylon reporta-se ao início de 1940 e artigos de revisão sobre o uso de polímeros em cirurgias, tais como nylon, polimetilmetacrilato (PMMA), Dacron (poliéster) e cloreto de polivinila, começaram a aparecer em jornais médicos proeminentes nos meados dos anos 40 (Griffith, 1999).

Tais polímeros permanecem importantes na medicina clínica como componentes essenciais de dispositivos de próteses permanentes como implantes de quadril, lentes artificiais, enxertos vasculares, catéteres, etc., movendo a pesquisa no sentido de otimizar-se a estabilidade e desempenho destes materiais *in vivo*.

São diversos os campos biomédicos, onde os polímeros têm sido mais utilizados, podendo-se citar a engenharia de tecidos, os dispositivos implantáveis e órgãos artificiais, as próteses, a oftalmologia, a odontologia, e a reconstrução óssea, entre outros (Jagur-Grodzinski, 1999).

Quando usados em dispositivos biomédicos, os materiais poliméricos entram em contato com organismos vivos ou biomoléculas desencadeando reações biológicas importantes, tais como imunorespostas desfavoráveis ou a formação de trombos. Estas reações são muito importantes para a vida, mas induzem muitos problemas no tratamento dos pacientes portadores destes dispositivos, especialmente quando estes entram em contato com o sistema circulatório. Nestes casos, por exemplo, a infusão de anticoagulantes é requerida durante tais tratamentos no sentido de se evitar a formação de trombos na superfície do implante (Ishihara, 1998).

Biomateriais Poliméricos para aplicações hemocompatíveis têm sido alvo de múltiplas e variadas pesquisas, principalmente por profissionais da área cardiovascular, onde a questão da hemocompatibilidade é imperativa. Polímeros hemocompatíveis vêm sendo projetados e preparados com especial atenção às suas propriedades de superfície, já que o objetivo principal nestes desenvolvimentos é obter superfícies que possam interagir de modo compatível com os

componentes biológicos sanguíneos, tais como as células e proteínas plasmáticas, considerando-se a gravidade da utilização destes dispositivos quando implantados.

Do ponto de vista biológico, as reações mais importantes do sistema sanguíneo a um material de implante estão vinculadas à cascata de coagulação, fenômeno já descrito anteriormente, o qual se dá na superfície do implante. Inerente ao mecanismo de coagulação, o grau de Adesão Plaquetária e a subsequente formação de trombos na superfície do implante, torna-se, portanto, uma medida muito importante para avaliação da hemocompatibilidade em biomateriais cardiovasculares, a qual é de vital importância em tal aplicação (Schaub, 2000).

Novos polímeros hemocompatíveis têm sido estudados com o intuito de se controlar o processo de adsorção protéica e de suprimir as conseqüentes adesão e ativação plaquetária em suas superfícies (Ishihara, 1998).

A copolimerização e a formação de blendas de polímeros hidrofóbicos e hidrofílicos têm sido dois caminhos extensivamente estudados para a obtenção de superfícies poliméricas antitrombogênicas, sendo que, natureza hidrofílica de determinados polímeros tem sido relacionada à melhora de suas características hemocompatíveis (Deppisch, 1998).

Neste sentido, muitos estudos sobre otimização e adequação de superfícies de biomateriais poliméricos para aplicações anti-trombogênicas têm sido desenvolvidos utilizando metodologias que vão, a exemplo, desde o recobrimento da superfície do biomaterial, anticoagulantes biológicos como a heparina, com proteínas do sangue como a albumina, e com biomateriais sintéticos possivelmente antitrombogênicos como os hidrogéis hidrofílicos.

2.2.3 - Hidrogéis Poliméricos

Hidrogéis são materiais hidrofílicos que intumescem em água e a incorporam em sua estrutura. Constituem a primeira classe de materiais que foram projetados e desenvolvidos com o intuito de aplicação médica tendo se tornado uma forma inigualável de implantes poliméricos (Ratner, 1981). Eles têm sido usados em dispositivos para diagnósticos ou terapêuticos, em aplicações de curto e longo tempo. O interesse em hidrogéis como biomateriais origina-se de um número de vantagens reais e hipotéticas para estes polímeros:

- a) A natureza flexível da estrutura do hidrogel facilita a remoção, através de lavagem vigorosa, de materiais estranhos e de baixo peso molecular incorporados durante sua preparação permitindo, assim, a obtenção de um gel insolúvel de elevada pureza.
- b) A natureza macia e elastomérica dos hidrogéis minimiza a irritação (mecânica ou por atrito) do tecido fisiológico.
- c) Hidrogéis podem ter tensão interfacial baixa ou igual a zero com os fluidos biológicos adjacentes, minimizando, portanto, a força motriz para adsorção protéica e adesão plaquetária.
- d) Hidrogéis permitem a permeação e a difusão de metabólitos de baixo peso molecular, excreções e sais, da mesma forma que o tecido fisiológico.

Hidrogéis Poliméricos possuem, ainda, as seguintes características em comum:

- a) São constituídos de cadeias poliméricas que são reticuladas, covalente ou não covalentemente.
- b) São insolúveis em água em temperatura, pH e força iônica fisiológicos.
- c) Intumescem até um valor de equilíbrio de 10 a 98% em água, em temperatura, pH e força iônica fisiológicos.

Os fatores que influenciam o intumescimento dos hidrogéis podem ser divididos em dois grupos: aqueles que favorecem a entrada de água no polímero e aqueles que inibem ou resistem ao influxo de água. No primeiro grupo podemos citar: as fortes interações com a água, o

potencial osmótico, alto volume livre, alta flexibilidade de cadeias, baixa densidade de ligações cruzadas; no segundo grupo: fracas interações com a água, alta densidade de ligações cruzadas e baixa flexibilidade de cadeias.

Hidrogéis são geralmente caracterizados pelo nível de sua hidrofilicidade, a qual é, primeiramente devida aos grupos que possuam afinidade com a água, presentes na matriz. O aspecto mais importante de um hidrogel é a quantidade de água que ele é capaz de absorver, definido como Equilíbrio de Conteúdo de Água. Quanto maior este valor, mais hidrofílico é o hidrogel, tornando suas características hemocompatíveis mais interessantes, mas reduzindo, porém, drasticamente, sua resistência mecânica (Ratner, 1989).

Tem sido estudada a relação existente entre as diferentes estruturas da água nos hidrogéis com as propriedades destes. A água, nestes sistemas, pode existir sob três diferentes formas estruturais, dependendo da concentração de água no hidrogel. A predominância de uma determinada forma pode afetar significativamente a energia livre interfacial tanto quanto a biocompatibilidade deste material.

A partir disto, hidrogéis poliméricos têm sido estudados para diversas aplicações, podendo-se citar como bastante importante seu corrente uso em sistemas para liberação controlada de medicamentos (Rao, 1993; Andreopoulos, 1998).

Witcherle e Lim (1960) foram, provavelmente, os primeiros a sugerirem o uso de hidrogéis hidrofílicos como implantes cirúrgicos e como lentes de contato flexíveis. Além disso, muitos outros polímeros, sintéticos e naturais, têm sido amplamente usados como hidrogéis, entre eles o Poli (Álcool Vinílico), PVA e a Poli (VinilPirrolidona), PVP de forma individual.

O Poli (Álcool Vinílico) – PVA

O PVA é um polímero extensivamente estudado em relação a seu uso como biomaterial. Sendo solúvel em água, pelas interações através de seu grupo hidroxila, (vide figura 2.1) necessita ser reticulado para formar um hidrogel, o que tem incentivado mais estudos a seu respeito, pelo fato de sua reticulação ser facilmente obtida. Há muitas possibilidades de se reticular covalentemente o PVA, sendo os métodos mais simples os que utilizam glutaraldeído ou formaldeído (Cauich-Rodriguez, 1996).

O PVA tem sido, há longo tempo, utilizado como hidrogel em aplicações biomédicas. Suas propriedades hidrofílicas, resistências mecânica e ao desgaste e permeabilidade tornaram este polímero um dos primeiros candidatos para reconstrução de cartilagens ósseas tendo seu uso em lentes de contacto tornado-se comum em função de todas as propriedades citadas (Ratner, 1981).

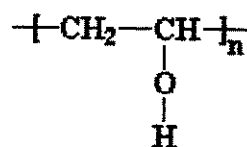


Figura 2.1: Estrutura química do PVA

Em aplicações em contato com o sangue, foi observado que sua possível hemocompatibilidade dependia diretamente do conteúdo de água no gel. Estudos anteriores já utilizavam o PVA modificado superficialmente com polímeros mais hidrofílicos, objetivando melhorar seu aspecto de trombogenicidade (Mathew, 1992).

O Poli (Vinilpirrolidona) - PVP

O PVP é um polímero rígido que possui em sua estrutura um grupo lateral polar distribuído em todo o volume polimérico, conforme visto na figura 2.2. Ele é solúvel em água e

em muitos outros solventes. Sua intensa interação com a água lhe resulta em vantagens e desvantagens com relação ao seu uso como hidrogel. Ele pode ser reticulado, mas, ao contrário do PVA, sua reticulação é muito difícil de ser realizada e sua resistência mecânica é muito baixa.

Ele tem sido utilizado como comonômero para aumentar a hidrofiliabilidade de hidrogéis de PHEMA, para uso em lentes de contacto, sendo determinante nas qualidades finais deste produto (Mark, 1985).

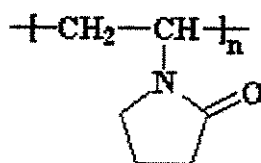


Figura 2.2: Estrutura química do PVP

O grande grupo polar em sua estrutura promove sua interação com grupos hidroxilas, facilitando sua ligação com estes grupos existentes no PVA. Somando-se a isso, suas propriedades mecânicas opostas compõem a base para a formação de blendas destes dois polímeros em um hidrogel (Cauch-Rodrigues, 1996).

Blendas de hidrogéis de PVA com pequenos percentuais de PVP foram inicialmente propostas como possíveis biomateriais hemocompatíveis. (Queiroz , 1997), sendo que, no trabalho ora desenvolvido, são estudadas blendas de PVA/PVP, com maior percentual de PVP e blendas de PVA/albuminas de plasma sanguíneo, buscando-se uma melhora das propriedades do PVA em termos de sua resposta hemocompatível.

2.3 - Modificação de Superfícies em Biomateriais Poliméricos para Aplicações Hemocompatíveis

A estrutura e a composição da superfície dos sólidos poliméricos influenciam muitas de suas propriedades e usos. O molhamento, a permeabilidade, a adesão, a fricção e a adsorção são exemplos de processos importantes em aplicações de engenharia de polímeros, cujas características são determinadas, em parte, pela constituição superficial destes materiais. A funcionalidade superficial influencia a biocompatibilidade, especialmente a tromboresistência e a adesão celular, extremamente importantes no desenvolvimento de polímeros hemocompatíveis (Rasmussen, 1977).

Desta forma, a biocompatibilidade e, notadamente, a hemocompatibilidade de um material, qualquer que seja sua natureza, começa em sua superfície. A composição química e a estrutura, a presença de contaminações, a segregação de elementos e moléculas, a distribuição de microdomínios, orientação de grupos funcionais e mobilidade molecular na camada mais externa de um biomaterial influenciará fortemente sua resposta biológica e determinará seu desempenho de longo termo. O conhecimento de superfícies, portanto, é um fator preponderante na determinação das propriedades biocompatíveis e deve ser investigado por abordagens físicas e químicas, além das biológicas (Sabbatini, 1996).

Assim, obter superfícies poliméricas hemocompatíveis tem sido um grande desafio para os pesquisadores desta área, sendo que, diferentes grupos de pesquisa, na Europa, EUA e Japão, têm trabalhado nas últimas duas décadas com o objetivo de produzir uma superfície hemocompatível ideal (Durrani, 1987).

Os caminhos para se preparar superfícies poliméricas hemocompatíveis diferem amplamente, podendo-se citar alguns dos mais utilizados pelos pesquisadores da área: (Durrani, 1987).

Reprodução de Superfícies Biologicamente Inertes:

As superfícies extracelulares das células vermelhas e brancas são hemocompatíveis, sendo que a obtenção de superfícies artificiais que as copiassem, deveria se aproximar de características o máximo possível tromboresistentes.

Heparinização de Superfícies de Implantes:

A heparina é um potente anticoagulante biológico. Ela reage com a anti-trombina III, que é um dos potentes fatores que controlam o processo de coagulação. Há centenas de referências disponíveis na literatura com relação ao uso de heparina para produzir materiais hemocompatíveis. A exemplo da aplicação de heparina, seguem também trabalhos referentes ao revestimento das superfícies com Albumina de soro sanguíneo.

Aplicação de Outros Agentes Anticoagulantes:

Além da heparina, outros materiais com conhecida atividade antitrombogênica têm sido utilizados para preparar materiais hemocompatíveis. Como exemplo, podemos citar a Urokinase, uma enzima que dissolve a fibrina, a qual tem sido usada em superfícies poliméricas quimicamente tratadas.

Síntese de Superfícies Poliméricas Hidrofílicas:

O tratamento de superfícies de implantes poliméricos pela hidrofilição tem buscado minimizar suas interações com os componentes sanguíneos, resultando na melhora da propriedade hemocompatível destes materiais. Um dos caminhos para a hidrofilição tem sido através da enxertia de monômeros hidrofílicos sobre superfícies hidrofóbicas trombogênicas, o qual toma por base os trabalhos de Witcherle e Lim que constataram que Polímeros Hidrofílicos ou Hidrogéis exibiam biocompatibilidade (Witcherle, 1960).

O revestimento de matrizes poliméricas hidrofóbicas com hidrogéis tem se configurado numa técnica muito interessante para a síntese de biomateriais poliméricos, sendo que, além da desejada melhora na hemocompatibilidade, foram observadas outras vantagens, tais como: a ligação do hidrogel à matriz rígida, torna-o insolúvel sem comprometer sua hidrofilição; hidrogéis possuem baixa resistência mecânica intrínseca, a qual é melhorada pela ligação ao polímero mecanicamente mais forte e, também, a fabricação é simplificada, pois, a forma é dada ao substrato enquanto o hidrogel enxertado segue seu contorno (Ratner, 1981).

2.3.1 - Tratamento Prévio de Matrizes Poliméricas Hidrofóbicas

- Métodos Oxidativos -

Superfícies poliméricas trombogênicas modificadas através de seu revestimento com materiais anti-trombogênicos, seja sinteticamente com hidrogéis hidrofílicos ou com substâncias biológicas como a heparina e a albumina, necessitam uma preparação prévia de suas superfícies, tendo, neste contexto, se mostrado extremamente relevantes os métodos de preparação prévia da superfície do polímero por processos de oxidação por ácido crômico, peroxidação e descargas por plasma, dentre outros. Em todos estes métodos, invariavelmente, ocorrem reações que modificam quimicamente a superfície do polímero, tornando-o propenso à ligação de novas substâncias em sua superfície (Sano, 1993); (Chan, 1995).

Tais processos visam à modificação preliminar da superfície da matriz polimérica rígida e insolúvel, gerando grupos funcionais que venham possibilitar a ligação do material de revestimento. No caso da oxidação por ácido crômico e outros métodos oxidativos, pode-se detectar a presença de muitos grupos reativos na superfície modificada: hidroperóxidos, carbonilas, carboxilas e outros, que são utilizados como pontos de ancoragem para o material de revestimento (Rasmussen, 1977).

Filmes de polietileno de baixa densidade têm sido utilizados na pesquisa de biomateriais poliméricos anti-trombogênicos, servindo como matrizes rígidas para a deposição do material hemocompatível, seja este biológico ou sintético (Santos, 1994). Embora sua natureza não seja antitrombogênica, o polietileno se apresenta como um material bastante interessante para tal aplicação por apresentar biocompatibilidade com alguns tecidos, como no caso de sua utilização em próteses de fêmur. Além disso, várias outras razões têm justificado sua utilização em muitas pesquisas afins: é um material extremamente disponível, barato e já notadamente caracterizado. O polietileno é também facilmente moldável, apresentando grande flexibilidade associada à uma resistência mecânica considerável.

O PE tem poucos grupos funcionais além das simples ligações C-C e C-H estando sua química de superfície já bastante estudada pela química dos hidrocarbonos. A baixa solubilidade do PE na maioria dos solventes comuns permite flexibilidade na escolha das condições de reações para produzir as modificações de superfície desejadas. Sendo um polímero extremamente

hidrofóbico, o PE pode tornar-se hidrofílico através do tratamento de sua superfície com solução de ácido crômico gerando uma estrutura polar PE-CO₂-H, a qual promoverá a ligação com os materiais de revestimento anti-trombogênicos, como os hidrogéis hidrofílicos (Rasmussen, 1977).

2.4 - Caracterização Físico - Química de Superfícies Poliméricas

Atualmente, qualquer sistema polimérico sintético utilizado num implante deve ser completamente caracterizado no sentido de se estabelecer as relações entre a estrutura do material, suas características de superfície e a resposta à sua presença pelo meio biológico onde ele estiver inserido (Mark, 1985).

2.4.1- Hidrofilicidade

Quando uma amostra de um polímero desidratado é posta em água, uma força motriz osmótica fará com que a água entre nas regiões sem água do polímero. Fortes interações positivas entre grupos funcionais polares no polímero e na água (p.ex. ligações de hidrogênio) aumentarão a força motriz para o intumescimento. À medida em que a água penetra no polímero, as cadeias poliméricas, inicialmente desorganizadas, tornam-se mais estendidas promovendo sua expansão e reordenação. Este processo de reordenação é desfavorecido entropicamente causando, então, a ocorrência de uma força resistente à expansão do polímero. Quando a força osmótica da água para dentro do polímero é balanceada pela força exercida pelas cadeias poliméricas em resistir ao processo de expansão, o equilíbrio de intumescimento foi atingido. A alta densidade de ligações cruzadas no polímero terá o efeito de aumentar a força de resistência à expansão das cadeias. Consequentemente, sistemas poliméricos muito reticulados apresentam baixos níveis de equilíbrio de intumescimento. Se as cadeias poliméricas forem inflexíveis, o intumescimento será inibido devido ao aumento da resistência à deformação das configurações de equilíbrio; se o

volume livre no polímero for muito pequeno, a água não conseguirá penetrar na matriz polimérica para iniciar o processo de intumescimento (Ratner, 1989).

2.4.2 - Tensão Superficial

A tensão superficial é uma medida do aumento da energia livre de uma fase, quando a área da sua superfície aumenta. Todos os líquidos têm uma tensão superficial positiva, sendo o que ocasiona a forma esférica das gotas de um aerosol. Uma substância de tensão superficial elevada tende a contrair, formando gotas esféricas mais do que uma substância de baixa tensão superficial. As tensões superficiais da água e do mercúrio são, respectivamente 72 e 480 mJ/m² e isto explica a grande dificuldade com que a água e o mercúrio se espalham sobre muitas superfícies, assim como explica a grande tendência das gotinhas de mercúrio em assumir o formato esférico. Líquidos apolares como os hidrocarbonetos têm tensão superficial em torno de 20 mJ/m², das mais baixas existentes. No caso dos polímeros sólidos, a determinação da tensão superficial não é tão simples e imediata como no caso de líquidos, tendo sido estabelecida uma metodologia própria para sua determinação, utilizando o conceito de tensão superficial crítica, definido por Zisman (Galembeck, 1991).

A grande insolubilidade resultante da alta resistência química das poliolefinas, família de polímeros à qual pertence o polietileno utilizado como matriz para revestimento com hidrogéis, torna bastante difícil sua adesividade, podendo-se citar como principais causas desta dificuldade: (Chan, 1995)

- a baixa tensão superficial das poliolefinas;
- a baixa coesão entre as camadas superficiais e as camadas sub-superficiais das poliolefinas.

A eliminação destas causas é feita através de tratamentos específicos na superfície do polímero, dentre os quais podemos incluir os tratamentos prévios de oxidação usados em matrizes poliméricas trombogênicas a serem revestidas com materiais hemocompatíveis. Desta forma, a molhabilidade de superfícies poliméricas hidrofóbicas pode ser alterada, obtendo-se ao

final uma superfície mais hidrofílica. Na figura 2.3 pode-se visualizar duas superfícies poliméricas antes (direita) e após (esquerda) tratamento superficial para melhora de hidrofiliicidade.



Figura 2.3: Superfícies hidrofóbica (à direita) e hidrofílica (à esquerda) após tratamento superficial.

2.4.3 - Tensão Interfacial e Ângulo de Contato

Quando se considera mais explicitamente duas fases, sejam dois líquidos ou um líquido e um sólido, é necessário considerar a tensão interfacial que mede a energia necessária para que uma fase se espalhe sobre a outra. No caso específico de um líquido em repouso sobre um sólido, a forma assumida pelo líquido é dependente de sua densidade, volume, tensões superficiais do líquido e do sólido e tensão interfacial entre ambos. Já o ângulo de contato, definido através da figura 2.4, só depende das tensões superficiais do sólido, γ_s e do líquido, γ_L e da tensão interfacial entre ambos γ_{SL} .

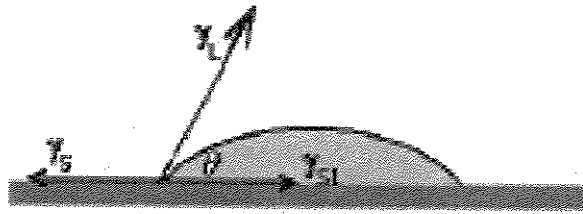


Figura 2.4: Ângulo de Contato (θ) de um líquido com um sólido.

2.4.3.1 – Fundamentos da Técnica do Ângulo de Contato

O fundamento da técnica do ângulo de contato é o equilíbrio de três fases que ocorre no ponto de contato na interface sólido-líquido-vapor, sendo este equilíbrio considerado em termos de superfície e tensões superficiais na interface.

O balanço de energia para o equilíbrio do sistema sólido-líquido-vapor na interface entre um sólido rígido não deformável e um líquido e seu vapor é dado por:

$$(df)_{t,v,n} = \gamma_{sv} \cdot dx - \gamma_{sl} \cdot dx - \gamma_{lv} \cdot dx \cdot \cos \theta$$

onde f é a energia livre Helmholtz, de um pequeno deslocamento do líquido, γ a energia livre interfacial do líquido para as interfaces sólido-vapor (γ_{sv}), sólido-líquido (γ_{sl}) e líquido-vapor (γ_{lv}), t , a temperatura termodinâmica do sistema, v , o volume, n , o número de moles e θ é o ângulo de contato. (Queiroz, 1993).

No equilíbrio $dF = 0$, logo :

$$\gamma_{sv} - \gamma_{sl} = \gamma_{lv} \cdot \cos \theta$$

que é a equação de Young.

As variações de energia livre de superfície para os processos de adesão (ω_a), imersão (ω_l) e espalhamento (ω_s) são : (Ikada, 1984).

$$\omega_a = -\gamma_{lv} \cdot (\cos\theta + 1)$$

$$\omega_l = -\gamma_{lv} \cdot \cos\theta$$

$$\omega_s = -\gamma_{lv} \cdot (\cos\theta - 1)$$

Sendo γ_{lv} a tensão interfacial liquido-vapor e o θ o ângulo de contato, a condição para a molhabilidade ocorrer é que $\omega < 0$. Como γ_{lv} é sempre positivo, o processo de molhabilidade é determinado pelo $\cos\theta$, o que justifica a utilidade do ângulo de contato na medida de molhabilidade de uma dada superfície.

Quando se deseja o perfeito recobrimento de uma superfície é necessário obter-se o menor ângulo de contato possível entre a superfície e o material de revestimento (Hancock, 2000). Isto assegurará o perfeito espalhamento deste sobre a área a ser revestida. Kang comprovou este fato em seu estudo, onde mediu o ângulo de contato de filmes poliméricos modificados superficialmente. Ele observou que, à medida que o Ângulo de Contato das superfícies poliméricas diminuiu, houve um aumento da hidrofilicidade das mesmas (Kang, 1993).

Desta forma torna-se possível compreender porque, por exemplo, uma superfície polimérica, a qual possui baixa tensão superficial não é facilmente recoberta: recobri-la significa fazer desaparecer uma superfície de baixa energia, estável, fazendo estender-se sobre ela uma outra superfície. Se esta outra superfície for de alta energia, resultará um sistema instável. Neste sistema haverá uma forte tendência a uma transformação espontânea: a contração do revestimento e a consequente exposição da superfície a ser revestida (Figura 2.5).

Para que se torne mais fácil espalhar o revestimento sobre a superfície de um polímero é necessário fazer pelo menos uma de três coisas: aumentar a tensão superficial do polímero, reduzir a tensão superficial do adesivo e reduzir a tensão interfacial entre o adesivo e o polímero. Se for possível, fazer todas as três.

A determinação de ângulos de contato é notadamente sensível às modificações que possam ocorrer em superfícies poliméricas. O ângulo variará de acordo com o que existir em até 1 (nm) nanômetro da espessura da superfície: se ela tiver, por exemplo, tornado-se polar, haverá uma mudança drástica no ângulo. A partir disto, embora as medidas de ângulos de contato sejam pouco informativas sobre a natureza química do que existe na superfície do material, essas medidas são plenamente satisfatórias na avaliação da hidrofiliicidade superficial (Gallenbeck, 1991).

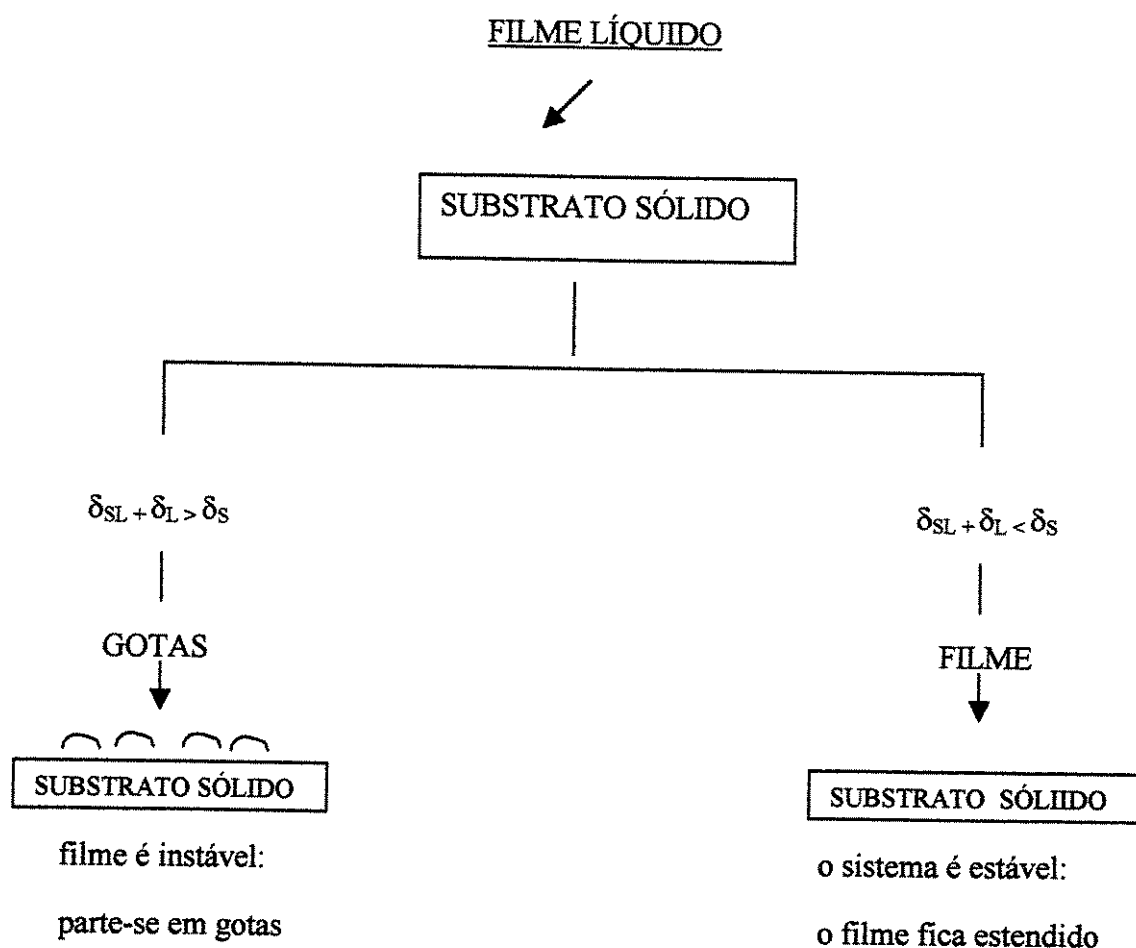


Figura 2.5: As tensões superficiais do líquido, do sólido e a sua tensão interfacial (δ_{SL} , δ_L , δ_S) determinam a estabilidade do filme líquido sobre a superfície.

Assim é possível compreender porque são tão comuns os tratamentos oxidativos em superfícies de materiais poliméricos: eles geram grupos polares nestas superfícies, aumentando a tensão superficial do polímero e, conseqüentemente, provocando a diminuição do ângulo de contato, facilitam o espalhamento do material de revestimento.

2.4.4 – Hidrofilicidade e Trombogenicidade

O aumento da hidrofilicidade de superfícies poliméricas implantáveis, notadamente em aplicações cardiovasculares, tem sido intensamente investigado como precursor da aquisição das características antitrombogênicas necessárias nestas superfícies, fator preponderante e vital em tais aplicações.

Assim, o processo de sorção de água pelos biomateriais poliméricos tem sido estudado a partir das propriedades de superfície do polímero. No caso de superfícies poliméricas revestidas com hidrogéis hidrofílicos, tem sido considerado que a água adsorvida no hidrogel exerce um efeito "plastificante" na superfície do biomaterial aumentando os processos de transições e relaxações da estrutura do polímero. Isto tem um efeito direto no módulo mecânico do polímero tornando-o mais próximo dos valores de módulo do tecido fisiológico, evitando a irritação deste pelo "stress" mecânico e abrasivo aplicado pelo material polimérico de implante. Também já anteriormente considerada, a expansão ocasionada pela sorção de água favorece a obtenção de hidrogéis poliméricos mais puros e livres dos resíduos do processo de preparação tornando-os mais adequados às aplicações bio e hemocompatíveis (Ratner, 1989).

Mais diretamente ligado à característica de hemocompatibilidade, o grau de adesão plaquetária, em superfícies de biomateriais, tem sido correlacionado à natureza mais ou menos hidrofílica destes, sendo esta hidrofilicidade avaliada a partir de medidas de ângulos de contato nestas superfícies.

O mecanismo de adesão plaquetária em vários hidrogéis com diferentes graus de hidrofilicidade tem sido estudado, mostrando haver uma relação inversamente proporcional entre hidrofilicidade e adesão plaquetária (Kulik, 1996).

A molhabilidade de superfícies poliméricas tem sido avaliada através de medidas do ângulo de contato, correlacionando-as ao mecanismo de adesão plaquetária e adsorção protéica (Lee, 1998).

2.5 - Métodos de Análise de Superfícies

A superfície de um biomaterial pode alterar ou influenciar proteínas e células do meio onde o biomaterial estiver inserido. Estas interações, levando a respostas identificadas como biocompatibilidade e hemocompatibilidade, precisam ser analisadas a partir do entendimento do que ocorre na superfície do biomaterial, para que se possa obter clareza sobre a natureza da reação biológica (Ratner, 1993).

A caracterização detalhada da superfície de biomateriais necessita, para tanto, do conhecimento da química de superfície, da organização espacial dos átomos e moléculas na superfície (morfologia), da topografia e da mobilidade atômica na superfície ou próxima desta. A combinação de alguns métodos permite obter uma visão detalhada da composição, estrutura e organização da superfície. (Ratner, 1987). Muitos métodos estão disponíveis para a caracterização de superfícies de biomateriais poliméricos hemocompatíveis, cada um possuindo características potencialmente diferentes e complementares. Dentre os vários trabalhos publicados sobre as técnicas mais recentes de análise de superfícies de biomateriais poliméricos, as técnicas de espectroscopia eletrônica são normalmente utilizadas, encontrando-se bastante fundamentadas (Ratner, 1993).

2.5.1 - Espectroscopia no Infravermelho por Reflexão Total Atenuada - FTIR-ATR

É uma técnica usual para se extrair informações sobre estruturas de superfícies poliméricas a partir da análise dos componentes do espectro infravermelho.

Na espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), a amostra é submetida à radiação eletromagnética proveniente de uma fonte específica, num intervalo de frequência pré-determinado. A radiação provoca a excitação dos átomos da molécula polimérica quando esta absorve a radiação nas regiões do infravermelho, sendo esta absorção causada por vibrações moleculares de tipos diversos. O espectômetro analisa a energia transmitida em relação

à energia incidente para uma dada frequência.(Dyer, 1965). Um interferômetro coleta os dados e o computador os analisa fornecendo os espectros.(Green, 1978).

A técnica de infravermelho com reflexão total atenuada (FTIR-ATR) é um método qualitativo eficiente para avaliar certos tipos de grupos funcionais na superfície de polímeros. É particularmente útil para estudos da química de superfícies de Polietileno, pois este polímero é transparente à técnica nas regiões de maior interesse para a caracterização de grupos funcionais orgânicos polares (Rasmussen, 1977).

Superfícies oxidadas de polietileno têm sido caracterizadas por FTIR-ATR, pois os grupos funcionais carboxílicos e carbonilas, gerados na superfície do polímero pelo processo de oxidação, possuem forte absorção no infravermelho nas frequências nas quais o polietileno é transparente à técnica (Rugg, 1954).

Baseados neste contexto utilizou-se, neste trabalho, a FTIR-ATR para a caracterização dos filmes de polietileno matrizes para o revestimento de hidrogéis, antes e após sua oxidação.

2.5.2 - Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

O grau de Adesão Plaquetária e a subsequente formação de coágulo é uma medida essencial da hemocompatibilidade de biomateriais, sendo que a morfologia das plaquetas aderidas tem tão grande importância para a trombogenicidade, quanto seu grau de adesão (Hari, 1993).

Vários métodos têm sido utilizados para quantificar a adesão plaquetária, de forma cada vez mais precisa, buscando levar compreensão a um fenômeno tão complexo (Schaub, 2000).

Neste trabalho foi utilizada a Microscopia Eletrônica de Varredura para caracterização da adesão plaquetária nos filmes poliméricos. A MEV tem sido utilizada no estudo da trombogenicidade de biomateriais poliméricos, pois permite a visualização das interações destes materiais com o sangue. Particularmente, na avaliação da Adesão plaquetária, a técnica promove a quantificação das plaquetas aderidas ao material, bem como o estudo de sua morfologia (Queiroz, 1993; Ishihara, 1998).

Capítulo 3

A Espectroscopia de Impedância Eletroquímica - EIS

3.1 – Introdução

Sistemas Eletroquímicos são, normalmente, complexos em função do grande número de variáveis de processos neles existentes. Tal problema tem sido notadamente minimizado pela utilização de técnicas de impedância em corrente alternada, as quais geram informações sobre a cinética e os diversos mecanismos de reações ocorrentes no sistema em estudo.

Dentre as técnicas que utilizam corrente alternada e, embora relativamente nova, a Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS) tem se mostrado uma técnica poderosa para se caracterizar muitas das propriedades elétricas de materiais através de suas interfaces com eletrodos eletronicamente condutores, visualizando-se na interface material/eletrodo um dos componentes do sistema eletroquímico a ser analisado (Southampton, 1990).

A EIS pode ser usada para investigar a dinâmica de ligação ou carga móvel no interior das regiões interfaciais de qualquer espécie de material líquido ou sólido, seja ele iônico, semicondutor, eletro-iônico ou mesmo isolante, como no caso dos materiais poliméricos (McDonald, 1987).

O caminho geral da técnica EIS consiste em aplicar uma perturbação ou estímulo elétrico (uma diferença de potencial ou corrente conhecida) ao sistema em estudo e observar a resposta (a corrente ou diferença de potencial resultante) a este estímulo. Como resultado disto, surge uma das grandes vantagens da técnica, a qual, por ser baseada em perturbações de pequena amplitude,

permite que o equilíbrio do sistema não seja alterado, obtendo-se desta forma resultados bastante confiáveis, ou seja, muito próximos da situação real (Bard, 1980). Além disso, devido ao método não envolver uma varredura de potencial, as medidas podem ser feitas utilizando-se soluções de baixa condutividade, o que é particularmente importante neste trabalho.

Medidas elétricas para avaliar o comportamento eletroquímico de eletrodos ou eletrólitos têm sido realizadas com células de dois eletrodos idênticos colocados simetricamente em relação às faces de uma amostra de geometria definida. Entretanto, quando o sistema analisado é constituído por elementos mais complexos como sensores químicos ou células vivas, ou mesmo em filmes finos de materiais isolantes, esta geometria simples não é suficiente para a simulação do sistema real, sendo necessária a adaptação da célula eletroquímica e a utilização de múltiplos eletrodos; assume-se que as propriedades do sistema eletroquímico não variam com o tempo, sendo esse um dos propósitos básicos da EIS para determinar tais propriedades e suas inter-relações.

Uma variedade de processos fundamentalmente microscópicos ocorrem através da célula quando ela é eletricamente estimulada e a somatória de todos leva à resposta elétrica total. Tais processos incluem o transporte de elétrons através de condutores eletrônicos e a transferência de elétrons nas interfaces eletrodo-eletrólito, entre outros (MacDonald, 1987).

3.2 - Fundamentos da Técnica EIS

Comparada com medidas de corrente contínua, onde os processos de condução elétrica são descritos em termos do comportamento da resistência ôhmica, os métodos de corrente alternada são capazes de avaliar as propriedades de camadas não condutoras entre os eletrodos. (Mansfeld, 1986). Tais camadas atuam como capacitores mostrando uma **resistência** dependente da frequência de aplicação do sinal, a qual é chamada de impedância do sistema, sendo expressa pela amplitude Z e pelo ângulo de fase θ do sinal. Normalmente o espectro é registrado numa faixa de frequência entre 10^{-2} e 10^5 Hz.

Esta técnica tem como teoria básica uma adaptação, para sistemas de corrente alternada, da definição da resistência pela lei de Ohm (EG&G, 1989).

Em sistemas de corrente contínua, onde a frequência é igual a zero, os quais podem ser considerados como casos especiais de sistemas de corrente alternada, a lei de Ohm define a resistência como:

$$E = RI \quad (1)$$

Por esta relação, pode-se aplicar uma diferença de potencial (E), medido em volts (V), medir a corrente resultante (I), em ampéres (A), e calcular a resistência (R), em ohms (Ω). Em tais sistemas de corrente contínua, a resistência ao fluxo de elétrons é feita somente pelo elemento de circuito caracterizado como resistor.

Em circuitos de corrente alternada, o impedimento do fluxo de elétrons é feito, além do resistor, por dois outros elementos de circuito, chamados de capacitores e indutores. Em uma célula eletroquímica, eletrodos de cinética lenta, fases de reações químicas lentas e difusão, podem ser considerados análogos a resistores, capacitores e indutores.

A oposição combinada, à perturbação provocada no sistema em estudo, de todos os resistores, capacitores e indutores de um circuito de corrente alternada, é chamada **Impedância** do sistema. A impedância pode ser expressa como um número complexo, onde o componente real é a resistência e o imaginário é o efeito combinado da capacitância e da indutância.

Como já exposto, nesta técnica é evidenciada a relação entre uma perturbação (corrente ou potencial) aplicada a um dado sistema e a resposta a esta perturbação (potencial ou corrente). Comumente, a perturbação é feita em potencial (E), medindo-se a variação em corrente (I), pois perturbações em potencial são muito mais rápidas. Usa-se perturbação em corrente, quando a reação em estudo é muito rápida. Assim, analogamente à definição da resistência pela lei de Ohm, temos que a impedância Z pode ser definida como uma relação entre E e I, de forma que:

$$E = Z \cdot I \quad (1)$$

ou

$$Z = E/I \quad (2)$$

Esquemáticamente, podemos representar tal situação como na figura 3.1:

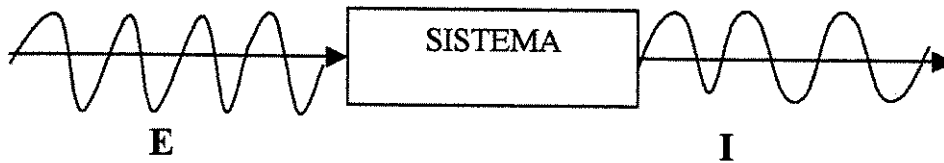


Figura 3.1 – representação esquemática de sinal de perturbação em um sistema e sua resposta

A perturbação é feita com E (a uma dada frequência) e a resposta é em I. Sendo Z a relação entre os dois, temos, para cada frequência f (lembrando que $\omega = 2\pi f$), a Impedância total Z.

Lembrando que a Corrente, I, e o Potencial, E, são funções periódicas dependentes da frequência angular ω e do ângulo de fase θ como visto nas equações a seguir:

$$E = E_0 \cos \omega t \quad (3)$$

onde $\omega = 2\pi f$, sendo f a frequência em que a corrente alternada oscila, a qual é medida geralmente em hertz (Hz), sendo ω expressa em radianos e,

$$I = I_0 \sin (\omega t + \theta), \quad (4)$$

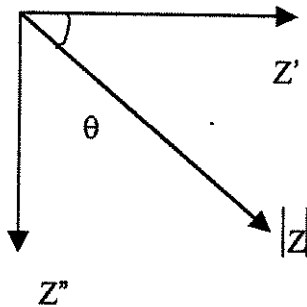
analogamente, Z é dependente da frequência ω e do ângulo de fase θ .

Sendo Z uma grandeza vetorial complexa, podemos representá-la por um número complexo:

$$Z = Z' + Z''j \quad (5)$$

onde: Z' = parte real e Z'' = parte imaginária, com $j = \sqrt{-1}$;

e vetorialmente:



Onde: $|Z| = \sqrt{Z'^2 + Z''^2} \quad (6)$

e

$$\tan \theta = \frac{Z''}{Z'} \quad (7)$$

Quando utilizamos a técnica de Impedância, um sinal senoidal de pequena amplitude é aplicado em torno de um ponto da curva fictícia na figura 3.2; por exemplo, um valor E_0 qualquer. É como se reduzíssemos a variação de potencial, ΔE , a um valor tão pequeno, que praticamente não causasse nenhuma consequência irreversível para o sistema. Esse ΔE provoca variação na corrente, ΔI , também de pequena amplitude (Mattos, 1982).

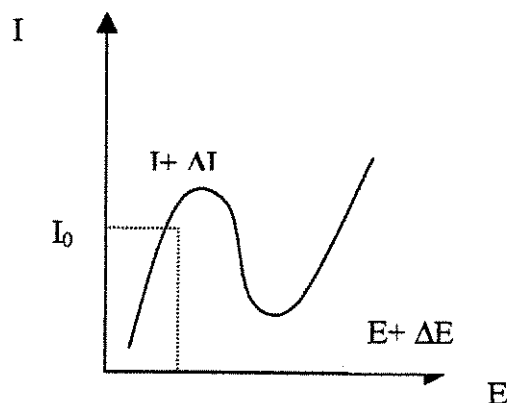


Figura 3.2 – Perturbação em torno de um ponto de um sistema

Assim o sistema é considerado linear em torno do ponto (E_0, I_0) . E_0 pode ser o potencial de repouso do sistema ou um potencial qualquer imposto, como é feito em eletrodeposição ou em dissolução em sistemas polarizados.

O sistema em estudo é submetido a várias perturbações, sempre com a mesma amplitude, mas em frequências diferentes, ou seja, numa varredura de frequências, o que caracterizará o sistema através da Impedância. Teremos assim, para o sinal de perturbação em cada frequência, uma resposta em Impedância correspondente a essa perturbação.

Assim que o experimento é completado, os dados obtidos a cada frequência consistem de:

E' = componente real da voltagem

E'' = componente imaginária da voltagem

I' = componente real da corrente

I'' = componente imaginária da corrente

Destes dados é possível computar o ângulo de fase, θ , e as partes real e imaginária, Z' e Z'' , da Impedância Total $|Z|$, para cada frequência aplicada (EG&G, 1989).

A avaliação e interpretação dos resultados de ensaios de impedância são feitas a partir da análise dos espectros obtidos, havendo uma variedade de formatos gráficos possíveis de serem obtidos, cada um deles oferecendo vantagens específicas para revelar as características do sistema analisado. Uma das formas de análise, que torna mais clara a interpretação destes gráficos, é a utilização do conceito de elementos de circuitos elétricos equivalentes.

3.2.1 - Elementos de Circuitos Equivalentes:

A utilização da técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica para a caracterização de um dado sistema permite associar as diferentes reações observadas no sistema em estudo a um elemento de circuito elétrico equivalente. Estes elementos podem ser:

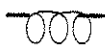
Resistor: a impedância de um resistor não tem componente imaginário e é, neste caso, independente da frequência. O ângulo de fase é nulo, ou seja, a corrente está em fase com a voltagem. Para fenômenos físicos como a adsorção e a formação de películas, este elemento do circuito equivalente é usado para representar a resistência ôhmica (R_Ω) e a resistência de polarização (R_p). Para sistemas eletroquímicos mais simples, pode-se definir a resistência da solução como uma resistência ôhmica (R_Ω), e a resistência de transferência de carga na interface eletrodo/solução como resistência de polarização (R_p). A resistência ôhmica poderia também representar a resistência não compensada entre os eletrodos de trabalho e o de referência. Já a resistência de polarização também é definida como a inclinação da curva da corrente versus o potencial, no estado estacionário. Além disso, para circuitos de corrente alternada, esta resistência representa o limite da parte real da impedância, para uma frequência próxima de zero.

Capacitor: a impedância de um capacitor não tem componente real e seu componente imaginário varia inversamente com a frequência; o ângulo de fase é de 90° , ou seja, a corrente está adiantada em 90° com relação à voltagem. Pelo fato da impedância de um capacitor variar inversamente com a frequência, para altas frequências um capacitor atua como um curto circuito, ou seja, sua impedância tende a zero. Para baixas frequências, próximo à corrente contínua, um capacitor atua como um circuito aberto, ou seja, sua impedância tende ao infinito. Para fenômenos físicos como adsorção e formação de películas este elemento do circuito equivalente representa a capacitância de uma dupla camada (C_{dl}) na interface eletrodo/solução. C_{dl} pode ser considerada como uma capacitância pura no sentido físico, pois resulta da separação de cargas no espaço (EG&G PARC Application Note AC-1).

Indutor: a exemplo do capacitor, sua impedância não tem componente real. Entretanto, seu componente imaginário aumenta com o aumento da frequência. O ângulo de fase é de 90° , mas a corrente está atrasada em 90° com relação à voltagem. Para baixas frequências, um indutor atua como um curto circuito, ou seja, sua impedância tende a zero. Para altas frequências atua como circuito aberto.

A tabela 3.1 mostra os símbolos e as equações de impedância para estes elementos de circuitos equivalentes:

Tabela 3.1 - Representações dos elementos de circuitos equivalentes e suas equações de impedância.

elemento	símbolo	equação da impedância
Resistor (R)		$Z = R + 0j; j = \sqrt{-1}$
Capacitor (C)		$Z = 0 - \frac{j}{\omega C}; \omega = 2\pi f$
Indutor (L)		$Z = 0 + j\omega L$

Como ilustração destes conceitos, um sistema eletroquímico bastante simples poderia ser representado pelo circuito mostrado na figura 3.3.

Neste circuito, R_{Ω} seria a resistência entre o eletrodo de trabalho e o de referência. R_p seria a resistência de polarização na interface solução /eletrodo. C_{dl} seria a capacitância da dupla camada nesta interface. O conhecimento de R_p permitiria o cálculo das taxas de reações eletroquímicas e as medidas de capacitância poderiam promover informação sobre fenômenos de adsorção e desorção, processos de formação de filmes no eletrodo, além de informar sobre a integridade de revestimentos orgânicos (EG&G PARC Application Note AC-1).

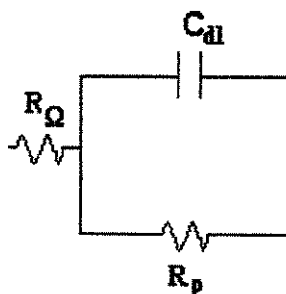


Figura 3.3 – Circuito Elétrico Equivalente de um sistema eletroquímico simples

Elementos de Circuitos Equivalentes Não Ideais

Quando os valores obtidos dos experimentos de impedância são associados aos valores de um circuito equivalente, este circuito é normalmente construído com elementos ideais. Entretanto esses elementos só se aproximam da idealidade sobre uma faixa limitada de frequência. Assim, ao se fazer a distribuição dos elementos no circuito simulado, nem sempre a impedância pode ser expressa como uma combinação de elementos ideais. Características específicas de cada sistema analisado poderão contribuir conjuntamente para os valores de um mesmo elemento ou, por outro lado, a corrente total, em função de outras características físicas, poderá se distribuir na superfície do eletrodo gerando vários elementos resistivos como resposta. Um fator que pode complicar ainda mais estes casos ocorre quando pequenos sinais de frequência e dependência do tempo estão envolvidos. Para estes processos dependentes da frequência podem ser introduzidos alguns elementos de circuito os quais caracterizarão a não idealidade; a estes se denomina Elemento de Fase Constante (CPE) (McDonald, 1987).

Materiais poliméricos têm sido analisados por espectroscopia de impedância eletroquímica com o auxílio do conceito de circuitos equivalentes. As características físicas de um filme, tais como a resistência ao transporte de cargas (iônicas e eletrônicas), e as características do sistema de análise, tais como a resistência da solução e a capacitância da dupla camada, podem ser caracterizados e associados com os componentes elétricos de um circuito, tais como resistências e capacitores (Bandeira, 1998; Castela, 1998).

Os filmes estudados neste trabalho foram caracterizados em função do circuito equivalente visto na figura 3.6, estando cada elemento associado ao comportamento dos sistemas filme/eletrolito, da seguinte forma:

R_s = Resistência da Solução PBS

Q_f = Capacitância do Filme (CPE)

R_f = Resistência do Filme

Q_{tc} = Capacitância de Troca de Carga (CPE)

Aqui usa-se a letra “Q” para caracterizar um elemento de circuito não ideal, pois a capacitância dos filmes não mostra o comportamento de um capacitor ideal, mas sim uma associação de comportamentos capacitivo e resistivo.

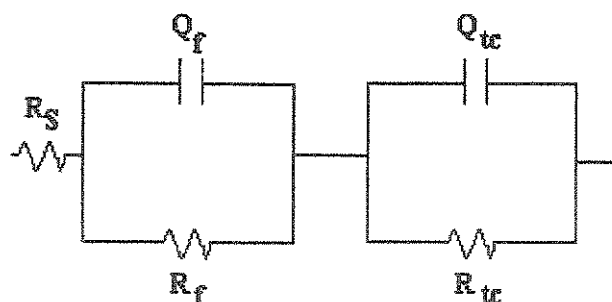


Figura 3.4: Circuito Elétrico Equivalente para os Sistemas Poliméricos de filmes de PE e Filmes Revestidos.

3.2.2 - Gráficos obtidos das medidas de impedância eletroquímica:

Os formatos mais comuns de gráficos são os Diagramas de Bode e Nyquist. A curva que mostra a variação de $|Z|$ com a frequência (f) é conhecida como o Diagrama de Bode $|Z|$ ou Bode-Magnitude, a curva de variação de θ com a frequência é conhecida como Diagrama de Bode Fase, e a curva de variação de Z' com Z'' é conhecida como o Diagrama de Nyquist.

A Curva de Bode

A figura 3.4 é uma representação esquemática da impedância do circuito da figura 3.3. Este formato permite examinar a impedância absoluta $|Z|$ como calculada pela equação 6 e o ângulo de fase θ , da forma de onda resultante, em função da frequência.

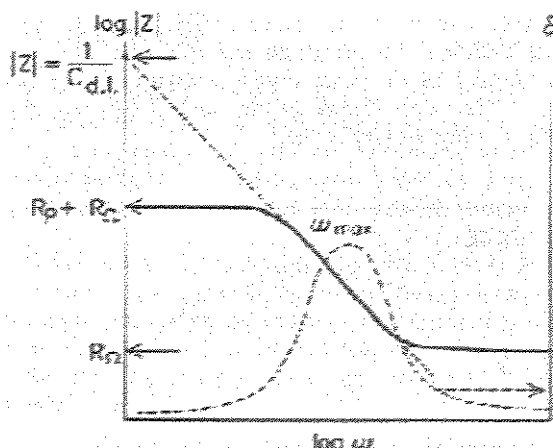


Figura 3.5 - Curvas de Bode para o Circuito representado na figura 3.3

A Curva Nyquist

Este formato é também conhecido como diagrama plano de impedância complexa. O gráfico mostra o componente imaginário da impedância (Z'') versus o componente real (Z') da impedância, para cada frequência de excitação. A curva na figura 3.5 ilustra a impedância do circuito na figura 3.3. Como indicado, esta curva poderia ser usada para calcular os valores R_Ω , R_p e CDL. Note-se que, neste caso, em altas frequências somente a resistência ôhmica contribui para a porção real da impedância, enquanto que, em baixas frequências a resistência de polarização também contribui para estas medidas.

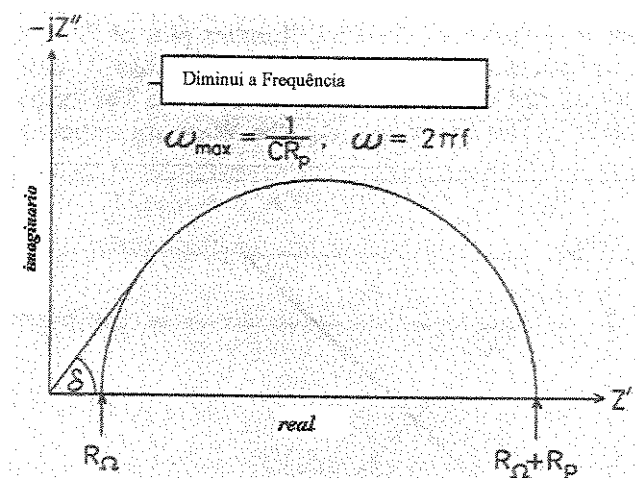


Figura 3.6 – Curva Nyquist para o Circuito representado na figura 3.3

3.3 - Aplicações da EIS

A Espectroscopia de Impedância Eletroquímica vem tendo sua eficiência comprovada pelo crescente número de estudos publicados, sendo que, dentre as técnicas de caracterização eletroquímica (galvanostáticas e potenciostáticas, por exemplo), esta técnica tem mostrado sensibilidade superior às demais na detecção dos fenômenos investigados (Southampton, 1990). Como exemplo disto, a técnica EIS teve sua eficácia comprovada no monitoramento de corrosão por microorganismos em metais e em compósitos poliméricos (Dong Gu, 1997). Os resultados

destes estudos tornaram-se de essencial importância nas indústrias alimentícia (Roberge, 1994) e aeroespacial (Mertens, 1997; Bonnel, 1998), onde a técnica já vem sendo normalmente aplicada.

Outro importante aspecto da EIS está na possibilidade de seu uso como ferramenta para a caracterização de materiais, relacionando aspectos da microestrutura com características eletroquímicas. Se comparada com as técnicas convencionais de caracterização, a EIS pode fornecer, como aquelas, informações para análise individual de características dos materiais ou então, pode-se associar as informações obtidas pela EIS com as fornecidas pelas técnicas convencionais (Macdonald, 1987). Por exemplo, a semicondução em materiais poliméricos, originada pelo mecanismo de vazios atômicos, foi prontamente caracterizada por EIS; além disso, características como a constante e a perda dielétricas também foram investigadas (ElShabasy, 1996).

Assim, bastante amplas e variadas tornaram-se as áreas de aplicação da técnica EIS, destacando-se, notadamente, a investigação de problemas de corrosão em superfícies metálicas revestidas com tintas orgânicas, a partir das alterações ocorrentes neste revestimento durante a estimulação eletroquímica (Mansfeld, 1986; Mansfeld, 1990). Quando aplicada a tais sistemas, a técnica EIS pode fornecer vastas informações sobre os mecanismos e a cinética das reações ocorrentes no sistema medido (EG&G, 1985), podendo-se estudar detalhadamente as propriedades de proteção à corrosão destas tintas (Hollaender, 1992).

Belluci (1992), utilizou a técnica para avaliar as mudanças nas propriedades elétricas e o transporte de água em membranas de poliimida e de poli (tereftalato de etileno) durante sua exposição em meio aquoso. Tais membranas são usadas como revestimentos para proteção à corrosão metálica. Também foram realizadas medidas convencionais das propriedades de transporte de água nos filmes utilizando o método de gravimetria, de onde concluiu haver uma razoável concordância entre os resultados obtidos através da técnica eletroquímica e aqueles obtidos pelo método convencional. As propriedades dielétricas foram analisadas através da obtenção de dados de capacitância das membranas.

A partir das aplicações da EIS na caracterização de revestimentos orgânicos, que nada mais são do que filmes poliméricos, a técnica foi usada como ferramenta na caracterização das propriedades elétricas e das características de materiais poliméricos modificados superficialmente (Santos, 1994).

Com base nos dados de trabalhos anteriores deste grupo, foram obtidos resultados específicos no campo dos biomateriais poliméricos, pela aplicação da EIS no estudo da modificação superficial de filmes de polietileno copolimerizados por enxertia de acrilamida.

Neste trabalho ficou evidenciada a relação entre as características hidrofílicas dos enxertos de poliacrilamida, sobre as matrizes hidrofóbicas de polietileno, com as características eletroquímicas do polímero enxertado (Santos, 1994).

Também relacionada a aspectos de biocompatibilidade, a técnica EIS foi utilizada no estudo do fenômeno de adsorção e interação protéica em superfícies sólidas metálicas. Os pesquisadores observaram que ocorriam mudanças na capacitância elétrica na interface metal-eletrólito conforme as moléculas de proteínas eram adsorvidas à superfície metálica e verificaram que as alterações de capacitância ocorriam, principalmente, onde havia contato mais íntimo das moléculas de proteína com a superfície do metal (Lundstron, 1987).

Ainda nesta área, a técnica EIS foi utilizada como ferramenta de caracterização e análise de soluções e filmes poliméricos, objetivando verificar não só a sensibilidade da técnica a aspectos como a modificação superficial de filmes poliméricos para uso como biomateriais, como também e, principalmente, relacionar aspectos trombogênicos destes biomateriais com suas características eletroquímicas, relacionando estas com o grau de hidrofiliidade dos mesmos (Santos, 1997).

A hidrofiliidade de filmes poliméricos e revestimentos orgânicos tem sido, direta ou indiretamente, caracterizada pela técnica de impedância através de métodos baseados em medidas da capacitância relacionadas ao volume de absorção de água nestes materiais (Castela1998; Sharma, 1998; Deflorian, 1998).

Hidrogéis depositados sobre microeletrodos também foram analisados, estabelecendo-se uma relação entre a resposta eletroquímica e o inchamento destes géis imersos em soluções aquosas (Watanabe, 1993).

A partir dos resultados obtidos nos trabalhos de investigação de hemocompatibilidade e somando-se a estes, os conhecimentos levantados nesta revisão, a técnica EIS foi utilizada na investigação da hemocompatibilidade de biomateriais poliméricos através do aumento da hidrofiliidade de suas superfícies pelo revestimento com géis hidrofílicos, fundamentando o trabalho aqui apresentado.

Capítulo 4

Procedimento Experimental

4.1 - Preparação das Amostras:

4.1.1 - Substratos:

Filmes de polietileno de baixa densidade (PE Não-Oxidado) foram utilizados como matrizes (substratos) para o revestimento com hidrogéis e albumina. As amostras de polietileno de 4x4 cm foram obtidas a partir de embalagens comerciais de espessura 100 μm , tendo sido submetidas à lavagem com água deionizada em equipamento ultrassônico para remoção de poeira e eventuais resíduos de manipulação, e, em seguida, secas em dessecador sob vácuo e aí mantidas até a etapa de oxidação.

4.1.2 - Oxidação:

São conhecidos vários métodos oxidativos utilizados para alterar a funcionalidade de superfícies de polietileno pela introdução de grupos de ácidos carboxílicos. Um deles, bastante estudado, utiliza solução de ácido crômico para oxidar a superfície de PE, com posterior remoção de resíduos inorgânicos com ácido nítrico. O objetivo da utilização deste agente oxidante polar reside nos fatos de que, primeiro, além de converter em espécies de ácidos carboxílicos, os grupos metilenos expostos na superfície do polietileno, em segundo e não menos importante lugar, a funcionalização deverá ficar restrita somente à superfície do polietileno (Rasmussen, 1977).

Neste trabalho, filmes de PE foram submetidos à oxidação química prévia com a finalidade de introduzir grupos reativos no filme matriz para promover sua ligação química com hidrogéis de PVA, blendas de PVA/PVP e blendas de PVA/Albumina.

A oxidação foi realizada segundo o procedimento abaixo:

Colocam-se os filmes em solução sulfocrômica a 70°C por 30 minutos; depois, em solução de ácido nítrico, 70%, a 50 - 60°C por 30 minutos. Em seguida, enxágua-se repetidamente em água destilada a 50 - 60 °C.

Seca-se o filme entre papéis de filtro, mantendo-o em dessecador a vácuo por, pelo menos, 24h antes de fazer-se o revestimento.

4.1.2.1 - Espectroscopia no Infravermelho - FTIR-ATR

Objetivando verificar o grau de funcionalidade obtido pela oxidação nas superfícies poliméricas, amostras dos filmes PE Oxidado e de PE Não-Oxidado foram caracterizadas por espectroscopia no infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR), utilizando um Espectrofotômetro modelo 1600 da Perkin-Elmer e acessório de reflexão com cristal ATR (Reflectância Total Atenuada).

O princípio deste tipo de espectroscopia baseia-se no fato de que quando um feixe de radiação passa de um meio mais denso (cristal de ATR) para um meio menos denso (amostra), ocorre reflexão. A fração do feixe de luz incidente que é refletida aumenta conforme aumenta o ângulo de incidência, e quando excede um determinado ângulo crítico (α) a reflexão é completa. No ponto de reflexão (de acordo com observações experimentais) o feixe atua como se penetrasse a uma pequena distância dentro da amostra. A profundidade de penetração (dp) é dada pela equação abaixo:

$$dp = l / \{2n_1[\sin^2(Q) - (n_2/n_1)]^{1/2}\}$$

onde:

n_1 - índice de refração (cristal ATR).

n_2 - índice de refração (amostra).

q - o ângulo de incidência.

l - o comprimento de onda da radiação.

A radiação de penetração é chamada onda evanescente. Se o meio menos denso absorve a radiação evanescente, ocorre atenuação do feixe a comprimentos de onda correspondentes às bandas de absorção no infravermelho. (Dyer, 1965; Green, 1978).

4.1.3 - Revestimento dos Filmes de PE

Foram preparados quatro tipos de soluções aquosas de hidrogéis e proteínas para revestimento dos filmes de polietileno previamente oxidados (PE Oxidado), nas proporções abaixo descritas, as quais foram escolhidas com base no trabalho desenvolvido por Queiroz (1993):

- Solução 1: solução de poli (vinil álcool) a 3%
- Solução 2: solução de poli (vinil álcool) a 3% e poli (vinilpirrolidona) a 3%
- Solução 3: solução de poli (vinil álcool) a 3% e albumina de soro bovino a 1%
- Solução 4: solução de poli (vinil álcool) a 3% e albumina de soro humano a 1%

O procedimento para aplicação dos revestimentos é descrito a seguir:

Fixam-se os filmes de PE Oxidado em suportes individuais de madeira. Faz-se um primeiro revestimento, pincelando-se a superfície do filme de PE Oxidado com a solução de hidrogel; leva-se o conjunto suporte + filme + hidrogel para a estufa a 60°C pelo período de 1 a 2 horas. Faz-se um segundo revestimento deixando-se o conjunto na estufa a 60°C até a cura total do revestimento. Após isto, os filmes foram mantidos em dessecador sob vácuo, evitando a umidificação dos filmes, até ser realizado o ensaio de Adesão Plaquetária.

As amostras foram denominadas, em função do revestimento com hidrogel, em:

- PE/PVA: amostra revestida com a Solução 1
- PE/PVA/PVP: amostra revestida com a Solução 2
- PE/PVA/BSA: amostra revestida com a Solução 3
- PE/PVA/HSA: amostra revestida com a Solução 4

4.2 - Estudo da Hemocompatibilidade

4.2.1 - Adesão Plaquetária

Amostras circulares de 0.5 cm de diâmetro de PE Não-Oxidado, PE Oxidado e de cada filme revestido foram ensaiadas conjuntamente num mesmo teste. As amostras foram aderidas em lamínulas de vidro com fita dupla face. As lamínulas contendo as amostras foram colocadas em placas de Petri de 5cm de diâmetro, que, por sua vez, foram colocadas em placas maiores com água. Os conjuntos placas de Petri + amostras foram climatizados em estufa a 37°C (temperatura fisiológica) por 15 minutos, mantendo-se a umidade e a temperatura adequadas ao teste. Cobriram-se as amostras com sangue humano, de doador adulto, por 3 minutos a 37 °C, adicionando-se, em seguida, solução salina de NaCl a 0,2 M, a cada placa. A seguir, adicionou-se glutaraldeído a 2,5% por 10 minutos à temperatura ambiente, finalizando-se com a desidratação consecutiva em etanol a 50, 75 e 95%, por 5, 10 e 15 minutos respectivamente.

Após este procedimento, os conjuntos foram submetidos a vácuo em dessecador e aí mantidos até caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

4.2.2 - Microscopia Eletrônica de Varredura

As amostras submetidas ao ensaio de Adesão Plaquetária foram retiradas do dessecador e, após metalização em ouro, foram observadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV), marca JEOL JXA – 840 A.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) pode ser utilizada na visualização da interação dos filmes poliméricos com o sangue, possibilitando não só identificação do material sanguíneo, tal como hemáceas e plaquetas, bem como sua quantificação.

A adesão de plaquetas nas amostras foi analisada observando-se, pelo menos, cinco regiões diferentes da superfície de cada amostra e caracterizando-se as amostras em mais ou menos trombogênicas conforme o grau de adesão plaquetária e a forma das plaquetas aderidas.

4.3 – Caracterização Físico-Química

4.3.1 – Técnica do Ângulo de Contato

A hidrofiliabilidade dos filmes foi avaliada pela determinação da sua molhabilidade superficial, através de medidas de ângulo de contato, utilizando a técnica da projeção horizontal de uma microgota de água na superfície polimérica.

Os filmes de PE revestidos com hidrogéis e proteínas foram condicionados em dessecador sob vácuo e, em seguida, fixados no suporte plano do equipamento para medida de ângulo de contato. Uma gota de água bidestilada e deionizada foi colocada sobre a superfície de cada um com o auxílio de uma micropipeta.

As imagens das gotas foram captadas em vídeo através de uma câmera Sony 3CCD-MacroLens. A interface utiliza uma placa para digitalização das imagens e, através do programa Image Pro Plus 3.0, foram medidos os ângulos de contato, em graus.

Foram realizadas em média quatro a cinco imagens ao longo das regiões de cada amostra, utilizando-se medida do ângulo direto e confirmando-se este através da medida do ângulo complementar. Foram tiradas as médias das medidas de cada amostra e, a partir destas, feita a avaliação da variação do ângulo de contato versus o grau de hidrofiliabilidade dos filmes.

4.4. - Estudo Eletroquímico

4.4.1 – Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

O estudo eletroquímico foi realizado pela aplicação da técnica de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS) utilizando como sistema de medição um potenciostato/galvanostato modelo 273A da Princeton Applied Research, amplificador de sinais lock-in modelo 5301EC, acoplados a um PC com periféricos e o Programa de Impedância Eletroquímica modelo M398 – 1.10, para gerenciamento dos ensaios e aquisição de dados.

As amostras de filmes de PE Não-Oxidado, PE Oxidado e dos filmes revestidos com hidrogéis foram analisadas por impedância eletroquímica, utilizando-se como eletrólito uma

solução tampão fosfato (PBS), pH 7,4 à temperatura de 37°C. A área de exposição de cada amostra foi de 1cm².

Também foi realizado o ensaio por EIS com o eletrólito isoladamente, visando-se verificar sua contribuição nos valores de impedância dos filmes.

As análises foram realizadas utilizando-se uma célula eletroquímica de corpo duplo simétrico com entrada para dois eletrodos conforme é visto na Figura 4.1. O filme é fixado entre as flanges e a célula totalmente preenchida com solução PBS. Foram utilizados eletrodos de platina, colocando-se o eletrodo de referência em curto-circuito com o contra-eletrodo.

Foram feitas duas varreduras de frequência para cada amostra na faixa de 10⁵ Hz a 10⁻² Hz; esta faixa é usual para medidas de impedância na qual são caracterizados a maioria dos sistemas eletroquímicos (EG&G, 1989). As medidas foram realizadas em dois tempos distintos: uma varredura assim que a amostra é colocada em solução PBS (t_0) e outra após 24 h de imersão em PBS (t_{24}), sem abertura da célula de ensaio, tendo por objetivo analisar o sistema eletroquímico com relação ao equilíbrio de sorção líquida dos filmes. A área de exposição das amostras foi de 1cm² e a amplitude do sinal foi de 10 mV. Os resultados obtidos para cada frequência aplicada, Z' , Z'' , $|Z|$ e θ , foram expressos em diagramas de Bode Fase, Bode-Módulo e Nyquist, objetivando-se extrair, de cada formato, características distintas dos sistemas eletroquímicos analisados.

Os dados das curvas de impedância foram ajustados através do programa BOUKAMP, o qual permite a simulação do circuito elétrico equivalente, tendo sido considerados os erros relativos para seleção dos dados das curvas de ajuste. Cada filme em cada tempo de imersão foi associado a um circuito elétrico equivalente para a análise dos elementos de circuito relativos a cada sistema filme/revestimento.

4.4.2 – Preparo da Solução PBS – “Phosphate Buffered Solution”

O eletrólito utilizado nas medidas de Impedância foi a solução PBS, a qual é uma solução salina aquosa de pH = 7.4, simulando o pH do corpo humano. Desta forma esta solução é utilizada como meio de simulação para os filmes revestidos com hidrogéis em contato com os fluidos fisiológicos. A composição desta solução, para um volume de 1000ml é dada a seguir:

23,6 g de fosfato monossódico

11,64 g de fosfato dissódico

11,7 g de cloreto de sódio

A solução foi preparada e trocada a cada nova medição, para evitar o desenvolvimento de microorganismos, o que provavelmente comprometeria as medidas eletroquímicas.

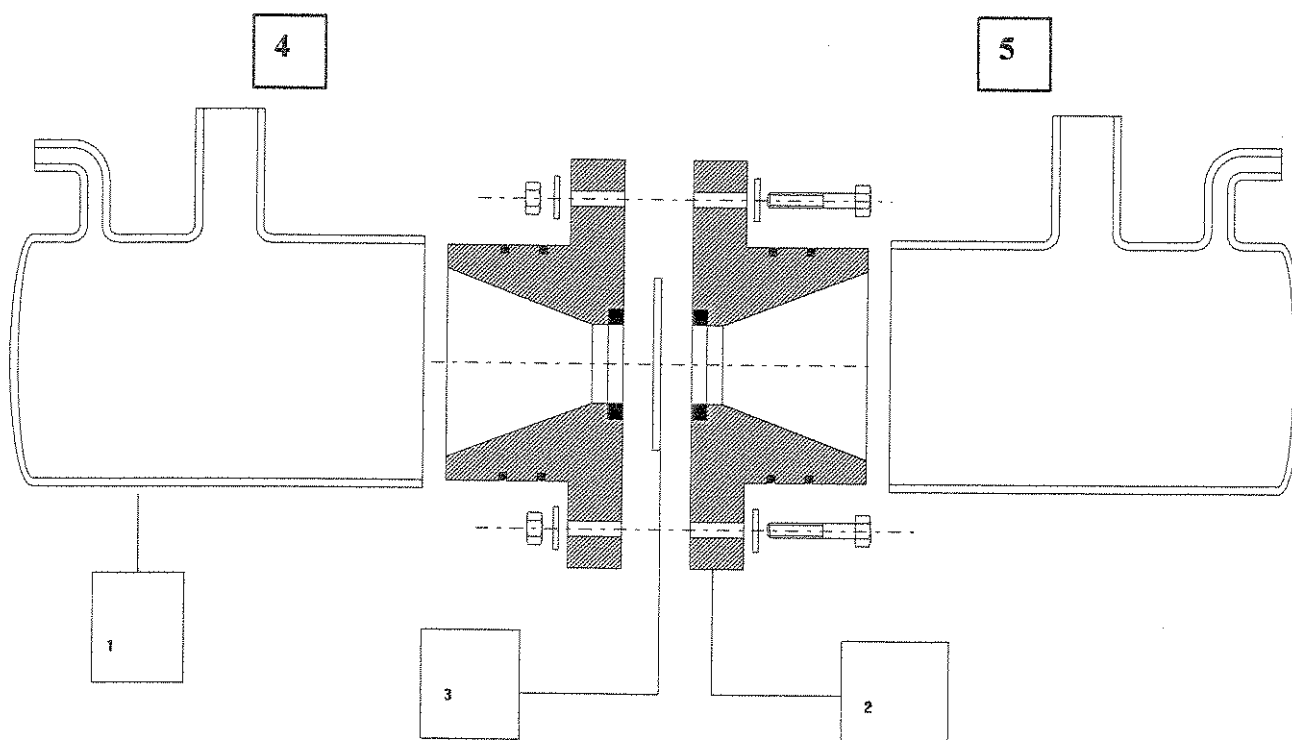


Figura 4.1 - Esquema da Célula Eletroquímica.

- Legenda:
- 1-Célula de Vidro
 - 2-Flange
 - 3-Amostra (filme polimérico)
 - 4,5-Aberturas para eletrodos.

Capítulo 5

Resultados e Discussão

5.1 - Oxidação dos Filmes de PE a serem usados como Matrizes para revestimento com Hidrogéis.

5.1.1 – Caracterização por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

A oxidação de superfícies de polietileno utilizando reagentes polares, como as soluções de ácido crômico, garante o não inchamento do polímero e produz uma alta funcionalização de sua superfície por espécies de ácidos carboxílicos, as quais podem ser convertidas em inúmeros derivados carbonílicos. Estes derivados carbonílicos possuem alta absorção no infravermelho em frequências nas quais o polietileno é transparente à técnica de infravermelho com reflectância total atenuada ATR-IR possibilitando sua caracterização (Rasmussem, 1977).

Os parâmetros tempo/temperatura definidos para o processo de oxidação, segundo o procedimento descrito no capítulo 3, permitiram obter filmes com as características estruturais necessárias para um eficiente revestimento posterior, características estas identificadas pelos espectros de Infra-Vermelho vistos na Figura 5.1-A e 5.1-B.

No espectro (ATR-IR), obtido para os filmes de PE Não Oxidado, são observadas somente as bandas de absorbância referentes às ligações simples carbono - carbono e carbono - hidrogênio do polietileno. Figura 5.1-A.

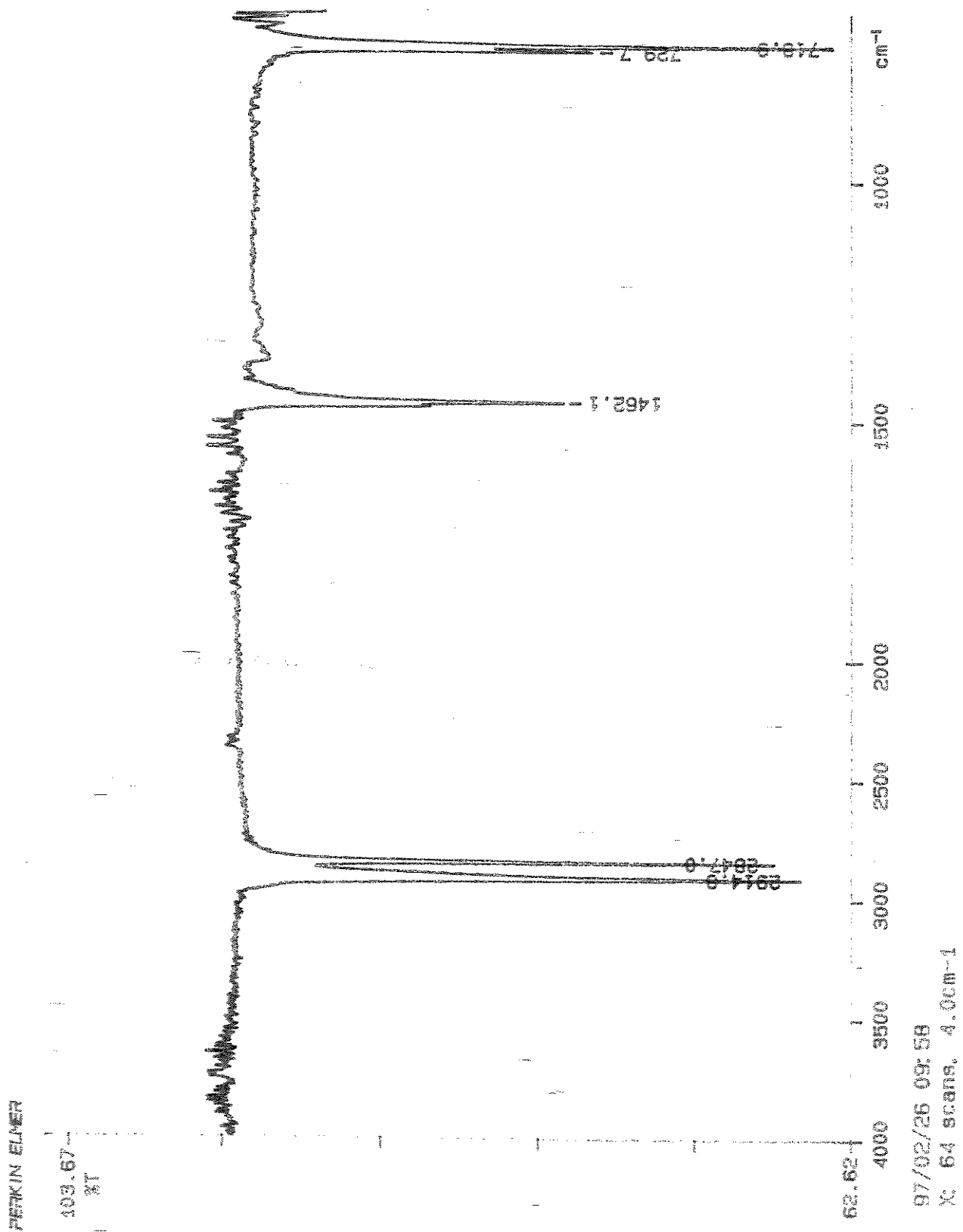


Figura 5.1 - A: Espectro de Infravermelho Polietileno Não – Oxidado.

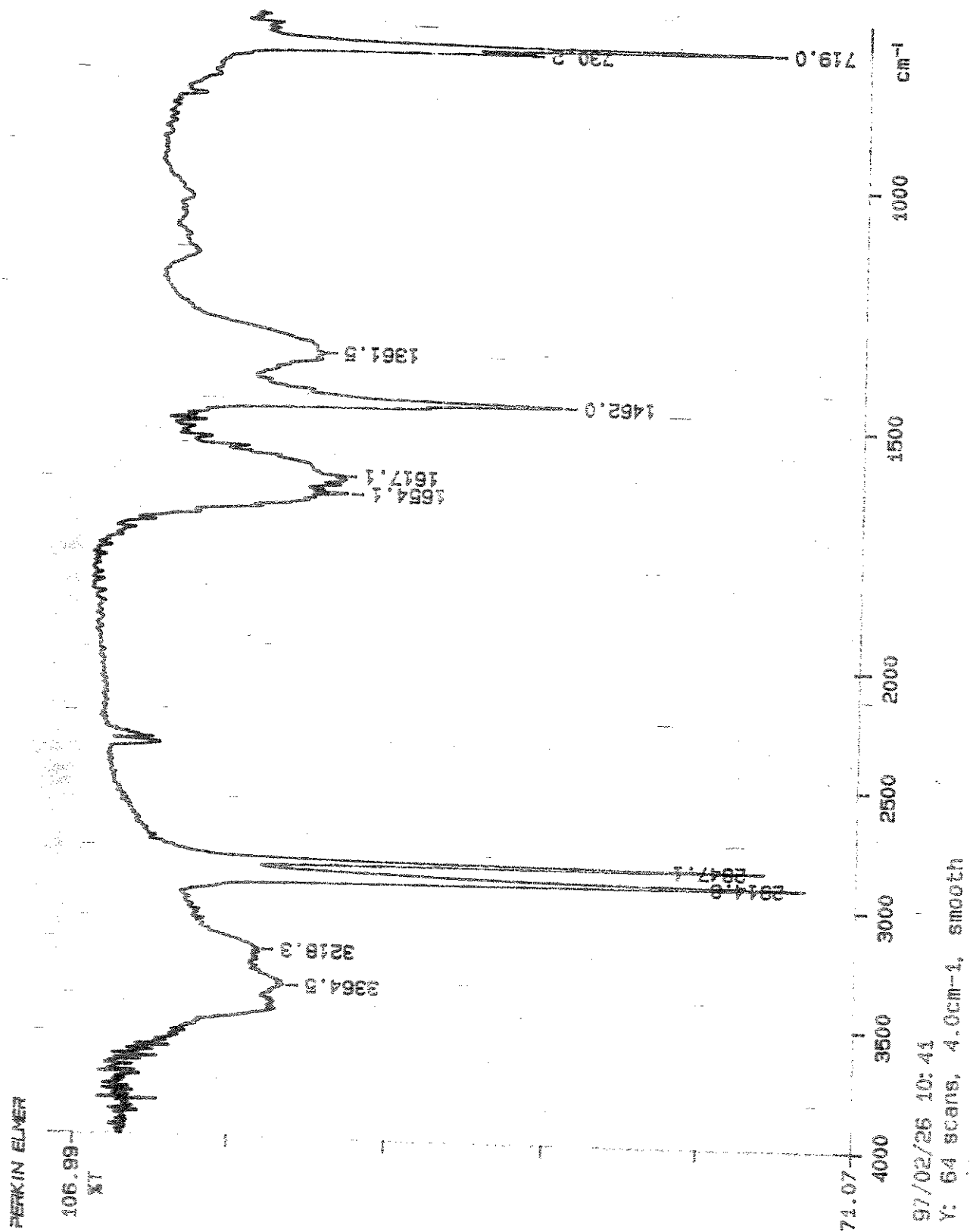


Figura 5.1 - B: Espectro de Infravermelho Polietileno Oxidado.

As amostras de polietileno, após serem submetidas à oxidação inicial com ácido crômico, tornaram-se ligeiramente opacas, fato relacionado à precipitação de sais de cromo, a qual normalmente acompanha a oxidação de poliolefinas pelo ácido crômico (Rasmussen, 1977). Após o subsequente tratamento do filme em ácido nítrico a quente, para dissolver qualquer resíduo inorgânico, obteve-se um filme de PE Oxidado totalmente opaco a olho nu, com bandas de absorvância a 1654.1 e 1617.1 (cm^{-1}) relativas às regiões de absorvância de derivados carbonílicos, CO_2H (derivados de ácido carboxílico, aldeídos e cetonas) e nova banda a 3300 cm^{-1} , referente a grupos OH inseridos no PE original pelo processo de oxidação. Os filmes de PE oxidado são comumente referidos como filmes de Polietileno Ácido Carboxílico (Rugg, 1954). Figura 5.1-B.

5.1.2 – Microscopia Eletrônica de Varredura

As figuras 5.2 e 5.3 mostram as micrografias dos filmes de polietileno antes e após a oxidação.

A microscopia eletrônica de varredura do filme de PE não oxidado revelou uma superfície bastante lisa, sem alterações significativas. Já a micrografia do PE Oxidado mostra, claramente, a alteração desta superfície após a oxidação; observa-se, nesta micrografia, uma superfície que sofreu ataque químico visível, característica do processo oxidativo.

Comparando-se tais resultados aos espectros de infravermelho dos filmes respectivos, podemos associar a superfície oxidada do PE à alteração de sua funcionalidade superficial, resultante da introdução de grupos CO_2H oriundos do processo oxidativo, os quais foram identificados no espectro FTIR-ATR.

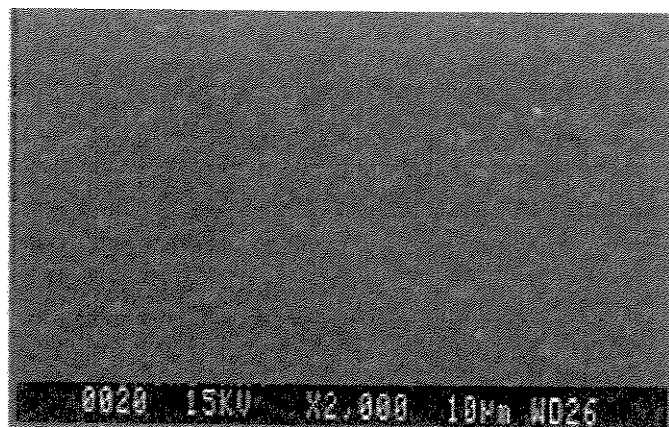


Figura 5.2 - Micrografia do polietileno Não-oxidado

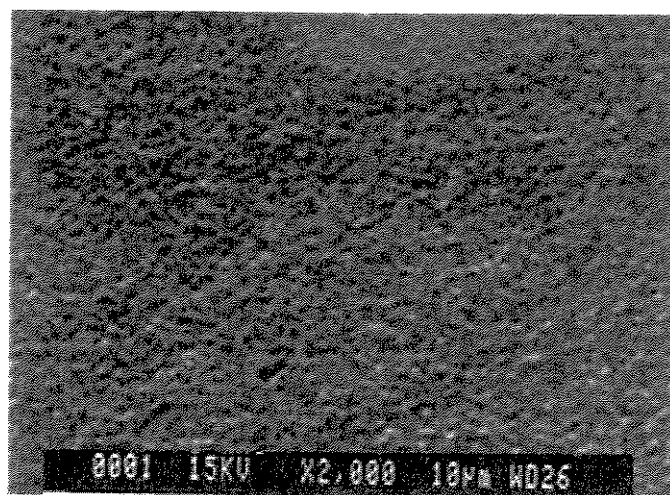


Figura 5.3 – Micrografia do polietileno oxidado

5.2- Revestimento dos Filmes de PE

Foram obtidos filmes com revestimentos de boa qualidade, não tendo havido desprendimento dos mesmos. As superfícies dos filmes se mostraram homogêneas para a maioria das amostras, exceto para algumas amostras revestidas com blendas de albumina humana, (HSA), que mostraram um certo “amarelecimento” em algumas regiões da amostra. Essa alteração de cor, para tais amostras, se deu, provavelmente, devido à sensibilidade térmica da albumina humana, provocando sua desnaturação durante a cura do filme.

De modo geral, a gelificação das soluções de PVA, PVA/PVP, PVA/BSA e PVA/HSA foi observada, confirmando as formulações como eficazes para a polimerização homogênea das mesmas sobre os filmes de PE.

5.2.1 - Estudo da Hemocompatibilidade – Adesão Plaquetária

Ensaio de Adesão Plaquetária em Biomateriais são freqüentemente utilizados como um índice da compatibilidade sanguínea destes materiais, sendo de extrema relevância clínica o estado em que se encontram as plaquetas aderidas, ou seja, se ativadas (e prontas para formar o coágulo) ou não ativadas.

5.2.1.1 - Microscopia Eletrônica de Varredura

As amostras de filmes de PE Não Oxidado, PE Oxidado e dos filmes revestidos, submetidas ao ensaio de adesão plaquetária e caracterizadas por MEV, mostraram comportamentos distintos em termos da quantidade de plaquetas aderidas e do estado de ativação plaquetária.

As Figuras 5.4 e 5.5 mostram os filmes de PE Não-oxidado e PE oxidado observados por MEV após ensaio de Adesão Plaquetária. Estas micrografias visaram mostrar a evolução da adesão plaquetária a partir do filme matriz, para uma posterior comparação com a adesão plaquetária nos filmes revestidos com as blendas de hidrogéis.

Nota-se a intensa adesão de plaquetas no PE Não-Oxidado, bem como a formação de agregados plaquetários no PE oxidado. Observa-se, porém, que embora a adesão plaquetária nas amostras de PE Não-Oxidado tenha se mostrado inicialmente intensa, as plaquetas encontram-se preservadas e espalhadas como um revestimento passivo sobre a superfície do polietileno. Este mesmo resultado foi observado por Haycox (1993) num estudo de adesão plaquetária em polietileno, e outros biomateriais tais como poliuretano e polivinilálcool, o qual considerou tal reação como sendo característica de materiais hemocompatíveis.

Na amostra de PE Oxidado além do grande número de plaquetas aderidas ao longo de uma rede de fibrina, é bastante claro o estado de ativação plaquetária, a partir da observação dos

pseudópodos em crescimento ao longo das bordas das plaquetas. Estes resultados evidenciam um possível caráter trombogênico da superfície dos filmes de polietileno oxidados.

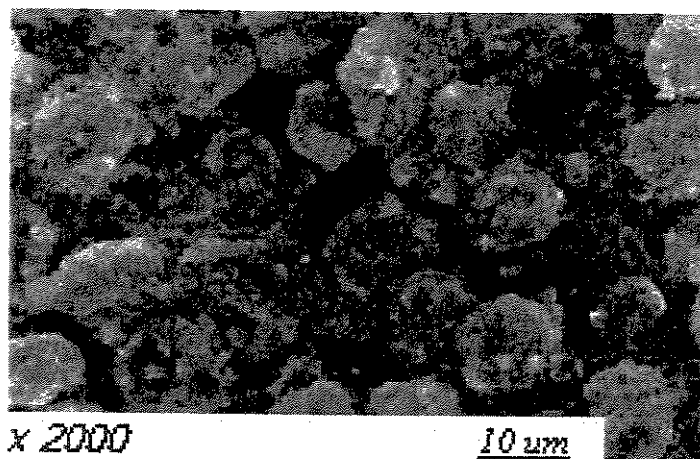


Figura 5.4: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE Não-oxidado

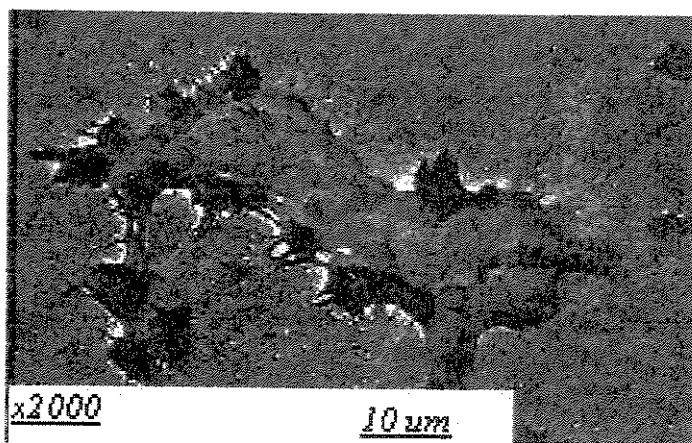
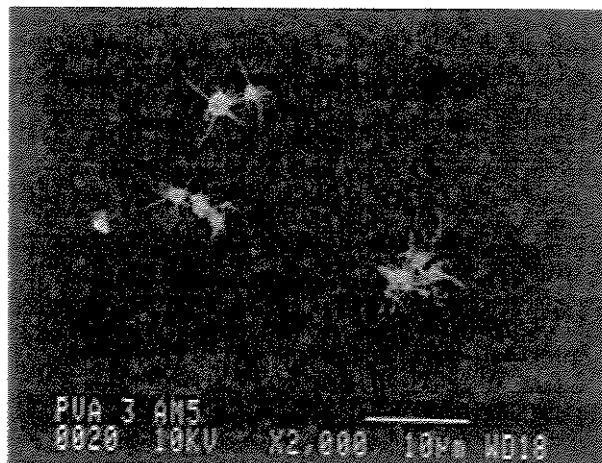
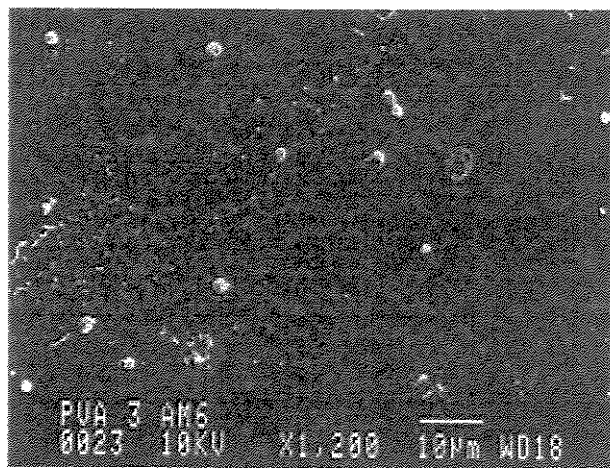


Figura 5.5: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE oxidado

As Figuras 5.6 a 5.9 mostram as micrografias dos filmes revestidos com hidrogéis de PVA após ensaio de Adesão Plaquetária. Observa-se, nas Figuras 5.6 e 5.7, plaquetas em pequeno número, sendo que na Figura 5.7 estas encontram-se deformadas e em estado inicial de ativação. Observa-se, também, o início da formação de agregados plaquetários. A Figura 5.8 mostra uma plaqueta com sua membrana plaquetária rompida.

Embora nestas três micrografias algumas plaquetas observadas estejam em estado de ativação, não foi observada nenhuma rede de fibrina evidenciando a formação de coágulos, não

havendo, desta forma, resposta característica que sugira o comportamento absolutamente trombogênico dos filmes PE/PVA, como sugere também a Figura 5.9, na qual observam-se muitas hemáceas em interação eletrostática, porém totalmente preservadas e sem nenhuma plaqueta aderida. Haycox (1993) observou, em estudos de adesão plaquetária sobre PVA, a ocorrência de formação de plaquetas e, embora, estas não se apresentassem aderidas às superfícies de PVA, mostravam-se em contínua reação após o contato com o polímero.



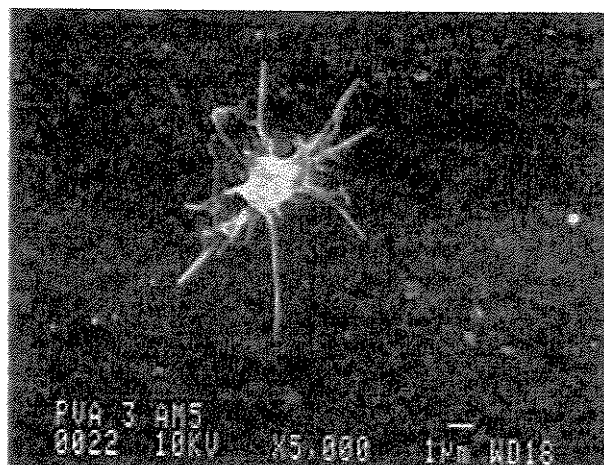


Figura 5.8: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA

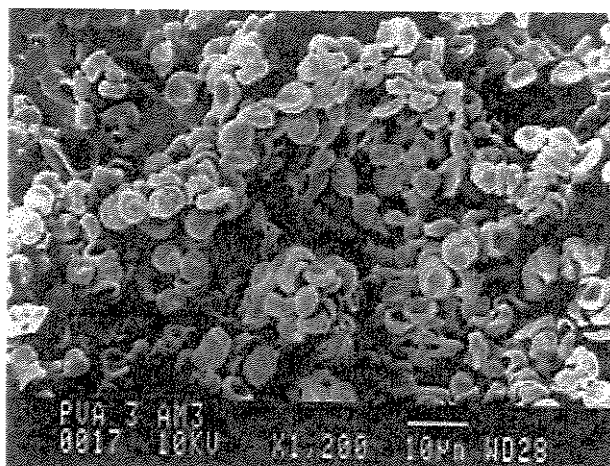


Figura 5.9: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA

As Figuras 5.10 a 5.13 mostram as micrografias de filmes revestidos com a blenda de PVA/PVP após ensaio de Adesão Plaquetária.

Nas Figuras 5.10, 5.11 e 5.13 observam-se superfícies isentas de material sanguíneo. Na Figura 5.12 observam-se poucas plaquetas espalhadas, com formas arredondadas sem formação de agregado plaquetário. Em nenhuma região de nenhuma amostra foi observada ativação plaquetária significativa, nem formação de agregado plaquetário ou rede de fibrina.

Observa-se uma significativa melhora da característica anti-trombogênica após a composição da blenda de PVA com o PVP.

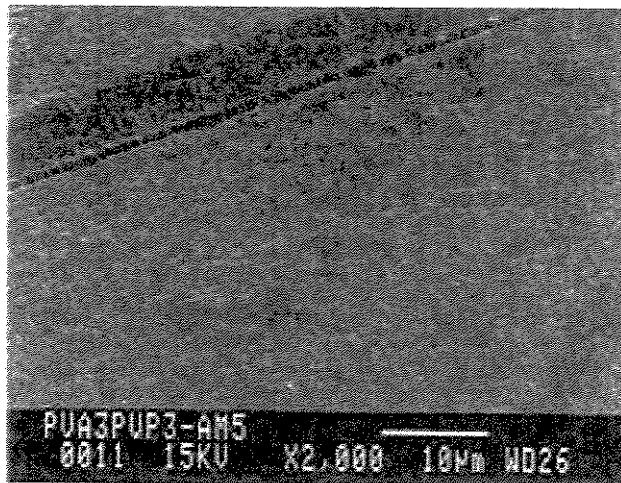


Figura 5.10: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/PVP

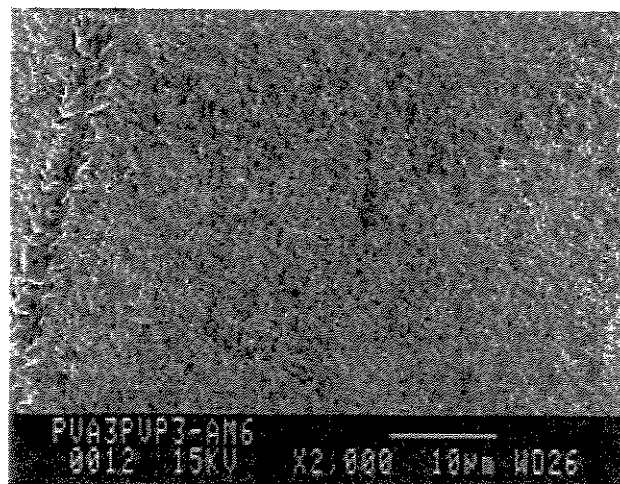


Figura 5.11: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/PVP

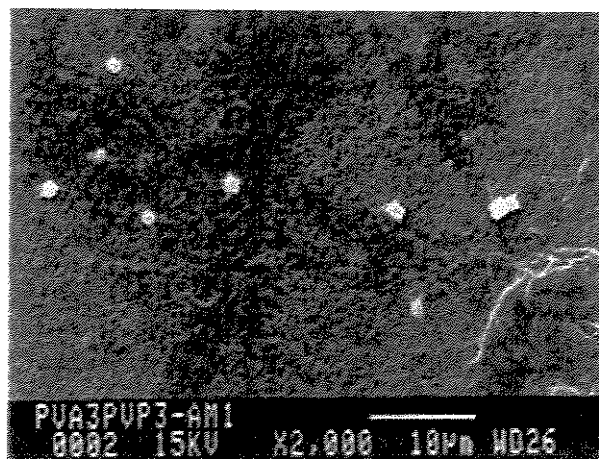


Figura 5.12: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/PVP

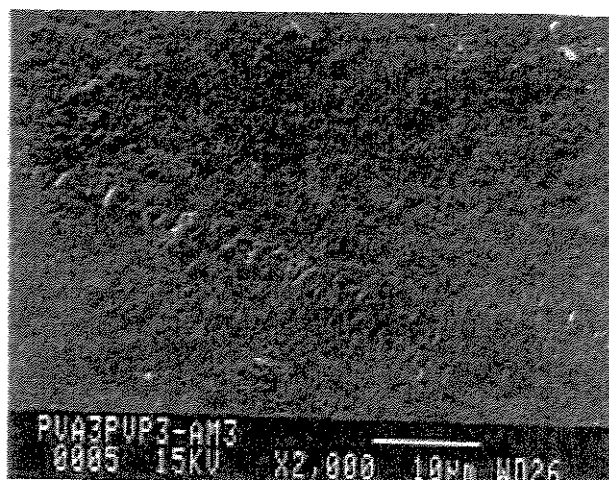


Figura 5.13: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/PVP

As Figuras 5.14 a 5.17 mostram as micrografias dos filmes revestidos com a blenda de PVA/BSA após ensaio de Adesão Plaquetária.

Excetuando-se a região da amostra vista na Figura 5.16, todas as demais amostras apresentaram-se livres de material sanguíneo. Nesta figura, embora tenham sido encontrados dois pequenos agregados plaquetários, a superfície do filme, mostra-se livre de demais depósitos sanguíneos.

De um modo geral, os filmes revestidos com BSA apresentaram algumas descontinuidades e defeitos superficiais, como riscos, porosidades e bolhas de umidade, mas é bastante acentuada a melhora da anti-trombogenicidade do filme PE/PVA após a adição de BSA à blenda.

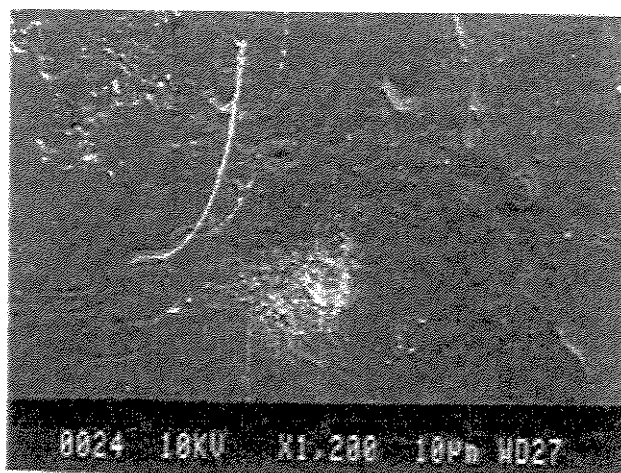


Figura 5.14: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/BSA

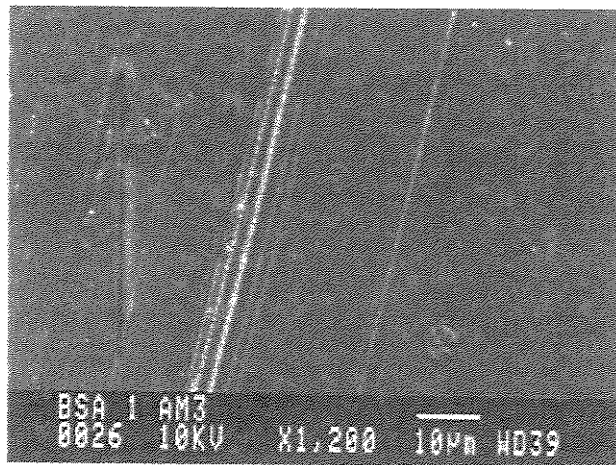


Figura 5.15: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/BSA

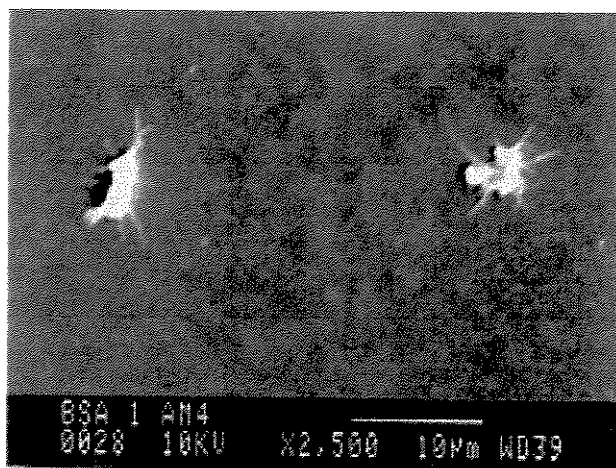


Figura 5.16: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/BSA

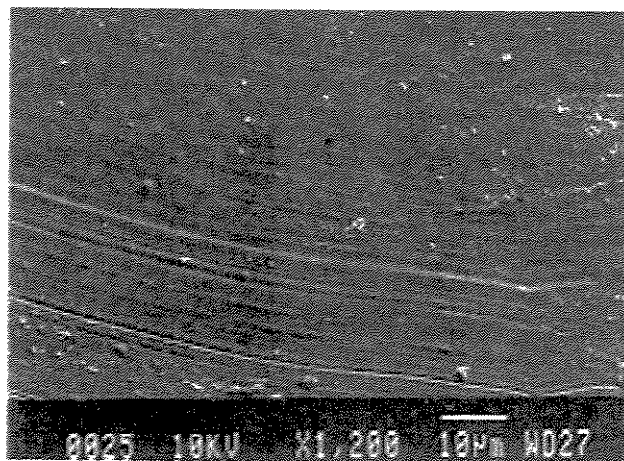


Figura 5.17: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/BSA

As Figuras 5.18 a 5.21 mostram as micrografias dos filmes revestidos com a blenda de PVA/HSA após ensaio de Adesão Plaquetária, cujos comportamentos mostram-se bastante distintos em termos de resposta hemocompatível.

As amostras das Figuras 5.18 e 5.21 mostram superfícies praticamente sem material sanguíneo, enquanto que nas Figuras 5.19 e 5.20 observa-se uma intensa adesão plaquetária, com plaquetas bastante deformadas e o início da formação de redes de fibrina.



Figura 5.18: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/HSA

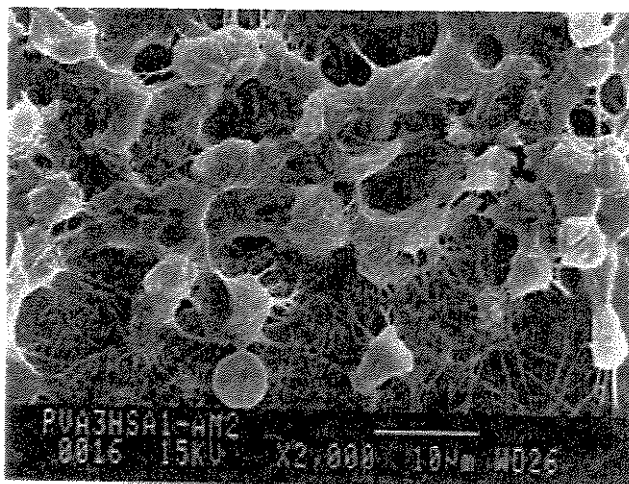


Figura 5.19: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/HSA

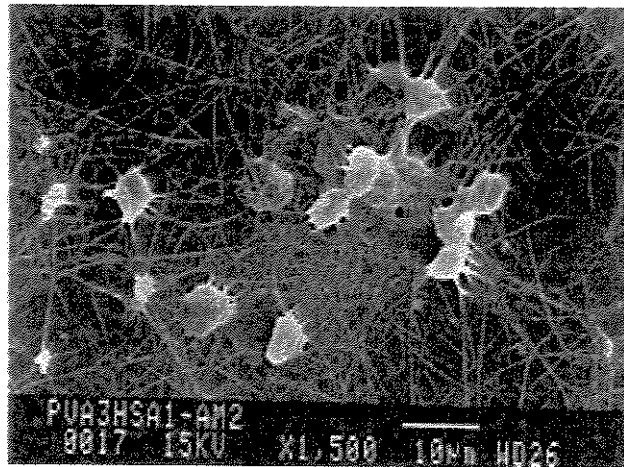


Figura 5.20: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/HSA



Figura 5.21: Micrografia da Adesão Plaquetária em PE/PVA/HSA

Analisando-se o conjunto das amostras revestidas, podemos perceber que os filmes com revestimento de hidrogéis de PVP apresentaram uma melhor resposta anti-trombogênica, seguidos, neste comportamento, pelos filmes revestidos com BSA.

Os filmes revestidos com HSA mostraram um comportamento duplo, ora com caráter anti-trombogênico, ora com um caráter claramente trombogênico.

Os filmes revestidos com hidrogéis de PVA, embora não tenham apresentado um caráter tipicamente trombogênico, mostraram, de forma geral, uma certa tendência à adesão de plaquetas, sendo que muitas destas apresentaram estado inicial de ativação.

5.3 – Caracterização Físico-Química

O estudo da molhabilidade de superfícies poliméricas para aplicações hemocompatíveis tem-se mostrado extremamente importante na determinação das relações entre o material e o meio fisiológico. Todo o processo de formação de trombos mostra-se intimamente ligado às características hidrofóbicas/hidrofílicas do material de implante. Medidas de ângulo de contato nestas superfícies tornaram-se uma ferramenta essencial neste tipo de avaliação.

5.3.1 – Hidrofilicidade

Considerando que, quanto mais facilmente um líquido possa se espalhar numa superfície polimérica, ou seja, quanto maior a molhabilidade desta superfície, menor será o ângulo de contato entre o líquido e a superfície, podemos utilizar este parâmetro para estudar a hidrofilicidade de materiais poliméricos. Assim, quando o ângulo de contato tende a zero ($\theta \sim 0^\circ$), o líquido molha o polímero.

O gráfico na figura 5.22 mostra a variação do ângulo de contato dos filmes revestidos com hidrogéis e proteínas e dos filmes matrizes de PE (antes e após a oxidação). As amostras 1, 2, 3, 4, 5 e 6 correspondem aos filmes de PE/PVA/PVP; PE/PVA/BSA; PE/PVA/HSA; PE/PVA, PE Oxidado e PE Não Oxidado, respectivamente. Como pode ser visto, os ângulos de contato dos filmes revestidos estão abaixo dos valores dos filmes matrizes, sendo que, dentre os revestidos, o maior ângulo de contato foi observado para o filme de PE/PVA, decrescendo, sucessivamente, para os filmes de: PE/PVA/HSA; PE/PVA/BSA e, por último, com menor ângulo de contato os filmes de PE/PVA/PVP.

A redução no ângulo de contato indica, inversamente, o aumento da hidrofilicidade dos filmes, tendo-se, portanto, para os filmes revestidos, como mais hidrofílico o filme PE/PVA/PVP e menos hidrofílico, ou mais hidrofóbico, o filme PE/PVA.

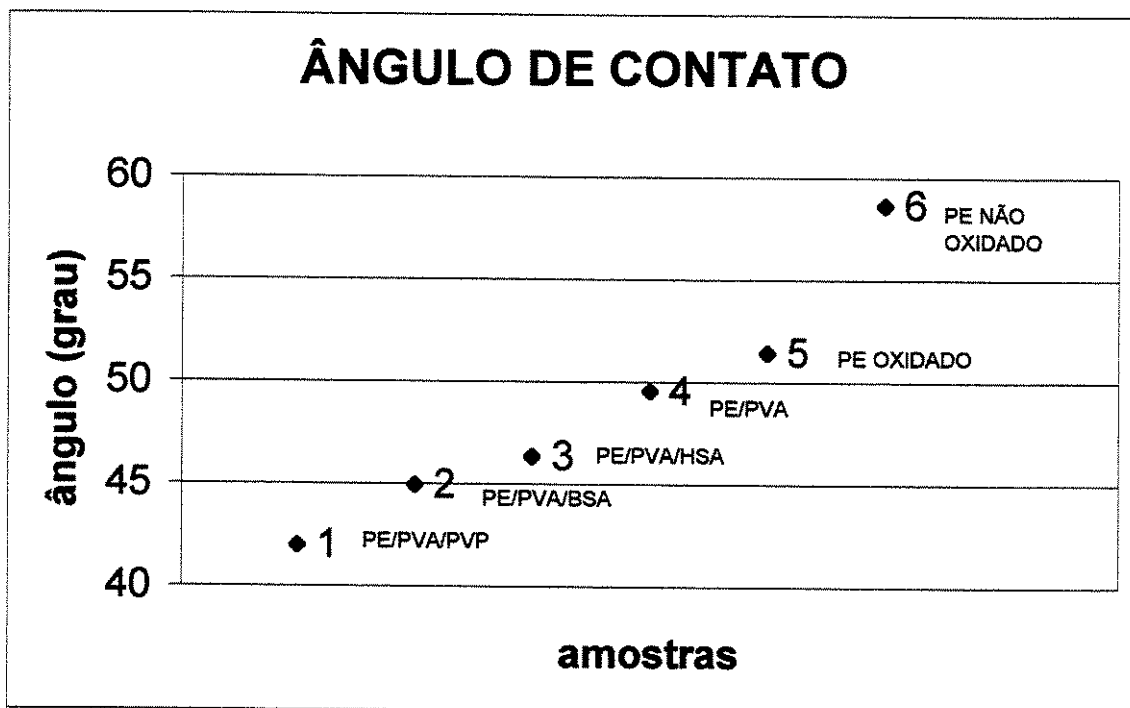


Figura 5.22 - Ângulo de Contato dos filmes de PE e filmes revestidos.

Comparando-se tais resultados às micrografias de Adesão Plaquetária, torna-se possível correlacionar as características de trombogenicidade dos filmes com a variação de suas características de molhabilidade superficial. Os filmes revestidos com hidrogéis de PVP apresentaram o menor ângulo de contato e, também o melhor caráter anti-trombogênico. No extremo oposto, os filmes revestidos com PVA, apresentaram o maior ângulo de contato e, também, o pior caráter anti-trombogênico, considerando-se a média das amostras destes filmes. Entre estes valores extremos, encontram-se os filmes revestidos com BSA e HSA, sendo que, os filmes revestidos com BSA apresentaram maior ângulo de contato e melhor caráter anti-trombogênico que os revestidos com HSA.

Tais resultados encontram-se coerentes com vários estudos, os quais relacionaram a melhora da trombogenicidade de superfícies poliméricas com o correspondente aumento de suas características hidrofílicas (Queiroz, 1994). Superfícies com baixa tensão interfacial e, conseqüentemente, baixos valores de ângulo de contato, exibem melhor interação com fluidos biológicos e materiais sanguíneos, minimizando a adsorção protéica e a adesão celular, como no caso da adesão de plaquetas (Ratner, 1989).

5.4 - Estudo Eletroquímico - EIS

Foram obtidas as curvas EIS para os filmes de polietileno antes e após a oxidação e para os filmes revestidos com as diferentes blendas de hidrogéis, no momento em que foram colocados em solução e 24 horas após. A solução-eletrólito(PBS) foi previamente caracterizada, obtendo-se curvas isoladas de seu comportamento, o que permitiu avaliar sua contribuição nas medidas de impedância dos filmes.

Os resultados de impedância dos filmes podem ser analisados a partir de gráficos e dos seus respectivos circuitos equivalentes.

As curvas de Bode, entre as demais geradas em ensaios pela técnica EIS, têm se mostrado uma fonte valiosa para a análise das características acerca do comportamento de revestimentos orgânicos, seja como filmes livres ou depositados sobre substratos metálicos (Castela, 1998), bem como no estudo das propriedades elétricas de materiais poliméricos (Sharma, 1998).

Nos diagramas de Bode do Módulo da Impedância, estendendo-se as regiões planas (paralelas ao eixo da frequência) destas curvas até o ponto correspondente no eixo y (eixo da Impedância), podem ser calculados valores de resistência ôhmica os quais refletirão, principalmente, os valores da Impedância relativos aos filmes. Isto é possível ser feito, pois estes "trechos planos", numa curva de Bode do Módulo da Impedância, evidenciam uma região de caráter resistivo no sistema analisado (onde θ aproxima-se de zero), região esta em que a impedância, por não possuir parte imaginária, é igual à resistência. Este comportamento pode ser confirmado verificando-se a variação do ângulo de fase nas curvas de Bode-Fase.

Nas curvas de Nyquist é possível extrair os valores mínimo e máximo da frequência de polarização, pois estes se encontram sobre o eixo da componente real da impedância. Assim, tomando-se o ponto onde a frequência de polarização f é máxima, tem-se o valor de R_{Ω} e no valor mínimo de f tem-se $R_{\Omega} + R_p$, podendo-se obter o valor de R_p . No ponto de máximo da curva (vértice) teremos o valor de $\omega_{m\acute{a}x}$ que pode ser calculado através da relação $\omega_{m\acute{a}x} = 2\pi f$. Destes dados podemos calcular a capacitância pela relação: $C = (R_p \cdot \omega_{m\acute{a}x})^{-1}$. Estes valores foram utilizados como referência para a previsão dos valores dos elementos dos circuitos elétricos equivalentes obtidos para cada sistema.

A análise das curvas EIS pode então ser associada aos demais fenômenos ocorridos nos filmes (fenômenos estes provenientes das alterações estruturais de suas superfícies e já

previamente investigados pelas técnicas anteriormente descritas) associando-se diferentes aspectos da curva a um elemento de circuito equivalente.

Os resultados serão primeiramente avaliados de forma qualitativa, sendo discutidos os valores quantitativos após a apresentação dos circuitos elétricos equivalentes e dos respectivos valores de seus elementos.

5.4.1 – Solução de Ensaio (PBS)

Do ensaio EIS feito com a solução PBS isoladamente foi obtida a curva de Bode-Módulo vista na Figura 5.23 e a curva de Bode-Fase, vista na figura 5.24. Na curva de Bode-Módulo pode-se ter uma idéia aproximada a respeito do valor numérico da resistência do eletrólito, através do patamar resistivo visualizado nas regiões de alta frequência. Este valor está “embutido” nas medições de cada filme, mas ainda desconhece-se a possibilidade de subtraí-lo aritmeticamente dos valores de impedância encontrados para os filmes. O comportamento resistivo deste patamar é confirmado através da curva de Bode-Fase, onde θ tende a zero nas regiões de mais alta frequência.

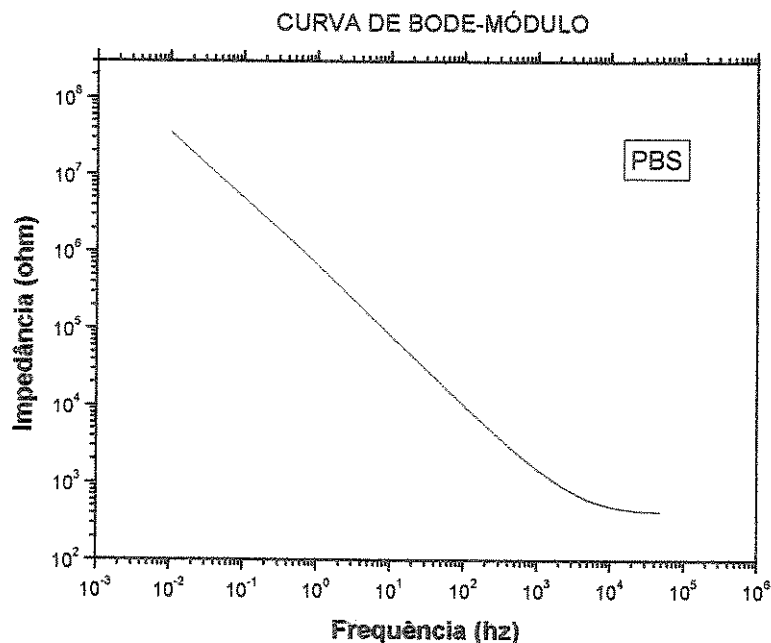


Figura 5.23 – Curva de Bode – Módulo para a Solução PBS

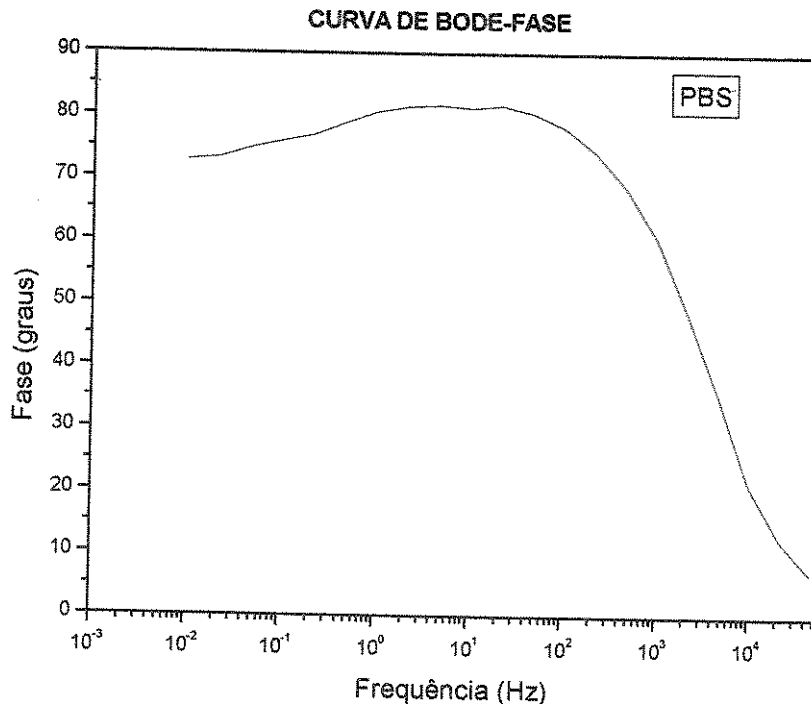


Figura 5.24 – Curva de Bode-Fase para a Solução PBS

5.4.2 – Efeito da Oxidação nos Filmes de PE Matrizes para Revestimento

As figuras 5.25, 5.26 e 5.27 mostram as Curvas de Impedância de Bode-Módulo, Bode-Fase e Nyquist para os filmes de PE Não Oxidado e PE Oxidado assim que colocados em solução (t_0).

Nota-se, na figura 5.25, no intervalo de frequências entre 10^0 e 10^2 hz, o deslocamento do patamar resistivo do filme de PE oxidado com relação ao PE Não oxidado, com aumento do seu valor. Tal comportamento é observado na figura 5.26 como um deslocamento à esquerda do pico de fase, além de sua conseqüente diminuição.

Não se observa, nestas curvas, o patamar correspondente à resistência do eletrólito; identifica-se, também, duas regiões capacitivas cujos ângulos de fase estão próximos a 80° .

Na figura 5.27, observa-se a formação de um arco capacitivo na região de alta frequência o qual quase volta a fechar-se sobre o eixo da impedância real, para, em seguida iniciar o que

parece ser um novo arco, cuja inclinação sugere que ele só voltará a fechar-se após muitas décadas de frequência.

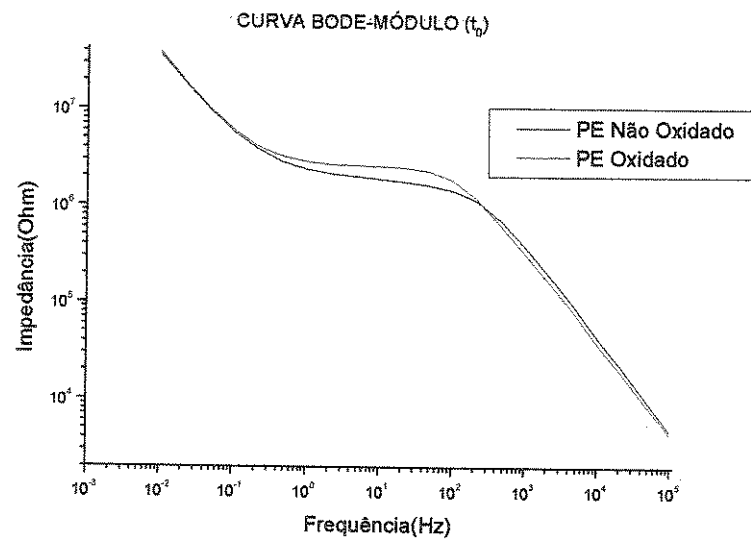


Figura 5.25: Curva de Bode - Módulo – Filmes de PE e PE Oxidado em (t_0)

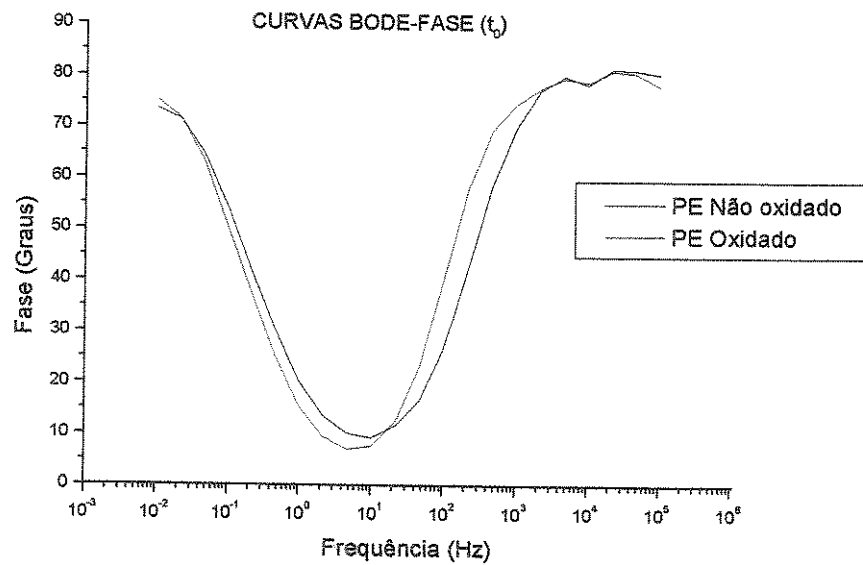


Figura 5.26: Curva de Bode - Fase – Filmes de PE e PE Oxidado em (t_0)

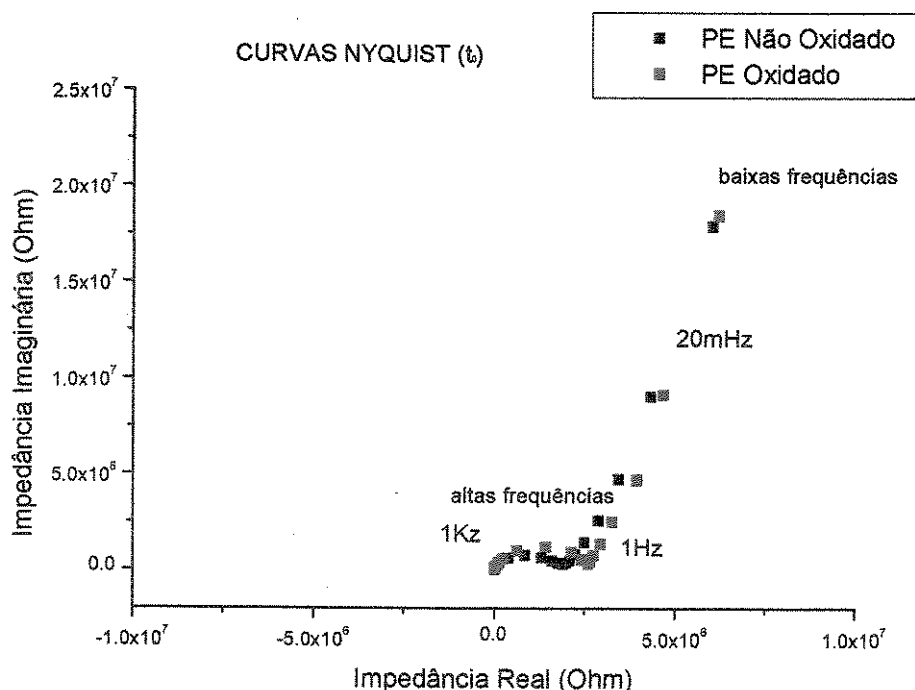


Figura 5.27 - Curvas de Nyquist - Filmes de PE e PE Oxidado em (t_0)

As figuras 5.28, 5.29 e 5.30 mostram as Curvas de Impedância de Bode-Módulo, Bode-Fase e Nyquist para os filmes de PE Não Oxidado e PE Oxidado após 24h em solução (t_{24h}).

Na figura 5.28 observa-se qualitativamente para estes filmes o mesmo comportamento ocorrido com os filmes de PE Não Oxidado e PE Oxidado assim que colocados em solução (t_0), ou seja, o deslocamento, à esquerda, do patamar resistivo do filme de PE oxidado com relação ao PE não oxidado; sendo que para os filmes em t_{24h} este deslocamento se dá em frequências mais baixas (10^{-2} e 10^0). Tal comportamento é observado na figura 5.29 como um deslocamento à esquerda do pico de fase, além de sua conseqüente diminuição. Este deslocamento se dá, quantitativamente, em 1 (uma) ordem de grandeza dos filmes oxidados em relação aos não oxidados.

Observa-se também que os valores do módulo de impedância dos patamares resistivos são superiores àqueles obtidos para t_0 e não se percebe nitidamente a segunda capacitância (nas regiões de baixa frequência) observada para os filmes em t_0 .

Na figura 5.30 observa-se mais claramente a formação dos arcos capacitivos em alta frequência e a tendência de um segundo arco em direção às regiões de baixa frequência.

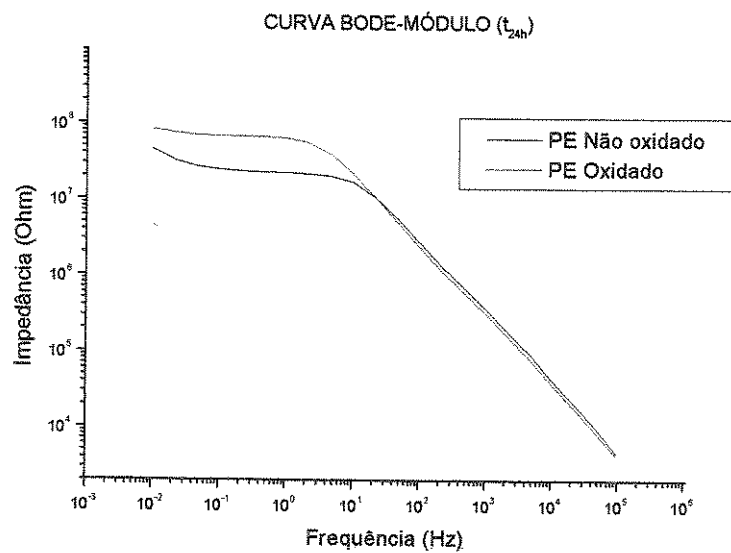


Figura 5.28: Curva de Bode - Módulo – Filmes de PE e PE Oxidado (t_{24})

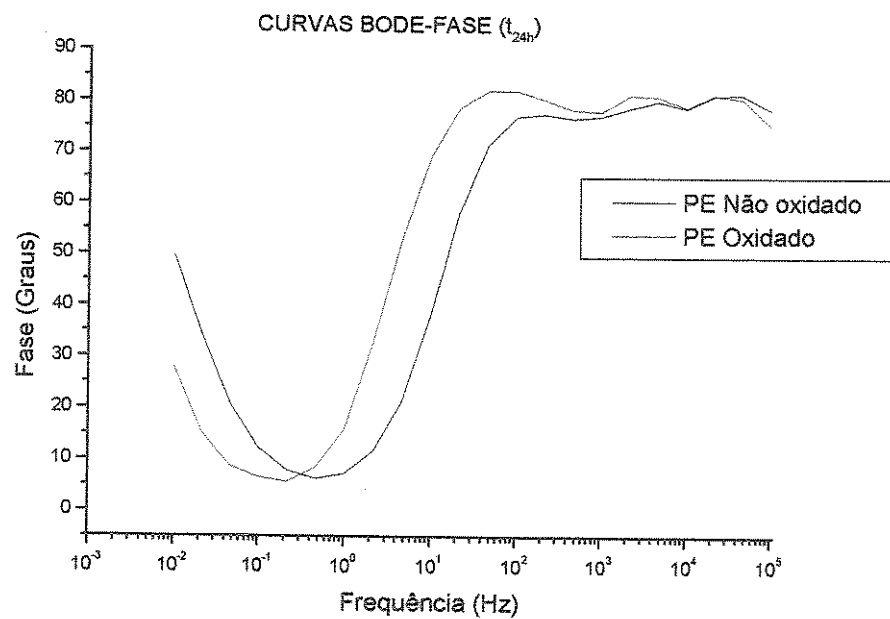


Figura 5.29: Curva de Bode - Fase - Filmes de PE e PE Oxidado (t_{24})

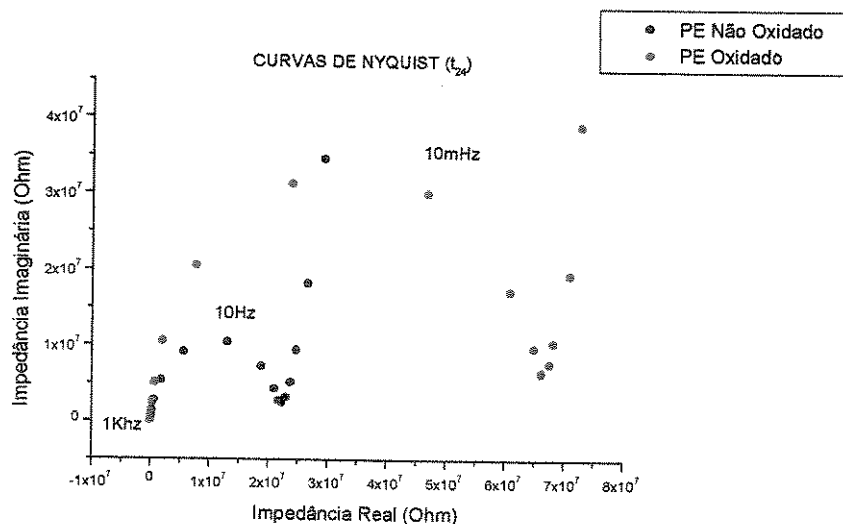


Figura 5.30 - Curvas de Nyquist - Filmes de PE e PE Oxidado em (t_{24})

Sugere-se que a influência fortemente polar dos grupos carbonílicos, CO_2H , oriundos do processo oxidativo, seja a responsável primária pelo aumento total da impedância observada nos filmes oxidados, por acréscimo de suas características capacitivas.

Embora os filmes de PE Oxidado tenham se mostrado mais hidrofílicos pelos valores de ângulo de contato obtidos, o aumento de sua impedância em relação aos filmes não oxidados, pode ser atribuído à presença de derivados carbonílicos cetônicos e aldeídicos provenientes da oxidação, os quais são referenciados como menos condutivos em relação aos derivados carboxílicos. Além disso, embora o tratamento com ácido crômico não cause o intumescimento do polímero durante a oxidação (Rasmussen, 1977), parece bastante provável que esteja ocorrendo um intumescimento proveniente da manutenção dos filmes em solução PBS durante o período de 24h gerando o aumento dos valores dos módulos de impedância destes filmes. Este comportamento pode ser observado tanto para os filmes de PE oxidados, quanto para os não-oxidados, conforme visto nas figuras 5.31, 5.32 e 5.33, onde é analisado o efeito do período de 24h em que os filmes são mantidos em solução, entre a primeira e a segunda medição de impedância.

5.4.3 – Efeito do tempo de permanência em solução para os filmes matrizes

As figuras 5.31, 5.32 e 5.33 mostram as Curvas de Bode-Módulo, Bode-Fase e Nyquist para os filmes de PE Não Oxidado e PE Oxidado nos dois tempos de medição (t_0) e (t_{24}).

Na figura 5.31 observa-se para os dois filmes, PE Não Oxidado e PE Oxidado, o deslocamento dos patamares resistivos dos filmes em t_{24} com relação aos filmes em t_0 , com um respectivo aumento de seus valores (vide tabela 5.1), sendo tal comportamento observado na figura 5.32 como um deslocamento à esquerda das curvas de fase dos filmes em t_{24} em relação aos filmes t_0 , além de sua conseqüente diminuição. Observa-se, também, a ausência da segunda capacitância para os filmes em t_{24} , observada para os filmes em t_0 nas regiões de baixa frequência.

Na figura 5.33 observa-se a maior amplitude dos arcos resistivos dos filmes em t_{24} com relação aos filmes em t_0 , mostrando que os filmes tornaram-se mais resistivos após o período de 24 horas.

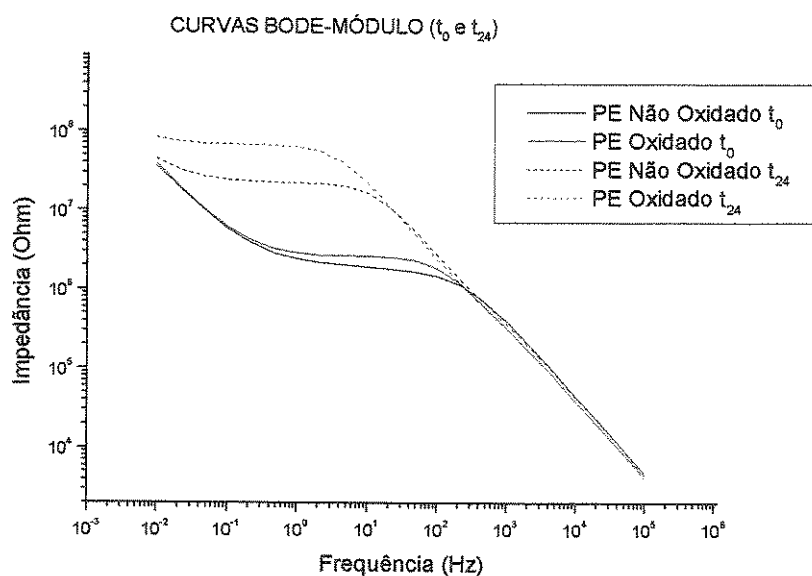


Figura 5.31: Curva de Bode/Módulo - Filmes de PE e PE Oxidado em t_0 e t_{24}

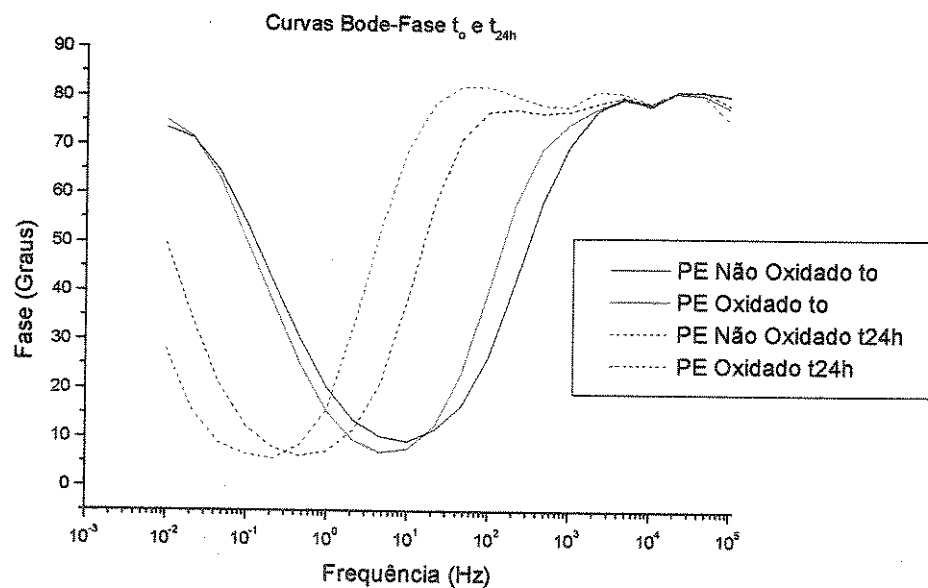


Figura 5.32: Curva de Bode/Fase - Filmes de PE e PE Oxidado em t_0 e t_{24}

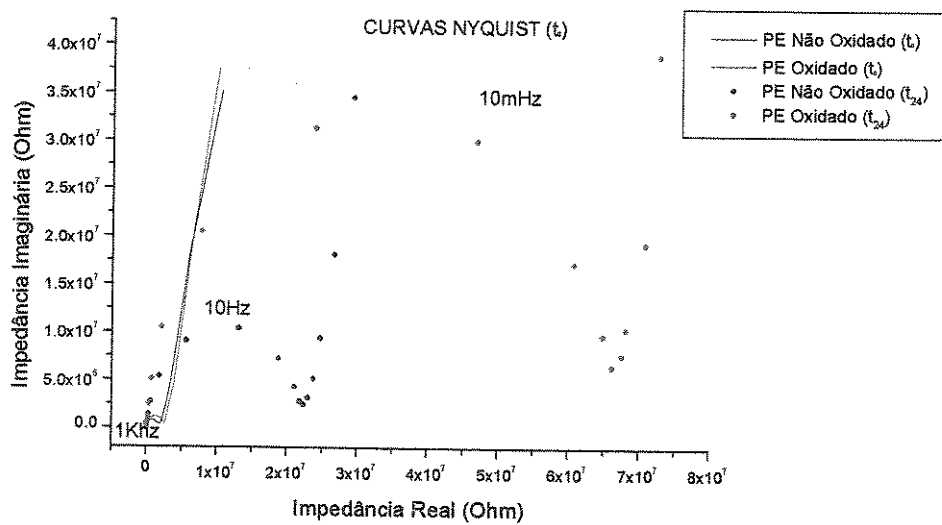


Figura 5.33: Curva de Nyquist - Filmes de PE e PE Oxidado em t_0 e t_{24}

5.4.4 – Efeito do tempo de permanência em solução para os filmes revestidos

O efeito da manutenção em solução PBS pelo período de 24h para cada filme revestido pode ser observado nas figuras 5.34 a 5.45, através das curvas de Bode-Módulo, Bode-Fase e Nyquist respectivamente. O aumento do módulo da impedância neste período, o qual é notado qualitativamente para todos filmes pelo deslocamento de seus patamares resistivos, sugere um possível efeito combinado de intumescimento dos polímeros com seus diferentes graus de hidrofilicidade .

Se, por um lado, a impedância aumenta com o intumescimento, por outro, o aumento da hidrofilicidade parece melhorar a condução, ou seja, os filmes mais hidrofílicos apresentaram menor aumento de impedância em 24h. Este comportamento é claramente observado se compararmos os filmes recobertos com PVP (figuras 5.34 a 5.36), os quais apresentaram maior molhabilidade (menor ângulo de contato medido), com os filmes recobertos somente com PVA (figura 5.43 a 5.45), os quais apresentaram maiores valores de ângulo de contato sendo, portanto, os mais hidrofóbicos dentre os filmes revestidos.

Além dos patamares resistivos dos filmes em t_{24} estarem qualitativamente acima dos patamares dos filmes em t_0 , observa-se também seu deslocamento à esquerda (para regiões de menor frequência) com relação àqueles.

Já para as regiões capacitivas, não se observa variação entre os filmes t_0 e t_{24} nas regiões de baixa frequência. Por outro lado, nas regiões de alta frequência é possível observar uma variação muito discreta para as curvas em 24 horas, sendo que somente para os filmes recobertos com PVA (figura 5.43) pode-se visualizar melhor um pequeno deslocamento entre as curvas em t_0 e t_{24} , estando t_{24} acima de t_0 .

Nas figuras 5.36, 5.39, 5.42 e 5.45 observa-se a maior amplitude dos arcos resistivos dos filmes em t_{24} com relação aos filmes em t_0 , mostrando que os filmes tornaram-se mais resistivos após o período de 24 horas. Assim como para as representações de Bode, estas curvas sugerem um possível efeito combinado de intumescimento dos polímeros com seus diferentes graus de hidrofilicidade .

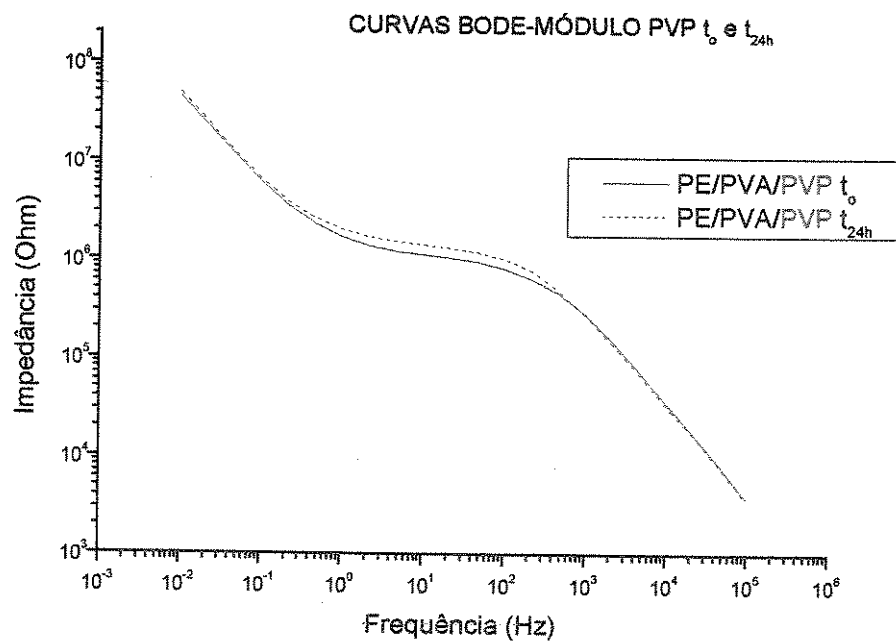


Figura 5.34: Curva de Bode/Módulo – PE/PVA/PVP

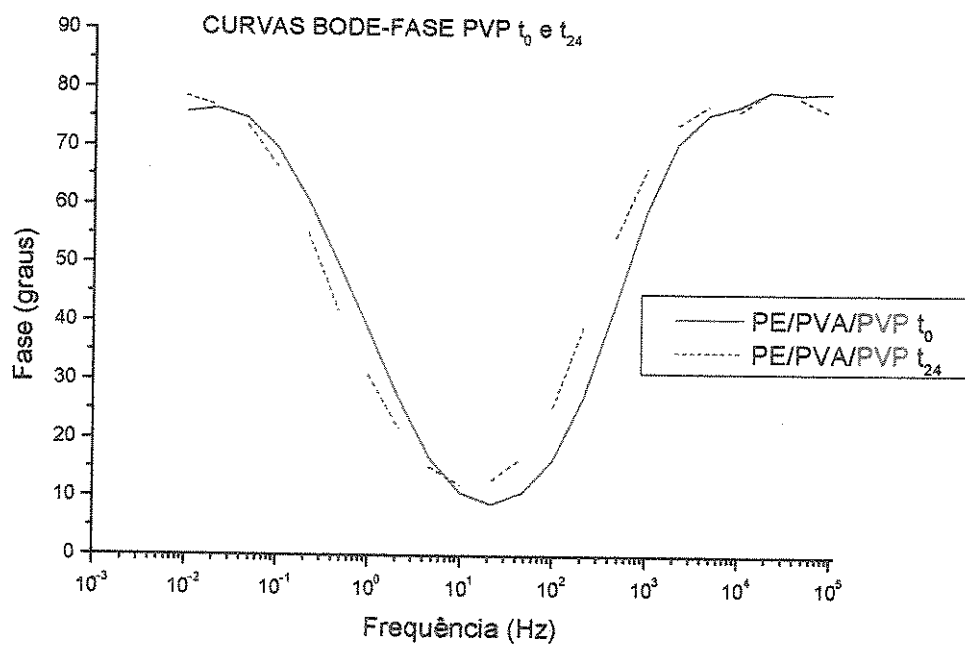


Figura 5.35: Curva de Bode/Fase – PE/PVA/PVP

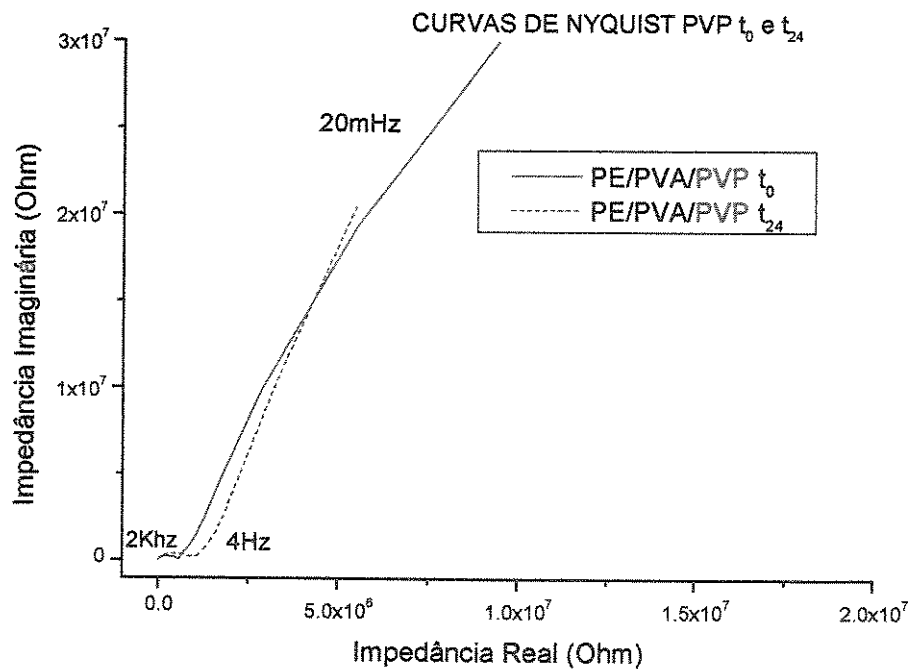


Figura 5.36: Curva de Nyquist – PE/PVA/PVP

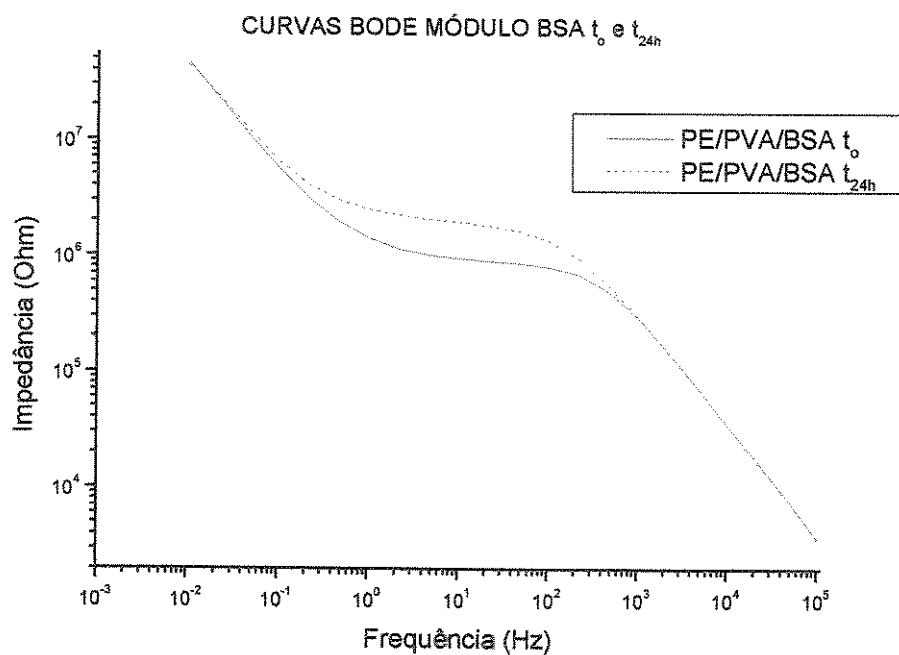


Figura 5.37: Curva de Bode/Módulo – PE/PVA/BSA

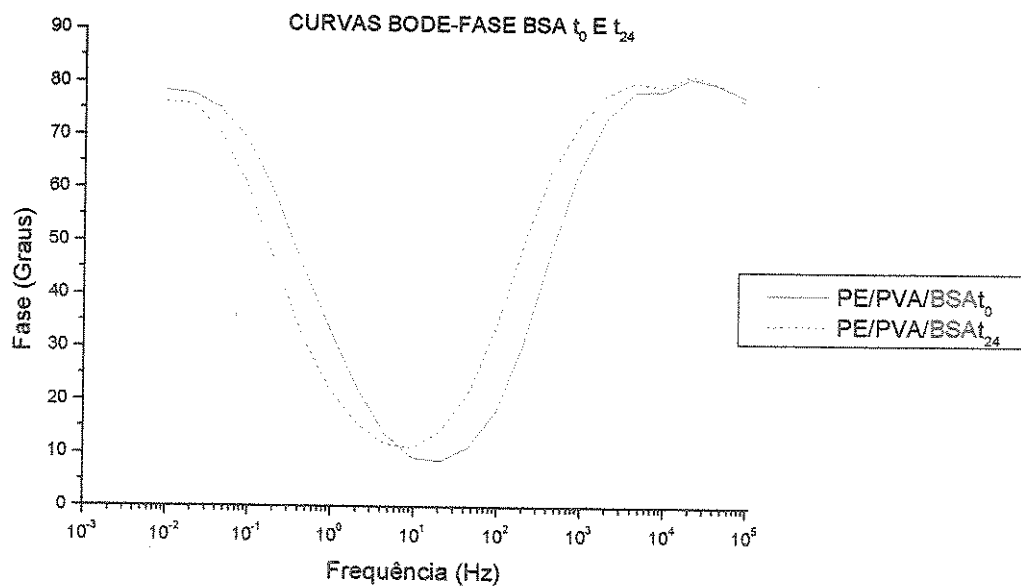


Figura 5.38: Curva de Bode/Fase – PE/PVA/BSA

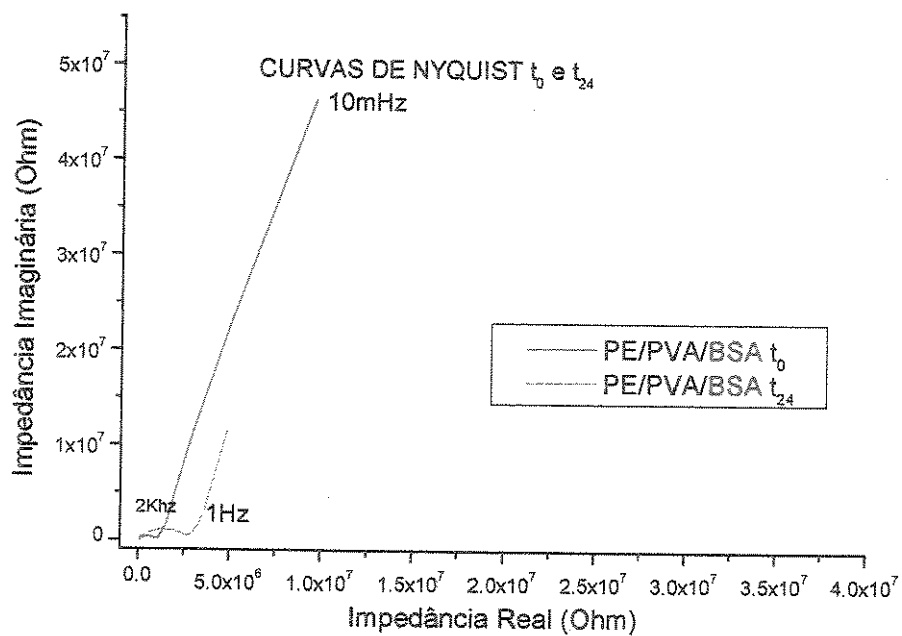


Figura 5.39: Curva de Nyquist – PE/PVA/BSA

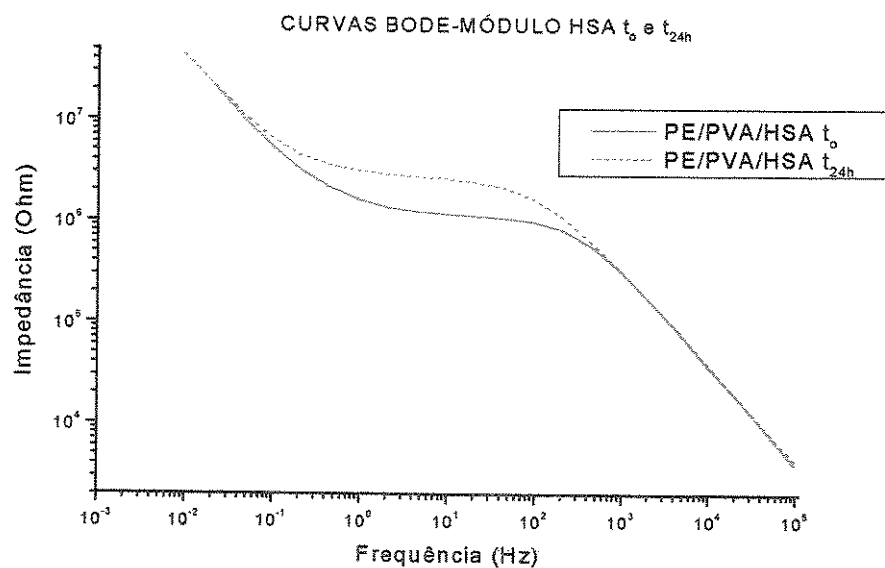


Figura 5.40: Curva de Bode/Módulo – PE/PVA/HSA

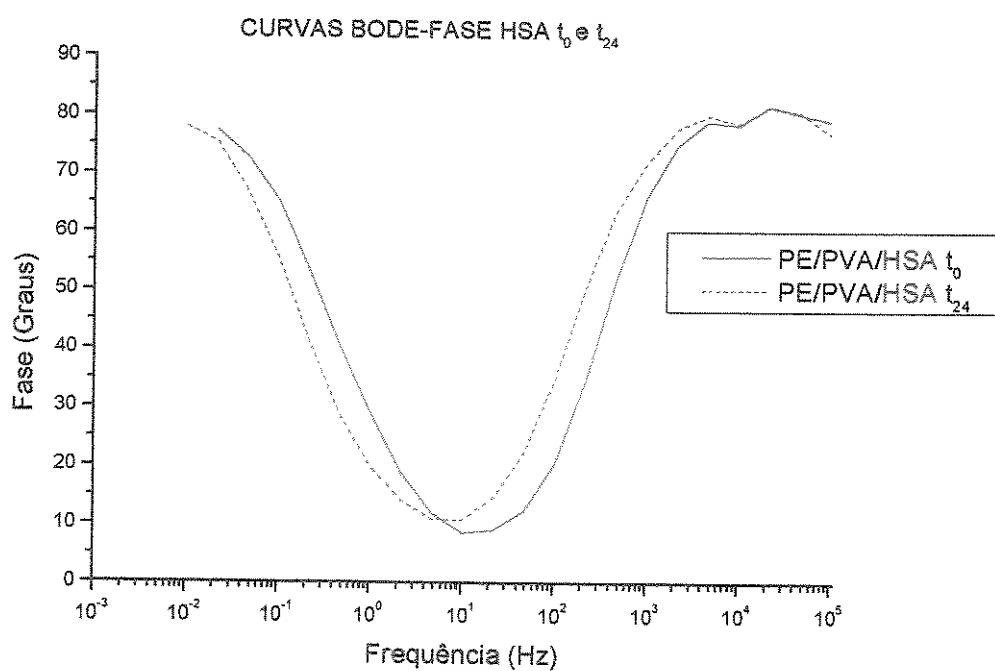


Figura 5.41: Curva de Bode/Fase - PE/PVA/HSA

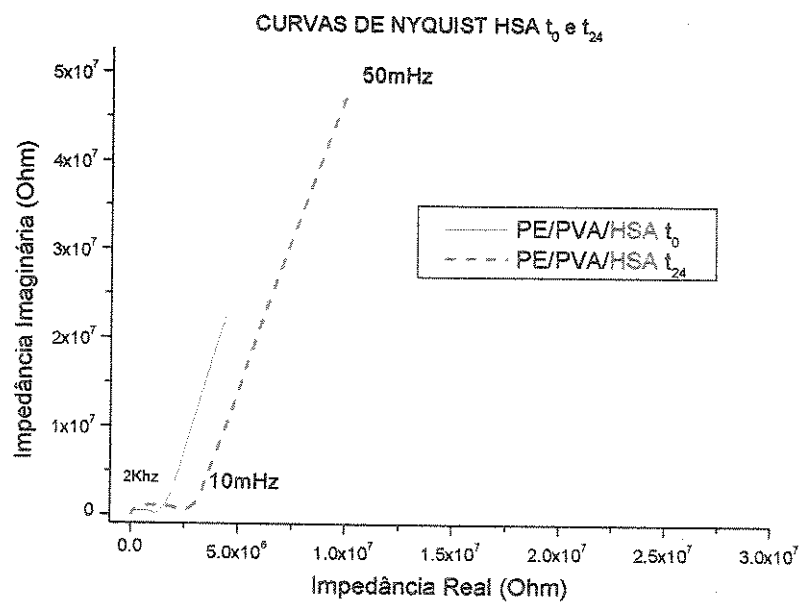


Figura 5.42: Curva de Nyquist – PE/PVA/HSA

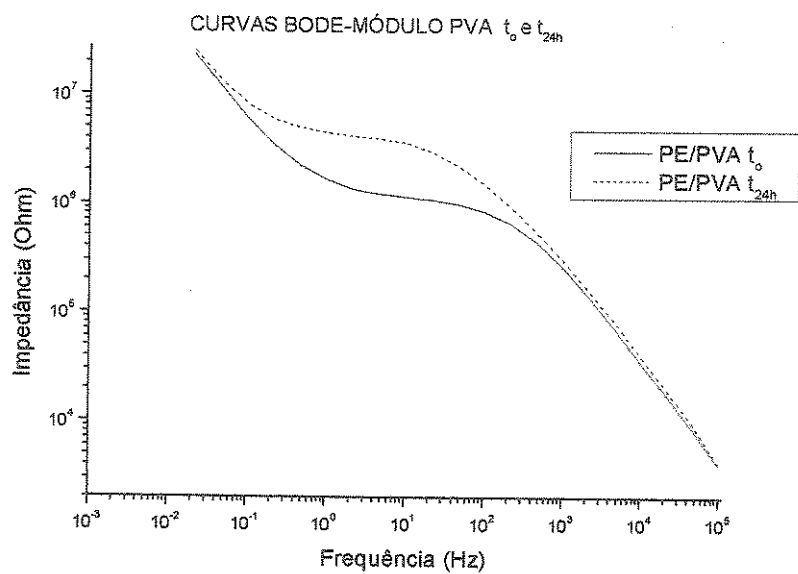


Figura 5.43: Curva de Bode/Módulo – PE/PVA

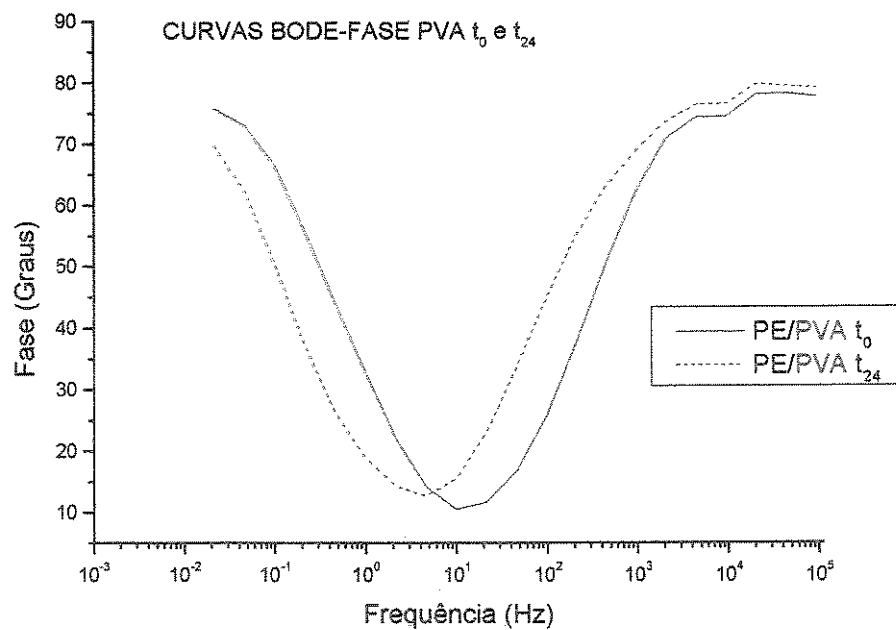


Figura 5.44: Curva de Bode/Fase – PE/PVA

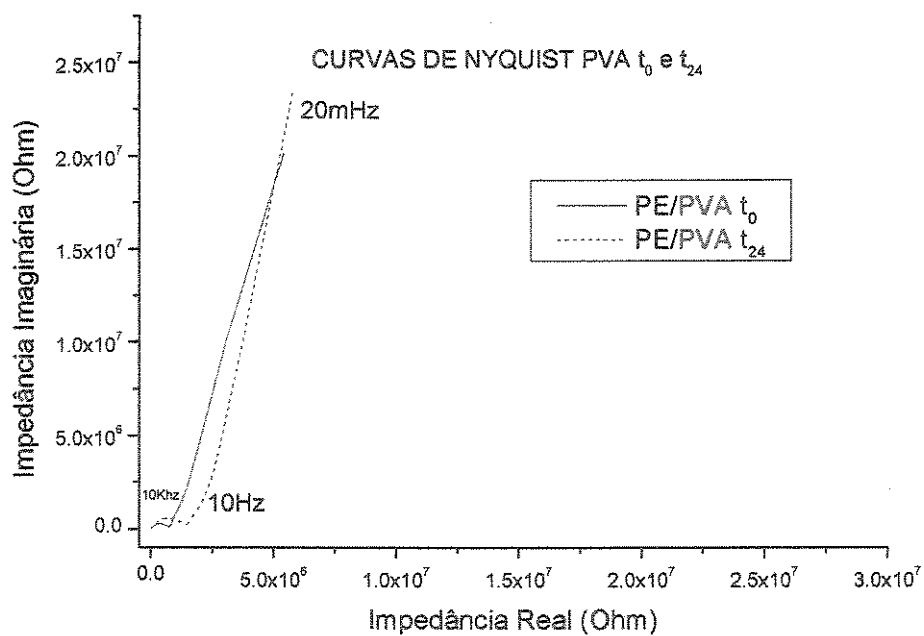


Figura 5.45: Curva de Nyquist – PE/PVA

5.4.5 - Efeito do Revestimento com Hidrogéis sobre os filmes de PE

Nas Figuras 5.46 a 5.49 estão agrupadas as Curvas de Bode-Módulo e Bode-Fase para os filmes revestidos com hidrogéis, juntamente com os filmes matrizes de PE Não Oxidado e PE Oxidado, nos tempos de ensaio t_0 e t_{24} .

De modo geral, nas curvas de Bode-Módulo observam-se regiões resistivas e capacitivas bem definidas, podendo-se avaliar o comportamento dos filmes revestidos com relação aos filmes de PE usados como matrizes para o revestimento. Os patamares resistivos evidenciados para todos os filmes são confirmados através das respectivas curvas de Bode-Fase, onde θ tende a zero nas frequências de medição correspondentes.

Os filmes revestidos apresentam valores de módulo de impedância, nos patamares resistivos, menores, em aproximadamente 1 ordem de grandeza (tabela 5.1), com relação aos filmes de polietileno não oxidado e oxidado.

Observa-se, também, que os patamares resistivos dos filmes revestidos encontram-se deslocados para regiões de mais alta frequência em relação aos filmes de polietileno; este comportamento é visualizado nas curvas de Bode – Fase, com o deslocamento à direita dos picos de fase destas curvas.

O polietileno é intrinsecamente um isolante elétrico, o que foi verificado experimentalmente pelos valores qualitativamente maiores de seus patamares resistivos. Entretanto esta resistência diminuiu sensivelmente após o revestimento com hidrogéis, donde se pode considerar que estes revestimentos, de alguma forma, estão favorecendo a condução nestas amostras.

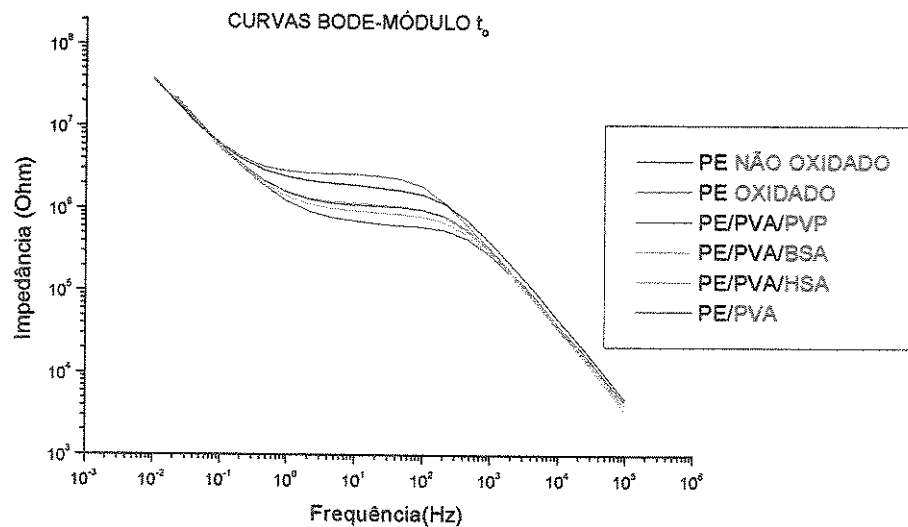


Figura 5.46: Curva de Bode/Módulo - filmes de PE e filmes revestidos - t_0

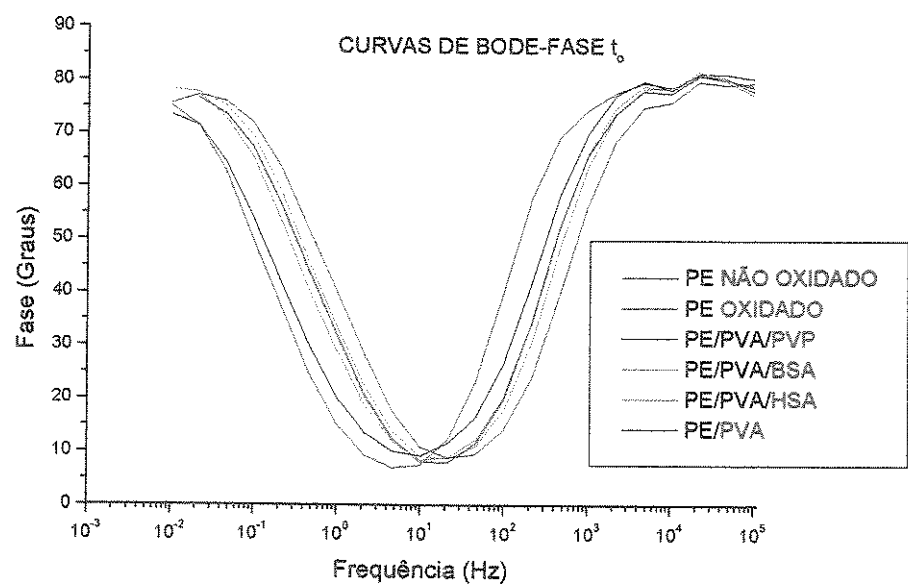


Figura 5.47: Curva de Bode/Fase - filmes de PE e filmes revestidos - t_0

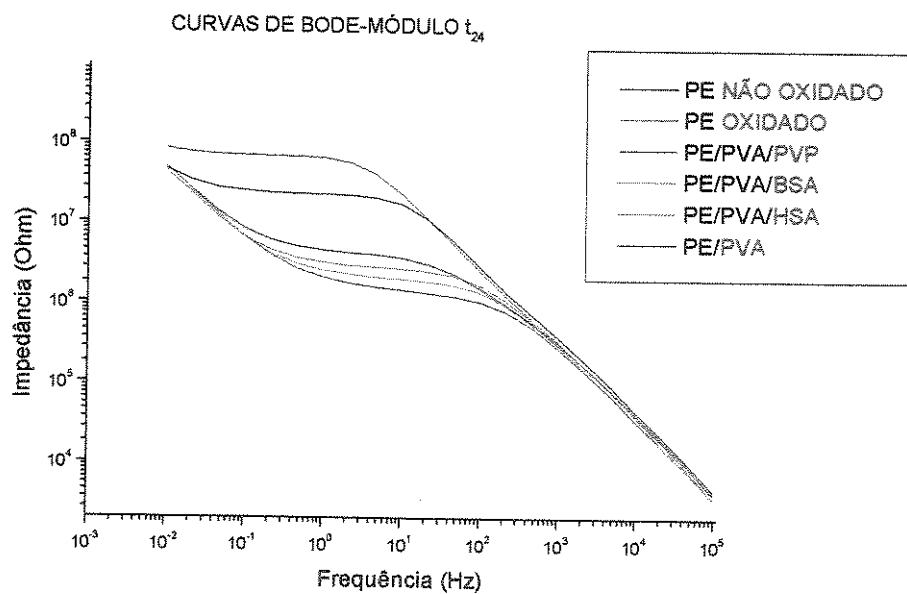


Figura 5.48: Curva de Bode/Módulo - filmes de PE e filmes revestidos – t_{24}

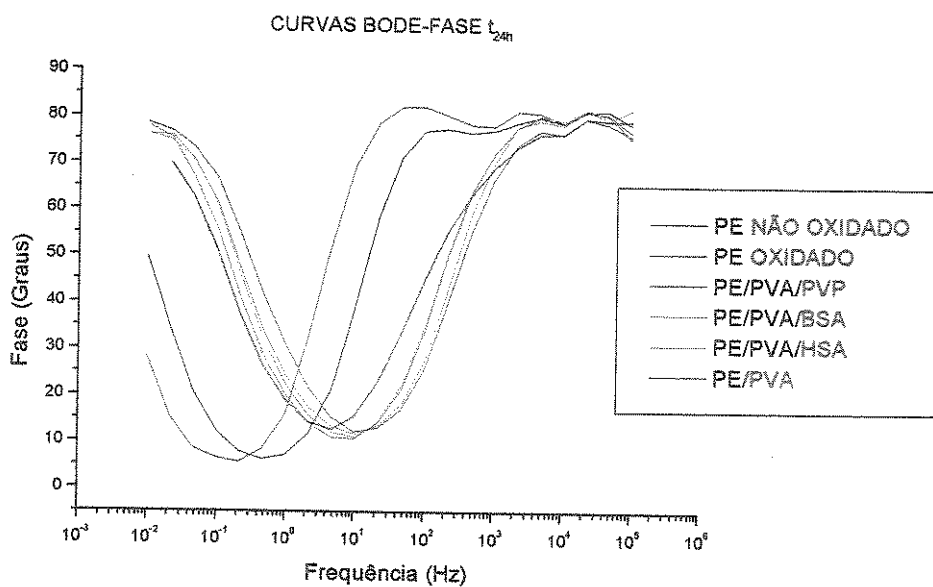


Figura 5.49: Curva de Bode/Fase - filmes de PE e filmes revestidos - t_{24}

Tabela 5.1 – Variação do Módulo da Impedância dos Filmes com o tempo de Manutenção em Solução nos patamares resistivos das curvas de Bode-Módulo.

Descrição do Filme	PE NÃO OXIDADO	PE OXIDADO	PE/PVA/PVP	PE/PVA/BSA	PE/PVA/HSA	PE/PVA
Módulo da Impedância em t_0 (Ohm)	1574000	2529000	494000	995000	1228000	1316000
Módulo da Impedância em t_{24} (MOhm)	20,25	62,84	0,972	1,516	2,310	3,521

5.4.6 – Ajustes das Curvas de Impedância através dos Circuitos Equivalentes

As figuras 5.50 a 5.61 mostram os ajustes entre as curvas obtidas experimentalmente e os ajustes correspondentes ao circuito equivalente proposto para os sistemas, sendo que as figuras 5.50 a 5.55 referem-se aos dados obtidos em t_0 e as figuras 5.56 a 5.61 em t_{24} . Estes ajustes foram feitos utilizando-se o circuito visto na figura 3.6 (capítulo 3).

De forma geral, o circuito proposto proporcionou o ajuste bastante próximo de todos os sistemas de filmes analisados, observando-se valores de chi quadrado da ordem de 10^{-3} para todos os filmes, o que evidencia um bom ajuste.

Os valores obtidos para os elementos do circuito equivalente, para os filmes em t_0 , tabela 5.2, e para os filmes em t_{24} , tabela 5.3, evidenciam os aspectos qualitativos discutidos anteriormente.

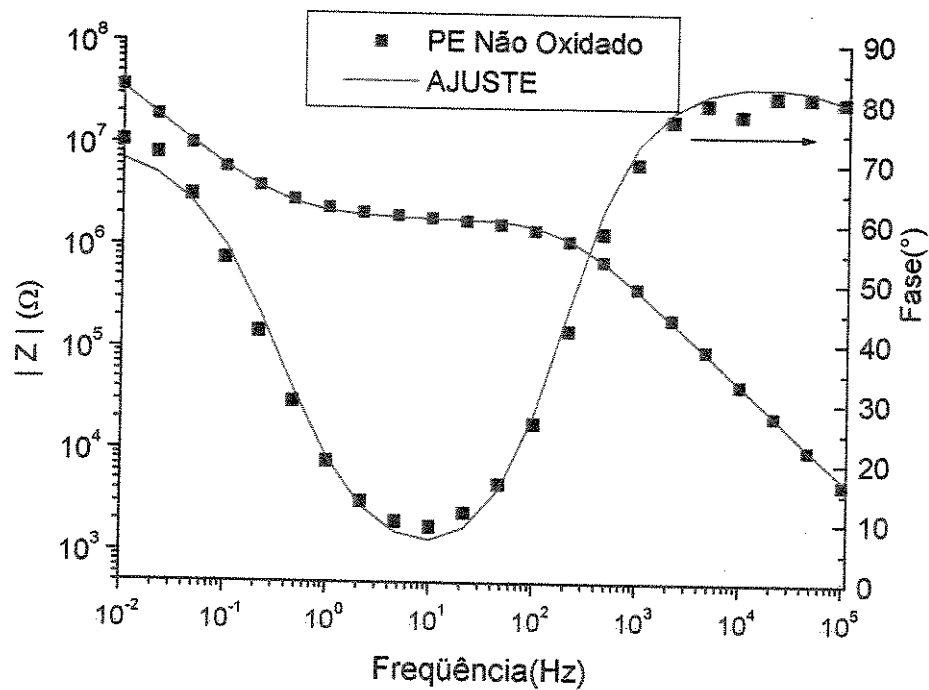


Figura 5.50: Curvas Experimental e Ajuste para PE Não oxidado (t_0).

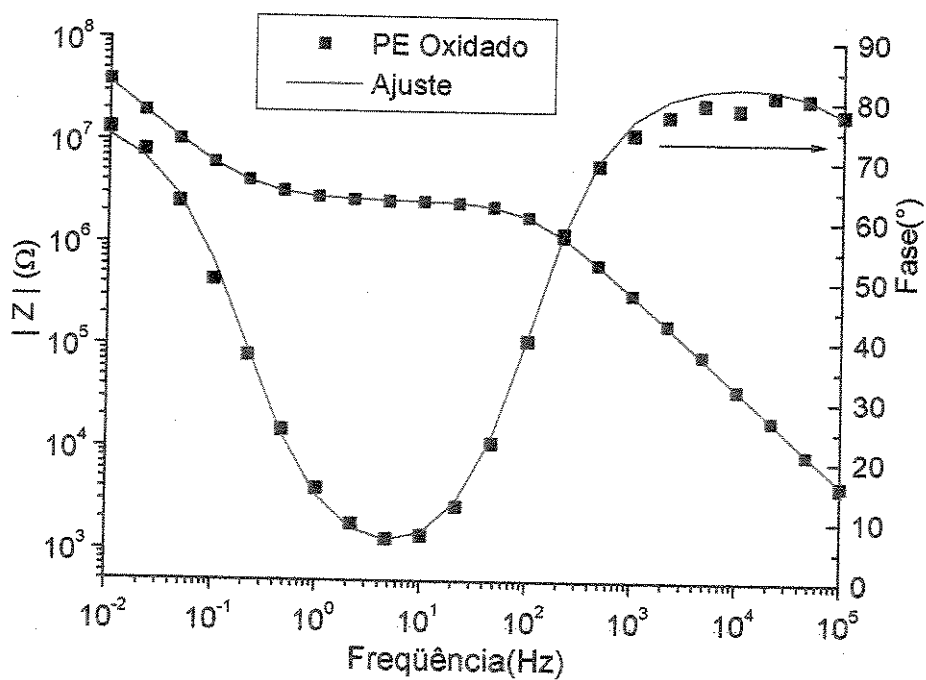


Figura 5.51: Curvas Experimental e Ajuste para PE Oxidado (t_0).

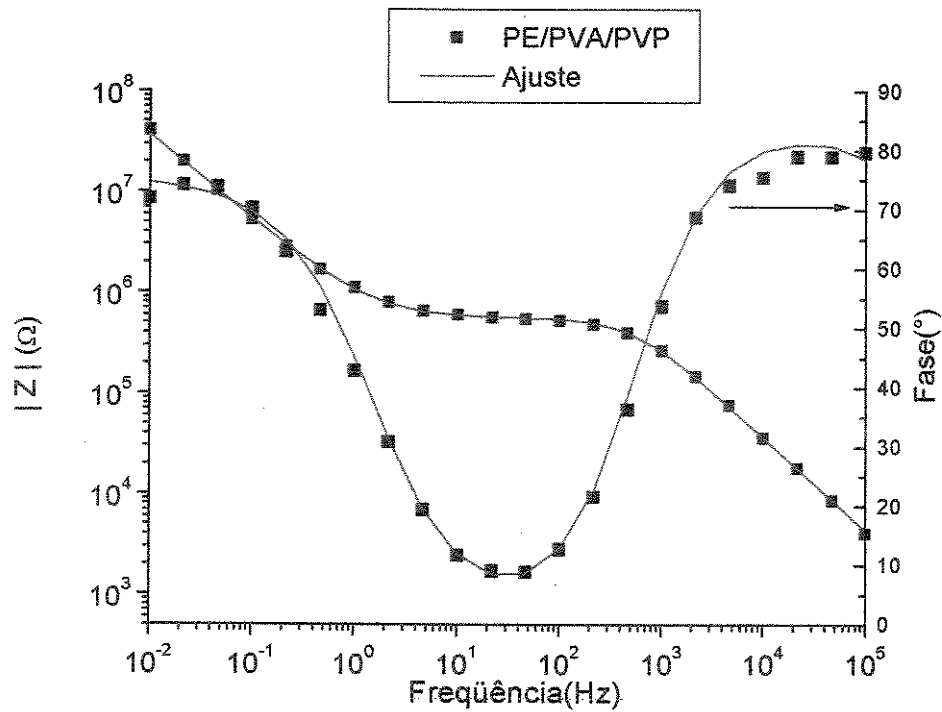


Figura 5.52: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA/PVP (t_0).

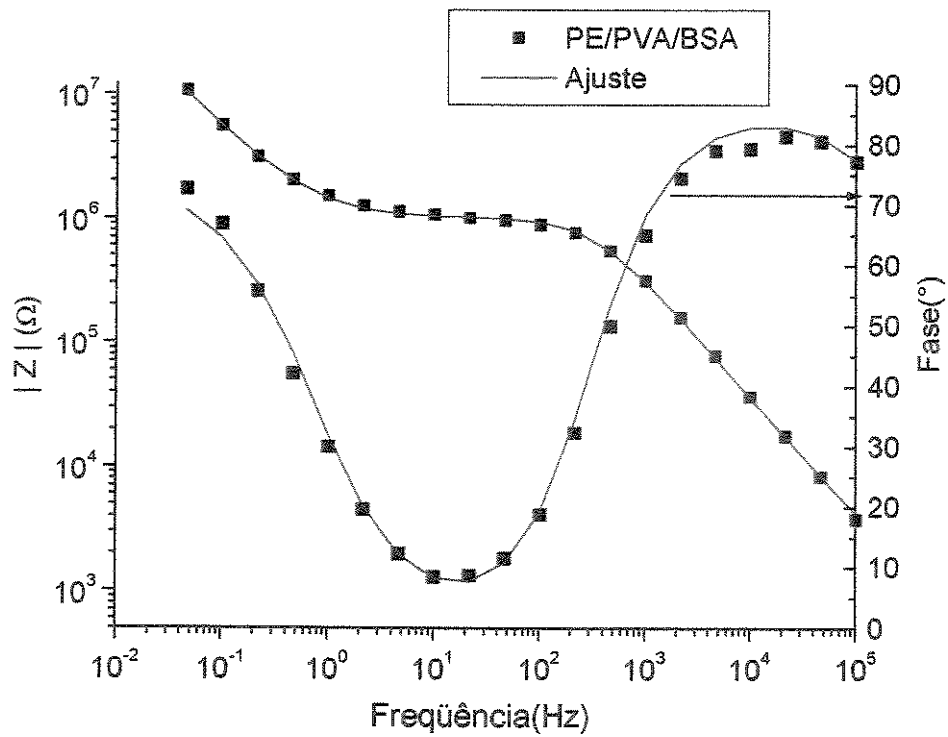


Figura 5.53: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA/BSA (t_0).

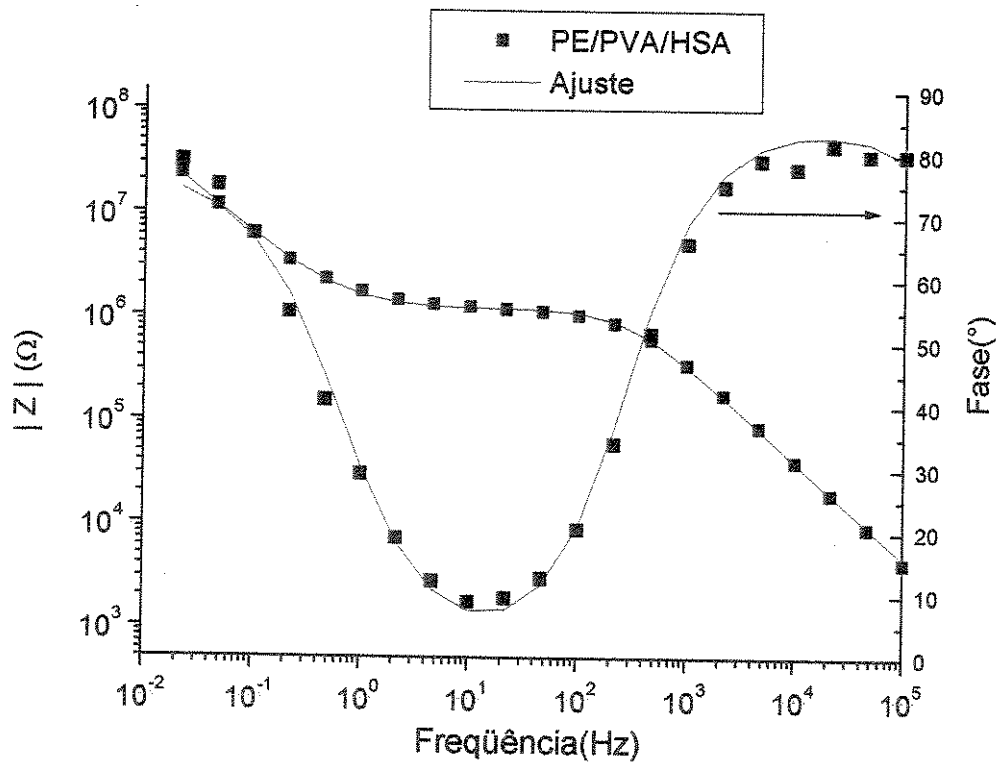


Figura 5.54: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA/HSA (t_0).

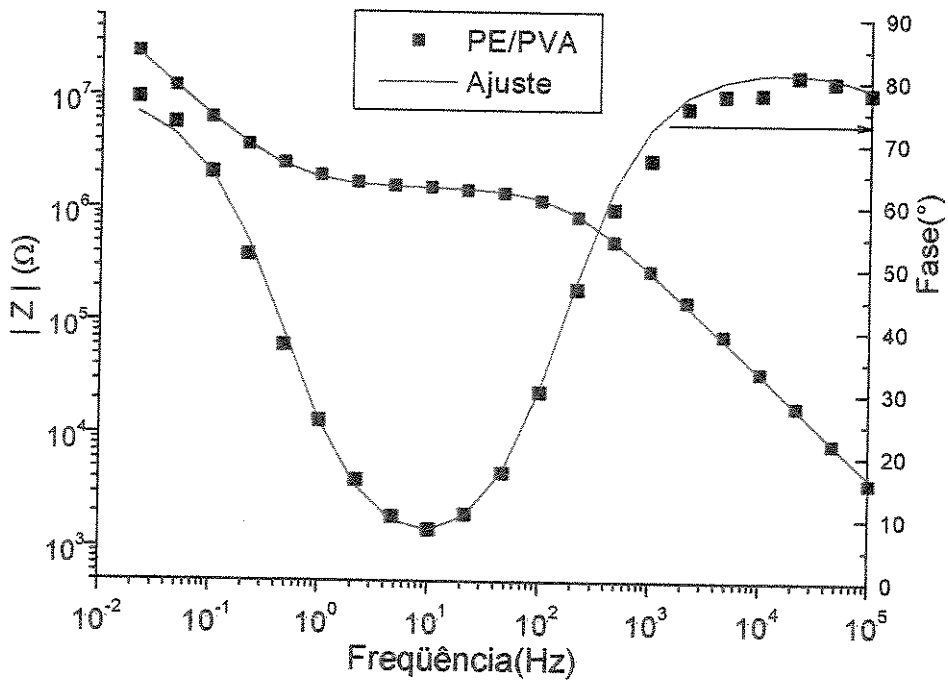


Figura 5.55: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA (t_0).

Tabela 5.2 – Valores dos Elementos de Circuito equivalente para os filmes em t_0 .

ELEMENTOS	FILMES					
	PE NÃO OXIDADO	PE OXIDADO	PE/PVA/PVP	PE/PVA/BSA	PE/PVA/HSA	PE/PVA
R_s (Ohm)	380	500	384	600	459	300
Q_f (nF)	69	87	89	72	71	100
n_1	0,94	0,93	0,94	0,95	0,95	0,90
R_f (Ohm) $\times 10^5$	19	26	6	10	12	15
Q_{tc} (nF)	277	299	275	278	253	249
n_2	0,81	0,86	0,84	0,83	0,86	0,87

R_s = Resistência da Solução PBS

Q_f = Capacitância do Filme (CPE)

n_1 = coeficiente de correção do CPE

R_f = Resistência do Filme

Q_{tc} = Capacitância de Troca de Carga (CPE)

n_2 = coeficiente de correção do CPE

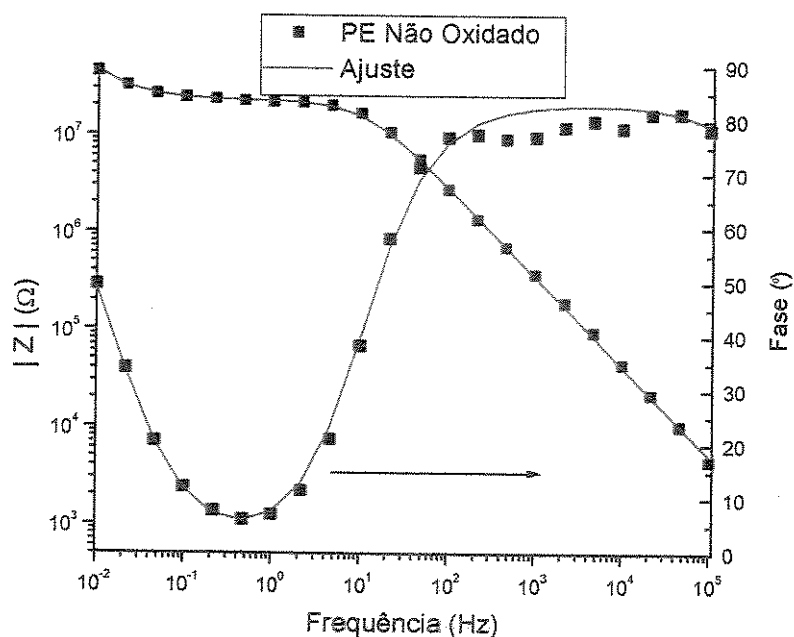


Figura 5.56: Curvas Experimental e Ajuste para PE Não oxidado (t_{24}).

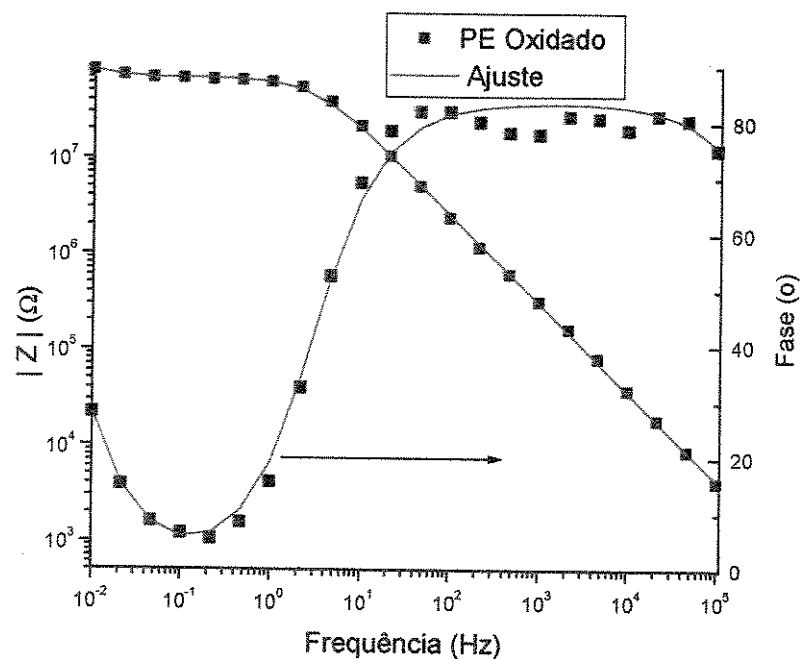


Figura 5.57: Curvas Experimental e Ajuste para PE Oxidado (t_{24}).

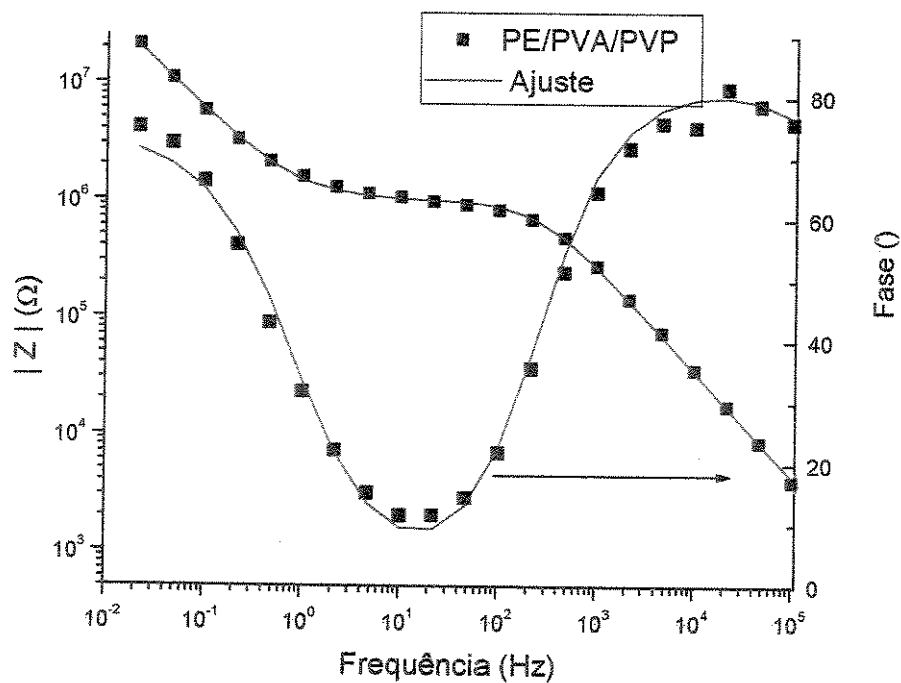


Figura 5.58: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA/PVP (t_{24}).

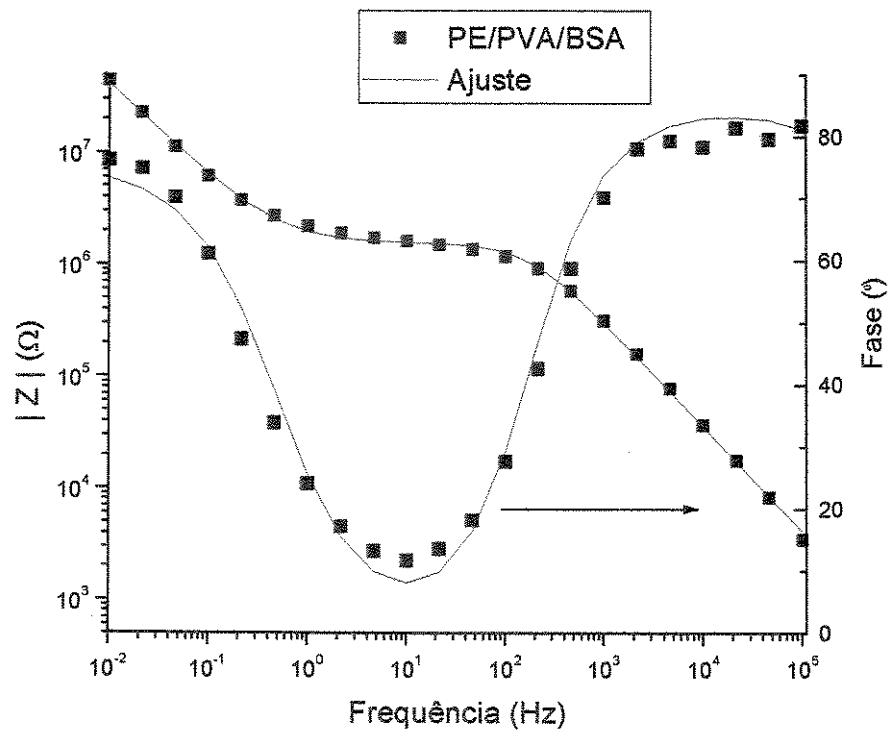


Figura 5.59: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA/BSA (t_{24}).

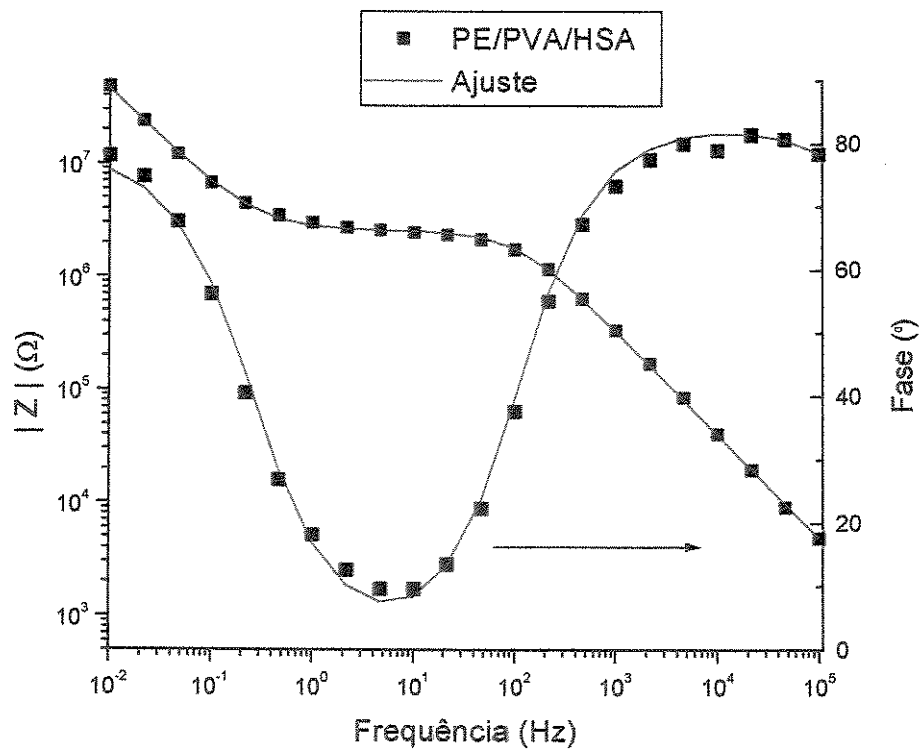


Figura 5.60: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA/HSA (t_{24}).

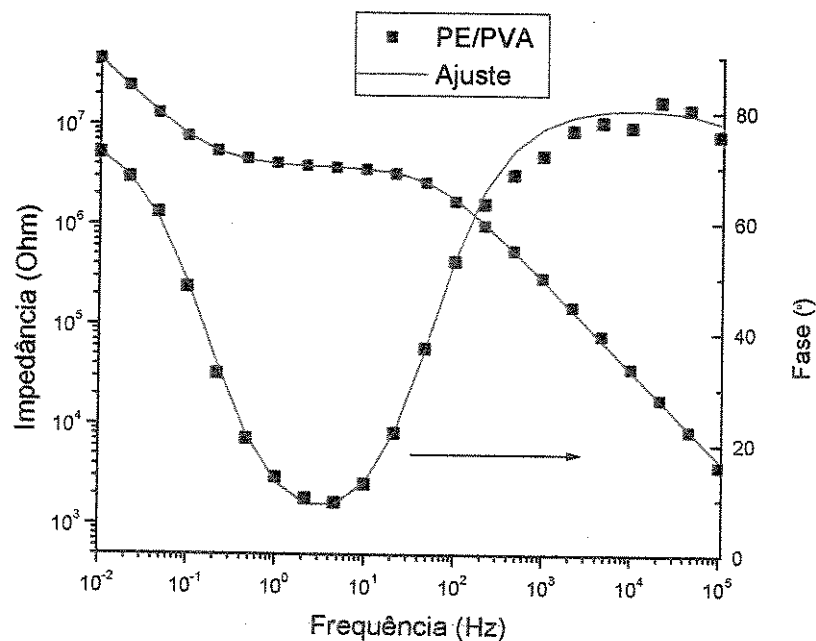


Figura 5.61: Curvas Experimental e Ajuste para PE/PVA (t_{24}).

Tabela 5.3 – Valores dos Elementos de Circuito equivalente para os filmes em t_{24} .

ELEMENTOS	FILMES					
	PE NÃO OXIDADO	PE OXIDADO	PE/PVA/PVP	PE/PVA/BSA	PE/PVA/HSA	PE/PVA
R_s (Ohm)	355	605	408	236	373	251
Q_f (nF)	0,88	0,95	1,17	0,87	0,94	1,31
n_1	0,92	0,93	0,92	0,94	0,92	0,90
R_f (Ohm) $\times 10^3$	226	687	10	15	25	38
Q_{tc} (nF)	311	355	261	247	249	242
n_2	0,87	0,94	0,83	0,84	0,88	0,86

R_s = Resistência da Solução PBS

Q_f = Capacitância do Filme (CPE)

n_1 = coeficiente de correção do CPE

R_f = Resistência do Filme

Q_{tc} = Capacitância de Troca de Carga (CPE)

n_2 = coeficiente de correção do CPE

5.4.7 – Correlação entre as Características Eletroquímica e Físico-Químicas dos Revestimentos de Hidrogéis

Estudos das características eletroquímicas de filmes poliméricos, utilizando a EIS, têm mostrado haver uma relação direta entre a diminuição da resistência e o aumento da sorção de íons nos filmes, além de evidenciar o aumento da capacitância relativo ao aumento da sorção de água por estes. (Mansfeld, 1986), (Inone, 1998). Trabalhos correlatos mostram que são encontrados valores maiores de capacitância para filmes imersos em soluções salinas do que para filmes imersos em água, (tendo-se constatado o aumento da sorção em solução salina pela diminuição do ângulo de contato) e que os valores de resistência destes filmes diminuem com o aumento da sorção de água. (Sharma, 1998);

A partir disto, a análise destes valores pode ser relacionada às mudanças estruturais na superfície polimérica, mudanças estas que se refletem nas características hidrofílicas e trombogênicas destas superfícies e provocam alterações no comportamento eletroquímico do material, permitindo, desta forma, relacionar as características avaliadas pela técnica EIS com as demais características superficiais anteriormente citadas.

Desta forma, tornou-se possível correlacionar as características trombogênicas dos filmes revestidos com hidrogéis com suas características eletroquímicas obtidas através da técnica EIS.

As figuras 5.62 a 5.64 mostram as Curvas de Bode-Módulo, Bode-Fase e Nyquist para os filmes revestidos com hidrogéis após 24h em PBS.

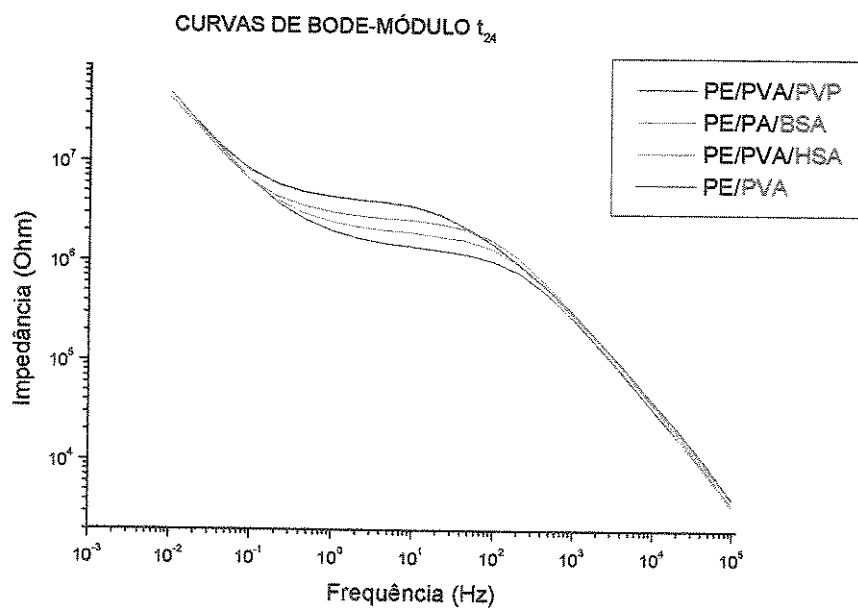


Figura 5.62 - Curva de Bode-Módulo: filmes revestidos com hidrogéis

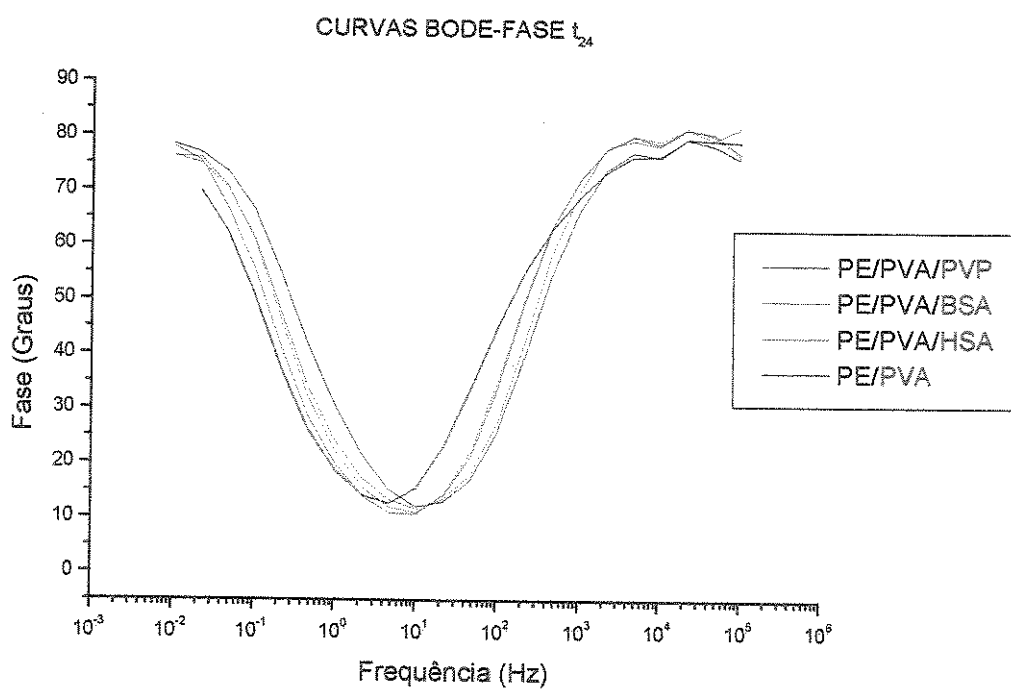


Figura 5.63 - Curva de Bode-Fase: filmes revestidos com hidrogéis

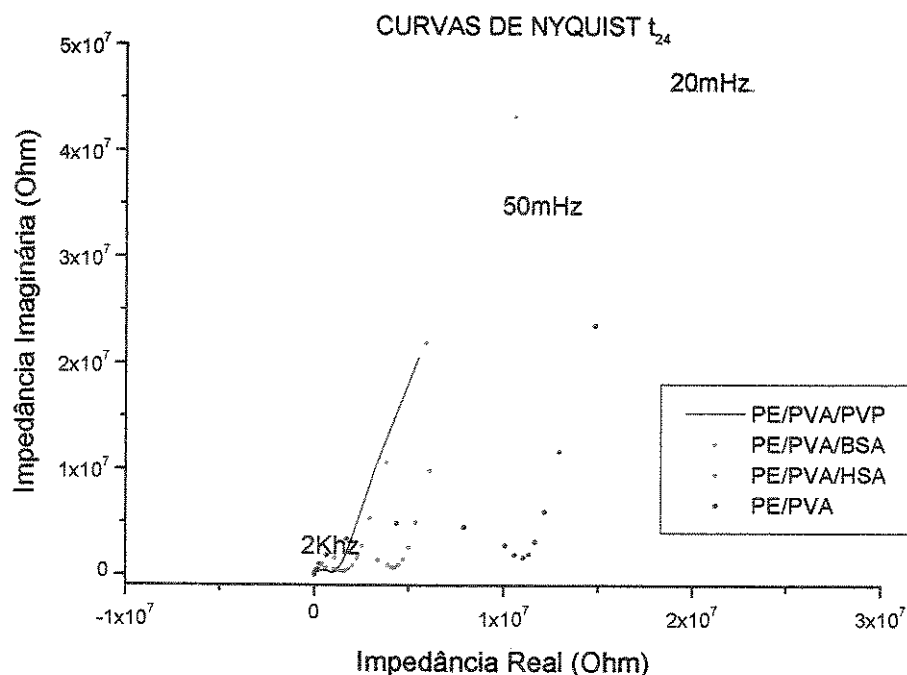


Figura 5.64: Curva de Nyquist: filmes revestidos com hidrogéis

Observa-se na figura 5.62 uma aproximação das curvas nas regiões de comportamento capacitivo, encontrando-se uma diferença mais acentuada entre os valores de impedância nas regiões puramente resistivas, destacando-se o filme PE/PVA/PVP com o valor mínimo para o patamar resistivo e o filme PE/PVA com o valor máximo. Entre estes dois valores encontram-se os revestimentos com BSA e HSA, sendo que o filme PE/PVA/BSA apresenta patamar resistivo abaixo do patamar do filme PE/PVA/HSA. Tal comportamento se reflete na figura 5.63 como um deslocamento à esquerda dos picos de fase dos filmes PE/PVA e PE/PVA/HSA com relação aos filmes PE/PVA/PVP e PE/PVA/BSA.

Considerando os filmes revestidos em ordem crescente de seus valores de impedância, verifica-se também nesta ordem, o aumento do ângulo de contato, mostrando uma relação direta entre a variação de ambas características. Paralelamente a esta relação, verifica-se uma piora nas características anti-trombogênicas dos respectivos filmes. Para visualizar melhor estas relações foi construída a tabela 5.4, a qual mostra os valores das resistências dos filmes extraídas dos elementos de circuito associando-lhes os valores de ângulo de contato e a respectiva qualificação da característica anti-trombogênica.

Tabela 5.4: Características físico-químicas e trombogenicidade dos filmes revestidos (t_{24}) em função do aumento da impedância.

AMOSTRAS	RESISTÊNCIA (Ohm)x 10 ⁵	ÂNGULO DE CONTATO (grau)	HEMOCOMPATIBILIDADE
PVA/PVP	(10)	42	MUITO BOA*
PVA/BSA	(15)	44	MUITO BOA
PVA/HSA	(25)	46	BOA
PVA	(38)	49	REGULAR

** melhor comportamento anti-trombogênico*

A medida da adesão plaquetária em filmes recobertos com hidrogéis, como parâmetro da trombogenicidade destes filmes, tem sido relacionada às características hidrofílicas destes materiais de forma que, quanto maior o conteúdo de água absorvido pelo hidrogel, melhor suas características hemocompatíveis.

Kulik (1996) estudou a adesão plaquetária em vários tipos de hidrogéis hidrofílicos, incluindo o PVA, e observou que todos exibiram níveis de adesão plaquetária muito menores que polímeros hidrofóbicos de grau médico já comumente utilizados, como o silicone e a poliuretana. Ele verificou também que, quanto maior o conteúdo de água no hidrogel, menor a adesão plaquetária neste, encontrando valores mínimos de plaquetas aderidas para conteúdos de água no hidrogel em torno de 90%.

A partir destas considerações e analisando a tabela 5.4 podemos verificar que esta relação é mantida pois, quanto menor o ângulo de contato dos filmes revestidos, ou seja, quanto maior a hidrofiliabilidade destes materiais, melhor se mostram suas características hemocompatíveis. Associado a este comportamento observa-se uma clara diminuição nos valores de resistência, conforme visto nas figuras 5.62 a 5.64 ressaltando a relação proporcional entre a melhora da hemocompatibilidade dos filmes e as suas resistências. Considera-se que a diferença nos processos de condução seja devida a um provável mecanismo de absorção de eletrólito nos filmes, conforme estes se tornam mais hemocompatíveis a partir da melhora da hidrofiliabilidade de suas superfícies.

Capítulo 6

Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros

6.1 - Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho nos permitiram chegar às seguintes conclusões:

A técnica de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica mostrou-se eficiente na caracterização da trombogenicidade de hidrogéis poliméricos de PVA e das blendas de hidrogéis de PVA com PVP, BSA e HSA.

A condutividade elétrica nos filmes revestidos mostrou-se relacionada à variação da hidrofiliabilidade dos mesmos, ocorrendo a diminuição da resistência conforme os filmes tornaram-se mais hidrofílicos e menos trombogênicos. Este comportamento está, provavelmente, associado a uma maior sorção de eletrólito pelos filmes, facilitado pelo aumento da hidrofiliabilidade.

A técnica EIS mostrou-se sensível às variações ocorridas nas superfícies dos filmes de polietileno após estes terem sido submetidos ao processo de oxidação química, observando-se um aumento de resistência atribuído aos fortes grupos polares inseridos pelo processo oxidativo; entretanto não foi possível estabelecer uma relação padrão entre diferentes parâmetros de oxidação e a resposta eletroquímica dos filmes.

Para todos os filmes observou-se uma relação entre o mecanismo de condução e o tempo de manutenção dos filmes em solução, ocorrendo o aumento da impedância entre os tempos

inicial e final (24h), atribuindo-se tal comportamento ao intumescimento dos filmes após 24hs imersos em solução.

Os valores de capacitância dos filmes revestidos mostraram-se maiores após 24hs em solução, mostrando-se coerentes com o processo de sorção de eletrólito.

O processo de oxidação foi eficiente na introdução de grupos polares na superfície dos filmes promovendo a adesão dos revestimentos de hidrogéis.

A espectroscopia de infravermelho foi auxiliar na verificação da alteração produzida nos filmes pelo processo de oxidação.

A oxidação dos filmes tornou-os mais hidrofílicos e mais trombogênicos que os filmes matrizes de PE.

Os filmes de PEBD tornaram-se mais hidrofílicos após o revestimento com hidrogéis.

O revestimento dos filmes com hidrogéis de PVA, blendas PVA/PVP, PVA/BSA e PVA/HSA provocou uma acentuada melhora nas características hemocompatíveis dos filmes. Notadamente, a adição de PVP gerou a melhor característica hemocompatível.

O ensaio de Ângulo de Contato foi essencial na correlação das características hidrofílicas e eletroquímicas dos filmes. Da mesma forma, na correlação das características hidrofílicas e trombogênicas.

A microscopia eletrônica de varredura foi determinante na caracterização quantitativa do grau de trombogenicidade dos filmes.

6.2 - Sugestões para Trabalhos Futuros

Estudar o comportamento eletroquímico de filmes de polietileno oxidados, buscando-se, através da espectroscopia de infravermelho, estabelecer uma relação entre os grupos carboxílicos introduzidos no filme virgem e suas características de impedância.

Medir o conteúdo de água dos hidrogéis, visando obter uma relação direta entre impedância/hidrofilicidade/conteúdo de água.

Avaliar o comportamento capacitivo dos filmes matrizes e revestidos em função do tempo para períodos de imersão mais longos.

Estabelecer a relação entre capacitância e o conteúdo de água nos hidrogéis.

Estudar novas composições de blendas PVA/PVP buscando estabelecer a melhor proporção entre os dois materiais, a qual promova um caráter anti-trombogênico ideal.

Obter novas blendas com albumina humana, controlando-se o processo de cura térmica para evitar uma possível desnaturação desta proteína.

Referências Bibliográficas

- ALDENHOFF, Y.B.J., KOOLE, L.H. Studies on a new strategie for surface modification of polymeric biomaterials. *Journal of Biomedical Materials Research*, v29, p.917-22, Elsevier, 1995.
- ALLEN, G., BEVINCTON, J.C. *Comprehensive polimer science: the synthesis, characterization, reactions and applications of polymers*. Pergamon Press, 1982.
- ANDREOPOULOS, A.G., PLYTARIA, M. Release of drugs form polymeric hydrogels. *Journal of Biomaterials Applications*, v12, p.291-99, Lancaster, 1998.
- BANDEIRA, M.C.E., FRANCO, C.V., MARTINI, E. Eletrochemical Impedance Analysis of copolymeric poly-{pyrrole-trans-[RuCl₂(pmp)₄]} films. *Anais do EIS 98*, RJ, Brasil, p. 169-71, 1998.
- BARD, A.J., FAULKNER, L.R. *Eletrochemical Methods-fundamentals and applications*, John Wiley & Sons, 1980.
- BELLUCCI, F., NICODEMO, L. Water Transport in Organic Coatings. *Corrosion*. v 49(3) p. 235-247, Natl Assn Corrosion Eng, Houston, 1993.
- BONNEL, K., LE PEN, C., PÉBÈRE, N. EIS Characterization of Protective Coatings on Aluminum Alloys. *Anais do EIS 98*, RJ, Brasil, p. 210-12, 1998.
- CASTELA, Q.S., SIMÕES, A. M. EIS Evaluation of Attached and Free Polymers Films. *Anais do "EIS 98"*, p.189-191, RJ, Brasil, 1998.
- CAUICH-RODRIGUEZ, J.V., DEB. S., SMITH, R. Characterization of hydrogel blends of poly(vinyl pyrrolidone) and poly(vinyl alchool-vinyl-acetate). *Journal of Materials Sci: Materials in Medicine*, p. 269-272, 1996.
- CHAN, C.-M., KO, T.-M., HIRAOKA, H. Polymer surface modification by plasmas and photons. *Surface Science Reports*, v24, p.1-54, Elsevier, 1995.
- DEFLORIAN, F., FEDRIZZI, L., ROSSI, S., BONORA, P.L., Organic Coating Capacitance Measurment by EIS: Ideal and Actual Trends. *Anais EIS 98*, RJ, Brasi, p. 183-85, 1998.

- DEPPISH, R., STORR, M., BUCK, R., GOHL, H. Blood materials interactions at the surfaces of membranes in medical applications. *Separation and Purification Technology*, v14, p.241-54, Elsevier sci, 1998.
- DONG GU, J., LU, C., MITCHELL, R., THORP, K., CASTRO, A. Fungal Degradation of Fiber-Reinforced Composite Materials, *Materials Performance*, v 36, n 3, p.37-42, 1997.
- DURRANI, A.A., CHAPMAN, D. Modification of Polymer Surfaces for Biomedical Applications, in *Polymer Surfaces and Interfaces*, cap.10, p. 189-200, John Wiley & Sons, 1987.
- DYER, J.R. Aplicações de Espectroscopia de Absorção aos Compostos Orgânicos. Ed.Edgard Blucher Ltda, SP, 1969.
- EG&G Princeton Applied Research - Application note AC-1, Basics of Eletrochemical Impedance Spetroscopy (EIS), 1989.
- EISHABASY, M., RIAD, A.S. Dielectric behaviour of polycarbonate. *Physyca B*, v222, p.153-59, 1996.
- FONG IP, W.; ZINGG, W.; SEFTON, M.V. Paralllel flow arteriovenous shunts for the ex vivo evaluation of heparinized materials, *Journal of Biomedical Materials Research*, v19, p.161-178, John Wiley & Sons, 1985.
- GALEMBCK, F. Superfícies de polietileno, suas características e sua adesão. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 1, p.34-38, ABPol Ed., 1991.
- GATENHOLM, P.; MICHALEK, J. and VACIK, J.. Synthesis and Characterization of highly wettable hydrogel coatings for immobilization of cells, in *Polymeric Materials Science and Engineering*, v69, p.106-107, 1993.
- GREEN, D.W., REEDY, G.T. Matrix-isolation Studies with Fourier transform Infrared.In: FERRARO, J.R., BASILE, L.J. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy Applications to Chemical Systems*, Acamemic Press, NY, 1978.
- GRIFFITH, L.G. Polymeric biomaterials. *Acta Materialia*, v 48, p.263-77, Elsevier Sci, 1999.
- GRUNKMEIER, J.M., TSAI, W.B., HORBETT, T.A. Hemocompatibility of treated polystyrene substrates: Contact ativation, platelet adhesion and procoagulant activity of adherents platelets. *Journal of Biomedical Mat. Res*, v41, p.657-70, Elsevier Sci, 1998 .
- HANCOCK, L.F., FAGAN, S.M., ZIOLO, M.S. Hydrophilic, semipermeable membranes fabricated with poly (ethylene oxide) – polysulfone block copolymer. *Biomaterials*, v21, p.725-33, Elsevier Sci, 2000.

- HARI, P.R., AJITHKUMAR, B., SHARMA, C.P. Hydrogel grafted polymer surfaces: Interactions and morphology of platelets. *Journal of Biomaterial Applications*, v8, n2, p.174-82, 1993.
- HAYCOX, C.L., RATNER, B.D. In-vitro Platelet Interactions in Whole Human Blood exposed to Biomaterials Surfaces – Insights on Blood Compatibility. *Journal of Biomedical Materials Research*, 27(9), p.1181-1193, John Wiley & Sons, Set. 1993
- HOLLAENDER, J., LUDWIG, E., HILLEBRAND, S. Assessing protective layers on metal packaging material by eletrochemical impedance spectroscopy. *Proccedings 5th International Tinplate Conference*, London, pp. 300-315, 1992.
- IKADA, Y., SUZUKI, M., TAMADA, Y. Polymer surfaces possessing minimal interactions with blood components. In: SHALABY, S.W., HOFFMAN, A.S., RATNER, B.D., HORBETT, T.A. *Polymers as Biomaterials*. P. 135-47, NY, Plenum Press, 1984.
- INONE, P.C., GARCIA, C.M. Characterization of Organica Coatings by Eletrochemical Impedance Spectroscopy. *Anais do EIS 98*. p. 225-27, R.J., Brasil, 1998.
- ISHIHARA, K., IWASAKI, Y., NAKABAYASHI, N. Novel biomedical polymers for regulating serious biological reactions. *Materials Science and Engineering*, C6, p.253-59, Elsevier Sci, 1998.
- JAGUR-GRODZINSKI, J. Biomedical application of functional polymers. *Reactive and Functional Polymers*, v39, p.99-138, Elsevier Sci, 1999.
- JOSEFOWICZ, M. , JOSEFOWICZ, J. Antithrombogenic polymers. *Pure Applied Chemistry*, 56 (10): 1335-44, 1984.
- KANG, I., KWON, B.K., LEE, J.H., LEE, H.B. Immobilizations of proteins on poly (methyl metacrylate) films. *Biomaterials*, v14, p.787-92, 1993.
- KULIK, E., YKADA, Y. In vitro platelet adhesion to nonionic and ionic hydrogels with different water contents. *Journal of Biomedical Materials Research*, v30, p.295-304, John Wiley & Sons, 1996.
- LEE, J.H., LEE, H.B. Platelet adhesion onto wettability gradient surfaces in the absence and presence of plasma proteins. *Journal of Biomedical Materials Research*, v41, p. 304-11, John Wiley & Sons, 1998.
- LOISANCE, D. Hemocompatible biomaterials for cardiovascular-surgery. *Bulletin de L'academie Nationale de Medecine*, 179: (3) 537-547, 1995.
- LOISANCE, D. Cardiovascular biomaterials. *Semaine des Hospitaux*, 73: (21-22) 713-718, 1997.

- LUNDSTRÖM, I., IVARSSON, B., JÖNSSON, U., ELWING, H. Protein Adsorption and Interaction at Solid Surfaces. *Polymer Surfaces and Interfaces*, cap.11, p. 201-230, John Wiley & Sons, 1987.
- McADAMS, E.T., JOSSINET, J. Epidermal a.c. impedance: low frequency distortions. *Proceedings of the Annual Conference on Engineering in Medicine and Biology*, v 15 pt 3, p.1497-1498, 1993.
- MACDONALD, J.R. *Impedance Spectroscopy emphasizing solid materials and Systems*, NY, John Wiley & Sons, 1987.
- MACDONALD, J.R. Impedance Spectroscopy: Old Problems and New Developments, in *Eletrochimica Acta*, v 35 n 10, p.1483-1492, 1990.
- MANSFELD, F., JEANJAQUET, S.L., KENDIG, M.W. An Electrochemical Impedance Spectroscopy Study of reactions at the Metal/Coating Interface. *Corrosion Science*, 26,9: 735-742, 1986.
- MANSFELD, F. Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) as a New Tool for Investigating Methods of Corrosion Protection, in *Eletrochimica Acta*, v 35 n 10, p. 1533-1544, 1990.
- MARK, H. F. A Century of Polymer Science and Technology *Acs Sym Ser*, 285, p.: 3-12, Amer Chemical Soc, Washington, 1985.
- MATHEW, J., KODAMA, M. Study of blood compatible polymers: Modification of poly(vinyl alcohol). *Polymer Journal*, v24, p.31-41, 1992.
- MATTOS, O.R. Caracterização dos processos de eletrodo com auxílio da técnica de Impedância Eletroquímica. *Conferência Plenária, Anais do 9^o seminário Nacional de Corrosão*, p.1-21, 1982.
- MERTENS, S.F., XHOFFER, C., DE COOMAN, B.C., TEMMERMAN, E. Short Term Deterioration of Polymer-Coated 55% Al-Zn - Part1: Behavior of Thin Polymer Films, *Corrosion* v 53, n 5, 1997.
- PHANEUF, M.D., BERCELLI, S.A., BIDE, M.J., QUIST, W.C., LOGERFO, F.W. Covalent linkage of recombinant hirudin to poly(ethylene terephthalate) (Dacron): creation of a novel antithrombin surface. *Biomaterials*, 18, p. 755-765, 1997.
- QUEIROZ, A.A.A. São Paulo: Instituto de Pesquisas em Energia Nuclear, Universidade de São Paulo. 157p. 1993 Tese (Doutorado).

- QUEIROZ, A.A.A., BARRAK, E.R., SANTOS, L.R.M., FREIRE, C.M.A.. Hydrogel Blends of Poly(vinyl pyrrolidone) and Poly(vinyl alcohol) as Potential Candidate for Haemocompatible Materials. Anais do 4º Congresso Brasileiro de Polímeros, Salvador, BA, Set/1997.
- RAO, J.K., RAMESH, D.V., RAO, K.P. Implantable controlled delivery systems for proteins based on collagen-phema hydrogels. *Biomaterials*, v15, p.383-89, 1994.
- RASMUSSEN, J.R., STEDRONSKY, E.R., WHITESIDES, G.M. Introduction, Modification and Characterization of Functional Groups on the Surface of Low-Density Polyethylene Film. *Journal of The American Chemical Society*, v 99 n 14, P. 4736-4745, 1977.
- RATNER, B.D. Biomedical applications of hydrogels: Review and critical appraisal. In: WILLIAMS, D.F. *Biocompatibility of clinical implant materials*. CRC Press, p.146-75, 1981.
- RATNER, B.D., YOON, S.C., MATEO, N.B. Surfaces Studies by ESCA of Polymers for Biomedical Applications. *Polymer Surfaces and Interfaces*, cap.12, p. 231-251, John Wiley & Sons, 1987.
- RATNER, B.D. Biomedical applications of synthetic polymers. In: ALLEN, G., BEVINGTON, J. *Comprehensive Polymer Science*, v7, p.201-47, Pergamon Press, 1989.
- RATNER, B.D. Characterization of Biomaterials Surfaces, in *Cardiovascular Pathology*, Elsevier, Jul-Sep, 1993.
- RATNER, B.D. Surface Modification of Polymers – Chemical, Biological and Surface Analytical Challenges. *Biosensors and Bioelectronics*. 10: (9-10) 797-804. 1995.
- RATNER, B.D. Molecular design strategies for biomaterials that heal. *Macromolecular Symposia*. 130: 327-335, Apr, 1998.
- ROBERGE, P.R., SASTRI, V.S. On line Corrosion Monitoring with Electrochemical Impedance Spectroscopy. *Corrosion Science* 50, n 10, p.744-754, 1994.
- RUGG, F.M., SMITH, J.J., BACON, R.C. Infrared Spectrophotometric Studies on Polyethylene. II – Oxidation. *Journal of Polymer Science*, v XIII, p. 535-547, 1954.
- SABBATINI, L., ZAMBONIN, P.G. XPS and SIMS surface chemical analysis of some important classes of polymeric biomaterials. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, v81, p.285-301, Elsevier Sci, 1996.
- SAIWER, P.N. et al. Eletrochemistry of Thrombosis - An Aid in the Selection of Prosthetic Materials. *Journal of Biom. Mater. Res.*, v 4, p.43-55, 1970.
- SANO, S., KATO, K., IKADA, I. Introduction of functional groups ontho the surface of polyethylene for protein immobilization. *Biomaterials*, v 14, n 11, p. 817-822, 1993.

- SANTOS, L.R.M. FREIRE, C.M.A., QUEIROZ, A.A.A. Study of the Electrical Properties of the LDPE-g-AAm by Impedance Spectroscopy, 6° Macromolecular International Colloquium, Gramado, R.S., set/1994.
- SANTOS, L.R.M., Campinas: Faculdade de Engenharia mecânica, Universidade Estadual de Campinas, 1994.74p. Tese (Mestrado).
- SANTOS, L.R.M., FREIRE, C.M.A., QUEIROZ, A.A.A. Estudo Eletroquímico das Características Trombogênicas de Hidrogéis Poliméricos, Anais do 4° Congresso Brasileiro de Polímeros, Salvador, BA, Out/1997.
- SCHULZ, R.C. Acrylamide Polymers. Encyclopedia of Polymer science and Engineering. V.1, John Wiley & Sons Inc., Canada, 1985.
- SCHAUB, R.D., KAMENEVA, M.V., BOROVETZ, H.S., WAGNER, W.R. Assessing acute platelet adhesion on opaque metallic and polymeric biomaterials with fiber optic microscopy. Journal of Biomedical Mat. Research, v49, p.460-68, Elsevier Sci, 2000.
- SHARMA, R., HENDERSON, C., WARREN, G.W., BURKETT, S.L. Study of electrical properties of polymeric materials using eletrochemical impedance spectroscopy. Journal of Applied Polymer Science, v68, 553-60, 1998.
- SOUTHAMPTON ELETROCHEMISTRY GROUP. Instrumental Methods in Eletrochemistry, cap.8, p.251-283, London, Ellis Horwood, 1990.
- WATANABE, M., TADENUMA, Y., BAN, M., SANUI, K., OGATA, N. Eletrochemical study of swelling change of poly(n-isopropyl acrylamide) gels using gel-modified ultramicroelectrodes. Journal of Intelligent Materials Systems and Structures, v 4, n 2, p. 216-222, 1993.
- WILLIAMS, D.F. Definitions in Biomaterials, in Progress in Biomedical Engineering, cap3, Elsevier, 1986.
- WILLIAMS, D.F. Review Tissue – Biomaterials Interactions. Journal of Materials Science, 22: 3241-45, 1987.
- WITCHERLE, O., LIM, D. Hydrophilic gels for biological use. Nature, 185(4706), p.117-118, Macmillan Magazines Ltd, London, 1960.