

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE A REDAÇÃO FINAL DA
TESE DEFENDIDA POR Ana Paula Testa
Pezzin E APROVADA PELA
COMISSÃO JULGADORA EM 20/04/04

Duek

ORIENTADOR

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA

**Obtenção e caracterização de blendas de poli(p-
dionanona) /poli(L-ácido láctico) (PPD/PLLA) para
aplicação como prótese de menisco bioreabsorvível**

Autora : Ana Paula Testa Pezzin

Orientadora: Eliana Aparecida de Rezende Duek

Co-Orientadora: Cecília Amélia C. Zavalica

24/01

200207612



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS - DEMA**

**Obtenção e caracterização de blendas de poli(p-
dionanona) /poli(L-ácido láctico) (PPD/PLLA) para
aplicação como prótese de menisco bioreabsorvível**

Autora : Ana Paula Testa Pezzin

Orientadora: Eliana Aparecida de Rezende Duek

Curso: Engenharia Mecânica.

Área de concentração: Materiais e Processos de Fabricação - AE

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, 2001

S.P. - Brasil

N.º CHAMADA:	
UNICAMP	
P4690	
V	Ex
T	47886
PRE	16-837102
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREC	R\$ 11,00
DATA	15-02-02
N.º CPD	

CM00163819-B

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

P4690

Pezzin, Ana Paula Testa

Obtenção e caracterização de blendas de poli(p-dioxanona)/ poli(L-ácido láctico) PPD/PLLA) para aplicação como prótese de menisco bioreabsorvível / Ana Paula Testa Pezzin. --Campinas, SP: [s.n.], 2001.

Orientadora: Eliana Aparecida de Rezende Duek.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica.

1. Polímeros na medicina. 2. Materiais poliméricos. 3. Materiais biomédicos. 4. Biodegradação. 5. Mistura (Química). 6. Biocompatibilidade. 7. Engenharia biomédica. I. Duek, Eliana Aparecida de Rezende. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Mecânica. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS - DEMA

TESE DE DOUTORADO

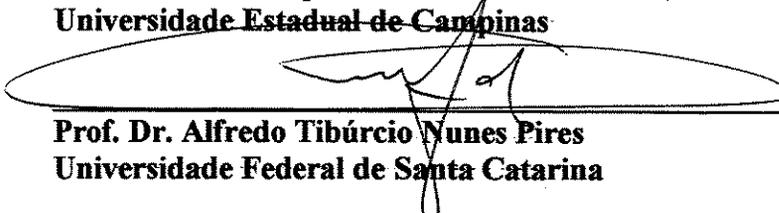
**Obtenção e caracterização de blendas de poli(p-
dioxanona)/ poli(L-ácido láctico) (PPD/PLLA) para
aplicação como prótese de menisco bioreabsorvível**

Autor: **Ana Paula Testa Pezzin**

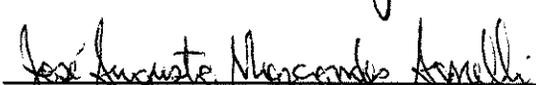
Orientador: **Eliana Aparecida de Rezende Duek**



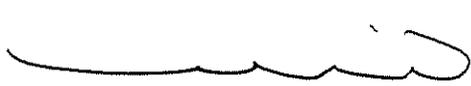
Prof. Dr. Eliana Aparecida de Rezende Duek, Presidente
Universidade Estadual de Campinas



Prof. Dr. Alfredo Tibúrcio Nunes Pires
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Dr. José Augusto Marcondes Agnelli
Universidade Federal de São Carlos



Prof. Dr. Necésio Gomes Costa
Escola Federal de Engenharia de Itajubá



Prof. Dr. Célia Maria de Alvarenga Freire
Universidade Estadual de Campinas

Campinas, 20 de Abril de 2001

ANA PAULA TESTA PEZZIN

CURRICULUM VITAE

FORMAÇÃO

- **Mestre em Engenharia Química na área de Ciências e Tecnologia de Materiais** - Faculdade de Eng. Química –UNICAMP, de 08/1994 a 02/1997.
- **Graduada em Química** - Licenciatura - Instituto de Química – UNICAMP, de 1989 a 1993.

PUBLICAÇÕES EM PERIÓDICOS

1. “Poly(*para*-dioxanone) and poly(L-lactic acid) blends (PPD/PLLA). Phase separation, thermal properties and morphology”, Pezzin, A.P.T.; Alberda van Ekenstein, G.O.R.; Zavaglia, C.A.C.; ten Brinke, G. and Duek, E.A.R., *Polymer*, submetido.
2. “Melt behaviour, crystallinity and morphology of poly(*p*-dioxanone) (PPD)”, Pezzin, A.P.T.; Alberda van Ekenstein, G.O.R. and Duek, E.A.R., *Polymer Communication*, aceito, março, 2001.
3. “Bioabsorbable Polymer Blends to be used as Meniscal Prosthesis”, Pezzin, A. P.T.; Cardoso, T.P.; Rincon, M.C.A; Zavaglia, C.A.C. and Duek, E.A.R.; *Journal of Medical & Biological Engineering & Computing*, **1**, 218-219 (1999).

TRABALHOS COMPLETOS PUBLICADOS EM ANAIS

1. “Hydrolytic degradation of poly(*p*-dioxanona) and poly(L-lactic acid) (PPD/PLLA) casting films by scanning electron microscopy” (**poster**); Pezzin, A. P. T.; Zavaglia, C. A. C. and Duek, E.A.R. *Anais do 7º Congresso Brasileiro de Microscopia de Materiais – Micromat 2000 – São Pedro – SP, 03 a 06/12/2000.*
2. “Estudo do comportamento térmico e morfológico de blendas bioabsorvíveis de poli(L-ácido láctico) e poli(*p*-dioxanona)” (**conferência**); Pezzin, A.P.T.; Alberda van Ekenstein, G.O.R.; Zavaglia, C.A.C.; ten Brinke, G. and Duek, E.A.R.; CD ROM do I Congresso em Ciência de Materiais da Região Sul – SULMAT 2000 – Joinville – SC, 12 a 16/09/2000.
3. “Estudo da miscibilidade de blendas de poli(*para*-dioxanona) e poli(L-ácido láctico) (PPD/PLLA) processadas por fusão” (**poster**); Pezzin, A.P.T.; Zavaglia, C.A.C. e Duek, E.A.R.; *Anais do V Congresso da Associação Brasileira de Polímeros (ABPOL) – Águas de Lindóia – SP, 07 a 10/11/1999.*

RESUMOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSOS

1. " A New Porous Bioreabsorbable Polymer Blend for Meniscal Prosthesis. An Experimental Investigation in Rabbits"; **(conferência)**; Pezzin, A.P.T.; Cardoso, T.P.; Rincon, M.C.A.; Zavaglia, C.A.C.; AmatuZZi, M.M. and Duek, E.A.R.; European Society for Biomaterials – ESB 2001 Conference – London, UK, 12 a 14/09/2001.
2. "Bioabsorbable Polymer Blends to be used as Meniscal Prosthesis"; **(poster)**; Pezzin, A. P.T.; Cardoso, T.P.; Rincon, M.C.A; Zavaglia, C.A.C. and Duek, E.A.R.; European Medical & Biological Engineering Conference – EMBEC '99 – Vienna, Áustria, 04 a 07/11/1999.
3. "Blendas de poli(*para*-dioxanona) (PPD) e poli(L-ácido láctico) (PLLA) obtidas por evaporação de solvente" **(poster)**; Pezzin, A.P.T.; Zavaglia, C.A.C.; Duek, E.A.R. VI Simposio Latino Americano de Polímeros (SLAP VI), IV Congresso Ibero Americano de Polímeros (CIP) e IV Simposio Chileno de Química Y Físico Química de Polímeros (CHIPOL), Viña del Mar, Chile, p.296, P-III-24, 25 a 28/10/1998.
4. "Síntese e Caracterização de membranas de poli(para dioxanona) obtidas por evaporação de solvente e inversão de fases" **(poster)**; Assis, P.R.V.; Pezzin, A.P.T.; Zavaglia, C.A.C.; Duek, E.A.R. VI Simposio Latino Americano de Polímeros (SLAP VI), IV CIP e IV CHIPOL, Viña del Mar, Chile, 25 a 28/10/1998.
5. "Polímeros bioabsorvíveis usados como próteses meniscais" **(conferência)**; Cardoso, T.P.; Pezzin, A.P.T.; Alberto-Rincon, M.C.; Duek, E.A.R. and AmatuZZi, C.M.M.; Anais do 32º Congresso da Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia - SBOT 2000, Rio Centro - R.J., 01 a 04/11/2000.
6. "Aplicação de blendas de PLLA/PPD em prótese meniscal" **(poster)**; Costa, F.A.; Pezzin, A.P.T.; Alberto-Rincón, M.C.; Cardoso, P. e Duek, E.A.R.; Anais do Congresso de Iniciação Científica.
7. "Estudo *in vivo* de blenda polimérica como prótese de menisco bioabsorvível" **(poster)**; Pezzin, A.P.T.; Cardoso, T. P.; Alberto-Rincón, M.C.; Zavaglia, C.A.C. e Duek, E.A.R.; I Workshop de Biomateriais, Campinas – S.P., 21 e 22/06/1999.

Agradecimentos

Este trabalho foi possível devido à colaboração de diversas pessoas, às quais eu gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos:

À minha orientadora, Dra. Eliana, por me mostrar sempre os caminhos menos árduos, por me ensinar a ter mais confiança em mim mesma, pelas discussões intermináveis e principalmente pela amizade,

À minha co-orientadora, Dra. Cecília, pelo apoio nos momentos difíceis, pelo incentivo constante e pela amizade,

À Dra. Maria do Carmo, que me orientou no estudo *in vivo*, pela imensa dedicação em analisar comigo lâmina por lâmina e também pela amizade,

Ao Dr. Túlio, pela idéia de se fazer uma prótese de menisco bioreabsorvível e pela extrema dedicação em implantar as próteses nos coelhos,

Ao Prof. Dr. Gerrit ten Brinke, meu co-orientador da Holanda, que me deu oportunidade de fazer um estágio em seu laboratório,

**Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive.**

Fernando Pessoa

Ao meu marido, Sérgio, que me deu todo o apoio para que eu pudesse superar os momentos difíceis e concluir esta tese, pela compreensão e amor,

À minha querida Giulia, a nêpera plantada no dia do seu nascimento cresce a cada dia (em memória)

e ao tão esperado Luisinho, que já chuta a barriga da mamãe

Resumo

Nos últimos anos, os polímeros bioreabsorvíveis ganharam uma importância crescente na área médica, devido às suas características de bioreabsorção e biocompatibilidade. Com o intuito de se obter um material polimérico adequado para aplicação como prótese de menisco, estudou-se a obtenção e caracterização de blendas bioreabsorvíveis de poli(ácido L-láctico) (PLLA) e poli(*p*-dioxanona) (PPD) preparadas por evaporação de solvente e fusão. As blendas foram caracterizadas por calorimetria diferencial de varredura modulada (MDSC), microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia óptica (MO), ensaios mecânicos de tração, difração de raios-X, análise dinâmico-mecânica (DMA) e calorimetria diferencial de varredura (DSC). As análises térmicas indicaram que as blendas são imiscíveis, pois todas as composições apresentaram duas temperaturas de transição vítrea próximas dos polímeros puros. Foi observado por MEV e MO, uma maior homogeneidade nas composições 20/80 e 80/20, enquanto as blendas 40/60, 50/50 e 60/40 apresentaram uma nítida separação de fases. As blendas foram degradadas *in vitro* em solução tampão fosfato (pH = 7,4) a $37 \pm 0,5$ °C e analisadas por DSC, análise termogravimétrica (TGA) e MEV. Através do estudo *in vitro*, verificou-se que a PPD degrada mais rápido que o PLLA e que as blendas apresentam comportamento intermediário entre os homopolímeros, mostrando que é possível acelerar a degradação do PLLA através da adição de PPD à blenda. O estudo permitiu a escolha da blenda PPD/PLLA 80/20 como a mais adequada para o implante. Foi realizado um estudo *in vivo* em coelhos com a blenda porosa PPD/PLLA 80/20 com 3% de trietil citrato de sódio. Os coelhos foram submetidos a meniscectomia total do menisco medial e as próteses foram retiradas após 3, 6, 12, 14 e 15 semanas. O material foi observado por MO e MEV. O estudo *in vivo* mostrou que após 14 semanas foi possível observar fibrocartilagem, indicando que a blenda estudada apresenta grande potencial para ser utilizada para a aplicação em questão, já que o material favorece a formação de um neomenisco.

Palavras Chave

polímeros na medicina, materiais poliméricos, materiais biomédicos, biodegradação, mistura (Química), biocompatibilidade, Engenharia biomédica.

Abstract

In the last years, the bioreabsorbable polymers have been gained an increased importance in the medical field, due to its characteristics of bioreabsorbability and biocompatibility. In order to obtain a polymeric material adequated to be used as meniscus prosthesis, bioreabsorbable blends of poly (L-lactic acid) (PLLA) and poly-*p*-dioxanone (PPD) have been prepared by solvent casting and melting process. The blends were studied using modulated differential scanning calorimetry, scanning electron microscopy, optical microscopy, tensile tests, x-ray diffractometry, dinamical mechanical analysis and differential scanning calorimetry (DSC). Thermal analysis showed two glass transition temperatures nearly constant and equal to the pure polymers for all blend compositions, suggesting that both polymers are immiscible. The 20/80 and 80/20 blends presented better homogeneity, while 40/60, 50/50 and 60/40 compositions presented a clearly macroseparated system. Blends were immersed in tubes containing a phosphate buffer solution (pH = 7,4) in a thermally controlled bath of $37 \pm 1^\circ\text{C}$ and studied by DSC, thermogravimetric analisis (TGA) and scanning electron microscopy. It was observed by *in vitro* study that PLLA has a slower degradation rate than PPD and the blends presented an intermediated degradation rate, showing that is possible to vary the degradation rate of the blend changing its composition. The *in vitro* study was important to permit the choice of the 80/20 blend as the more adequated to implant. An *in vivo* study was performed in rabbits with the porous blend PPD/PLLA (80/20) containing 10 wt % of polymer and **3 wt % of sodium trietil citrate**. Meniscectomy was made in rabbits, and the prosthesis were retired after 3, 6, 12, 14 and 15 weeks intervals. The samples were observed by scanning electron microscopy and optical microscopy. The *in vivo* study showed that after 14 weeks it was possible to observe fibrocartilage, suggesting that this material has great potential to be used as meniscal prosthesis due to the induced formation of a meniscal replic.

KeyWords

Polymers in medicine, polymeric materials, biomedical materials, biomaterials, biodegradation, blends, biocompatibility, Biomedic engeneering.

Índice

Lista de Figuras	iv
Lista de Tabelas	ix
Nomenclatura	xi
1. Introdução	1
2. Teoria e Revisão da Literatura	4
2.1. Biomateriais	4
2.2. Poli(α -hidróxi ácidos)	5
2.3. Blendas Poliméricas	9
2.3.1. Métodos para Obtenção de Blendas Poliméricas	10
2.3.2. Blendas de Polímeros Bioreabsorvíveis	11
2.4. Menisco	13
3. Parte Experimental	21
3.1. Materiais	21
3.2. Preparação das blendas	22
3.2.1. Evaporação de solvente	22

3.2.2. Fusão	22
3.3. Caracterização das blendas	23
3.3.1. Caracterização das blendas obtidas por evaporação de solvente	23
3.3.1.1. Calorimetria diferencial de varredura modulada (MDSC)	23
3.3.1.2. Difratometria de raios-X	23
3.3.1.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	23
3.3.1.4. Microscopia óptica (MO)	24
3.3.1.5. Ensaio mecânico de tração	24
3.3.2. Caracterização das blendas obtidas por fusão	24
3.3.2.1. Análise dinâmico-mecânica (DMA)	24
3.3.2.2. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	25
3.3.2.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	25
3.4. Estudo <i>in vitro</i> das blendas obtidas por evaporação de solvente e fusão	25
3.4.2. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	26
3.4.3. Análise termogravimétrica (TGA)	26
3.4.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	26
3.5. Estudo <i>in vivo</i> das blendas	26
3.5.1. Preparação das próteses	27
3.5.2. Implantes	27
3.5.3. Procedimento histológico das amostras	29
3.5.3.1. Coloração e montagem permanente das lâminas	29
3.5.4. Procedimento para microscopia eletrônica de varredura	30
4. Resultados e Discussão	31
4.1. Blendas obtidas por evaporação de solvente	31
4.1.1. Calorimetria diferencial de varredura modulada (MDSC)	31
4.1.2. Difratometria de raios-X	35
4.1.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	37
4.1.4. Microscopia óptica (MO)	41
4.1.5. Ensaio mecânico de tração	46
4.2. Blendas obtidas por fusão	50
4.2.2.1. Análise dinâmico-mecânica (DMA)	50

4.2.2.2. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	52
4.2.2.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	55
4.3. Estudo <i>in vitro</i>	57
4.3.1. Blendas preparadas por evaporação de solvente	57
4.3.1.1. Calorimetria diferencial de varredura (MEV)	57
4.3.1.2. Análise termogravimétrica (TGA)	63
4.3.1.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	66
4.3.1.4. Documentação fotográfica das blendas obtidas por evaporação de solvente - estudo <i>in vitro</i>	69
4.3.2. Blendas preparadas por fusão	73
4.3.2.1. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	73
4.3.2.2. Análise termogravimétrica (TGA)	75
4.3.2.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	78
4.3.2.4. Documentação fotográfica das blendas obtidas por fusão - estudo <i>in vitro</i>	80
4.4. Estudo <i>in vivo</i>	84
4.4.1. Avaliação dos coelhos após o implante	86
4.4.2. Microscopia óptica (MO)	87
4.4.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	89
4.4.4. Documentação fotográfica do estudo <i>in vivo</i>	91
5. Conclusões	101
6. Referências Bibliográficas	102
Anexo I - Tabelas de DSC para as blendas PPD/PLLA obtidas por evaporação de solvente	117
Anexo II - Tabelas de DSC para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão	123

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura dos poli(α -hidróxi ácidos). PLA quando R = CH₃ e PGA quando R = H.

Figura 2. Hidrólise do poli(L - ácido láctico) através da cisão das ligações ésteres.

Figura 3. Esquema simplificado da degradação do poli(ácido láctico), poli(*para*-dioxanona) e poli(ácido glicólico).

Figura 4. Anatomia do menisco.

Figura 5. Técnicas de reconstrução do menisco. (a) apenas a periferia do menisco é vascularizada. (b) a junta da cápsula é aberta e uma lesão triangular é criada, estendendo-se até a zona avascular do menisco. (c) o defeito é expandido com um defeito longitudinal na zona avascular do menisco. (d) um polímero poroso é suturado dentro do defeito triangular sem suturá-lo na lesão longitudinal.

Figura 6. Câmara evaporadora para obtenção de filmes por evaporação de solvente.

Figura 7. Esquema de funcionamento da mini-injetora.

Figura 8. Foto da prótese de menisco em comparação com o menisco de coelho.

Figura 9. Procedimento cirúrgico mostrando a prótese sendo suturada no local do menisco do coelho.

Figura 10. Curvas de fluxo de calor total obtidas por MDSC para as blendas PPD/PLLA após o resfriamento rápido.

Figura 11. Curvas de fluxo de calor reversível obtidas por MDSC para as blendas PPD/PLLA após o resfriamento rápido.

Figura 12. Grau de cristalinidade (χ_c) do PLLA e da PPD em função da composição de PPD (X_{PPD}), calculados a partir do MDSC das blendas PPD/PLLA.

Figura 13. Difractogramas das blendas PPD/PLLA obtidas por evaporação de solvente.

Figura 14. Micrografias obtidas por MEV das superfícies das blendas de PPD/PLLA obtidas por evaporação de solvente.

Figura 15. Micrografias obtidas por MEV das superfícies de fraturas blendas de PPD/PLLA. 150 x.

Figura 16. Micrografias obtidas por MEV das superfícies de fraturas blendas de PPD/PLLA. 800 x.

Figura 17. Micrografias obtidas por MO com luz polarizada para os homopolímeros. (a) PLLA, (b) PPD.

Figura 18. Micrografias obtidas por MO com luz polarizada para as blendas PPD/PLLA. (a) (20/80), (b) (40/60).

Figura 19. Micrografias obtidas por MO com luz polarizada para as blendas PPD/PLLA. (a) (50/50), (b) (60/40), (c) 80/20.

Figura 20. Curvas de tensão x deformação das blendas PPD/PLLA obtidas através dos ensaios de tração.

Figura 21. Gráficos de (a) módulo de rigidez sob tração, (b) tensão na ruptura, (c) resistência à tração, (d) deformação na ruptura e (e) tenacidade, obtidos a partir do ensaio de tração para as blendas PPD/PLLA preparadas por evaporação de solvente.

Figura 22. DMA das blendas de PPD/PLLA obtidas por fusão. (a) Curvas de E'' x T (b) Curvas de E' x T.

Figura 23. Curvas de DSC para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão. (a) primeiro aquecimento, (b) segundo aquecimento.

Figura 24. Micrografias obtidas por MEV das blendas criofraturadas de PPD/PLLA. (a) 0/100, (b) 20/80, (c) 40/60, (d) 50/50, (e) 60/40, (f) 80/20, (g) 100/0.

Figura 25. Variação de (ΔH_m) do PLLA para as amostras de blendas PPD/PLLA obtidas por evaporação de solvente em função do tempo de degradação, determinados a partir de curvas de DSC (primeiro aquecimento).

Figura 26. T_m do PLLA para as amostras de blendas PPD/PLLA obtidas por evaporação de solvente em função do tempo de degradação, determinados a partir de curvas de DSC (primeiro aquecimento).

Figura 27. Curvas de DSC (segundo aquecimento), mostrando a cristalização do PLLA para a blenda PPD/PLLA (0/100) obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro*.

Figura 28. Curvas de DSC (primeiro aquecimento), mostrando a fusão da PPD para a blenda PPD/PLLA (80/20) obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro*.

Figure 29. Curva de fluxo de calor não reversível da PPD cristalizada a 75°C por 60 min obtida por MDSC.

Figura 30. Temperatura do início do estágio de perda de massa (T_i) do PLLA para as amostras de blendas PPD/PLLA preparadas por evaporação de solvente em função do tempo de degradação, determinadas a partir de termogramas de TGA.

Figura 31. Micrografias de MEV da blenda PPD/PLLA (100/0) obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro*: **a)** superfície superior $t = 0$ sem, **b)** superfície $t = 6$ sem, **c)** superfície de fratura $t = 6$ sem, **d)** superfície superior $t = 8$ sem.

Figura 32. Micrografias de MEV da superfície superior da blenda PPD/PLLA (0/100) obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro*. **a)** $t = 1$ sem, **b)** $t = 2$ sem, **c)** $t = 6$ sem, **d)** $t = 10$ sem.

Figura 33. Micrografias de MEV da superfície inferior das blendas PPD/PLLA obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro*: **a)** (20/80) $t = 4$ sem, **b)** 80/20 $t = 4$ sem, **c)** (20/80) $t = 6$ sem, **d)** (80/20) $t = 6$ sem, **e)** (20/80) $t = 8$ sem, **f)** (80/20) $t = 8$ sem, **g)** (20/80) $t = 12$ sem, **h)** (80/20) $t = 10$ sem.

Figura 34. Micrografia de MEV da superfície da blenda PPD/PLLA (50/50) obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro* ($t = 6$ sem).

Figura 35. Micrografias de MEV da superfície de fratura das blendas PPD/PLLA obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro*: **a)** 20/80 $t = 1$ s, **b)** 80/20 $t = 2$ s.

Figura 36. Curvas de DSC (segundo aquecimento) para a blenda PPD/PLLA (100/0) obtida por fusão e degradada *in vitro*.

Figura 37. T_m da PPD para as amostras de blendas PPD/PLLA sintetizadas por fusão em função do tempo de degradação, determinadas a partir de curvas de DSC (segundo aquecimento).

Figura 38. Curvas de TGA das blendas PPD/PLLA 0/100, 20/80, 50/50 e 100/0 obtidas por fusão e degradadas *in vitro*.

Figura 39. Temperatura do início do estágio de perda de massa (T_i) do PLLA e da PPD nas blendas preparadas por fusão em função do tempo de degradação.

Figura 40. Micrografias de MEV da superfície de fratura da blenda PPD/PLLA 0/100 obtida por fusão e degradadas *in vitro*: **a)** $t = 4$ sem, **b)** $t = 32$ sem, **c)** $t = 32$ sem.

Figura 41. Micrografias de MEV da blenda PPD/PLLA (100/0) obtida por fusão e degradada *in vitro*: **a)** $t = 8$ sem, **b)** $t = 8$ sem, **c)** $t = 10$ sem e **d)** $t = 10$ sem.

Figura 42. Micrografias de MEV da blenda PPD/PLLA (20/80) obtida por fusão e degradada *in vitro*: **a)** $t = 4$ sem, **b)** $t = 8$ sem, **c)** $t = 12$ sem, **d)** $t = 12$ sem, **e)** $t = 32$ sem.

Figura 43. Micrografias de MEV da blenda PPD/PLLA (50/50) obtida por fusão e degradada *in vitro*: **a)** $t = 4$ sem, **b)** $t = 10$ sem, **c)** $t = 12$ sem, **d)** $t = 15$ sem, **e)** $t = 32$ sem, **f)** $t = 32$ sem.

Figura 44. Micrografias de MEV da blenda PPD/PLLA 50/50 preparada por adição de sal com granulometria variando de 180 a 250 μm . **a)** superfície superior, **b)** superfície de fratura.

Figura 45. Micrografias de MEV da blenda PPD/PLLA (80/20) com 3 % de trietil citrato de sódio **a)** superfície inferior, **b)** superfície inferior, **c)** superfície de fratura **d)** superfície de fratura ampliada da parte porosa.

Figura 46. Micrografia de um corte transversal de menisco de coelho, mostrando os fibrocondrócitos, dispersos em uma matriz extracelular e o padrão de orientação das fibras de colágeno (setas). Tricrômico de Masson. 200 x.

Figura 47. Micrografias de um corte transversal de menisco de coelho, mostrando o padrão de orientação das fibras de colágeno. **a)** sem polarização, **b)** com polarização. Picosírius. 100 x.

Figura 48. Micrografia de um corte transversal da prótese (P) 3 semanas após o implante. Início do processo de degradação da prótese e invasão do tecido. Notar a presença de célula gigante de corpo estranho (seta). Tricrômico de Masson. 170 x.

Figura 49. Micrografia de um corte transversal da prótese 3 semanas após o implante. Observar a presença de esferulitos (E) referentes ao polímero degradado e fibras colágenas (laranja avermelhado). Com polarização. Picosírius. 170 x.

Figura 50. Micrografia de um corte transversal da prótese após 6 semanas. Observa-se intensa degradação do material e uma maior invasão tecidual. Tricrômico de Masson. 170 x.

Figura 51. Micrografia de um corte transversal da prótese após 6 semanas. Observa-se fragmentos do polímero mais dispersos, representado pelas regiões brilhantes na foto. Com polarização. Picosírius. 170 x.

Figura 52. Micrografia de um corte transversal da prótese (P) totalmente invadida por tecido conjuntivo após 12 semanas. Podemos verificar a presença de células gigantes de corpo estranho (setas). Tricrômico de Masson. 425 x.

Figura 53. Micrografia de um corte transversal da prótese após 12 semanas. Podemos verificar a presença de pequenos fragmentos do polímero. Com polarização. Picrosírius. 170 x.

Figura 54. Fotomicrografia de um corte transversal após 12 semanas onde se observa apenas a presença de fibrocartilagem. Tricrômico de Masson. 290 x.

Figura 55. Detalhe da figura anterior mostrando os fibrocondrócitos e as fibras colágenas coradas em azul, dispostas entre os mesmos. Notar que os fibrocondrócitos ainda não estão alinhados. 850 x.

Figura 56. Micrografia de um corte transversal após 14 semanas, mostrando fibrocartilagem com as fibras orientadas ao longo dos fibrocondrócitos (setas). Notar a existência já de poucos fragmentos brilhantes dos esferulitos da prótese (E). Tricrômico de Masson. 170 x.

Figura 57. Micrografia de um corte transversal após 14 semanas, mostrando fibrocartilagem com as fibras orientadas ao longo dos fibrocondrócitos. Picrosírius com polarização. 845 x.

Figura 58. Micrografia de MEV da prótese após 3 semanas de implante, mostrando o início do processo de degradação do polímero (seta).

Figura 59. Micrografia de MEV da prótese após 6 semanas de implante. Observa-se maior invasão de tecido.

Figura 60. Micrografia de MEV da prótese após 15 semanas, mostrando o tecido conjuntivo ocupando todo o espaço deixado pela prótese já degradada.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Estruturas dos principais poli(α -hidróxi ácidos).

Tabela 2. Blendas obtidas a partir de polímeros bioreabsorvíveis já investigadas.

Tabela 3. Valores de temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c), temperatura de fusão (T_m), entalpias de cristalização (ΔH_c) e entalpias de fusão (ΔH_m) das blendas PPD/PLLA determinados a partir das curvas de MDSC.

Tabela 4. Temperaturas de transição vítrea para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão, medidas por DMA.

Tabela 5. Dados de DSC para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão. Valores de T_m e ΔH_m obtidos do primeiro aquecimento.

Tabela 6. Dados de DSC para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão. Valores de T_m e ΔH_m , T_c e ΔT_c , obtidos do segundo aquecimento.

Tabela 7. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para os filmes de PPD/PLLA (0/100) preparados por evaporação de solvente.

Tabela 8. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para os filmes de PPD/PLLA 20/80 preparados por evaporação de solvente.

Tabela 9. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para os filmes de PPD/PLLA 50/50 preparados por evaporação de solvente.

Tabela 10. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para os filmes de PPD/PLLA 80/20 preparados por evaporação de solvente.

Tabela 11. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para os filmes de PPD/PLLA 80/20 3%p preparados por evaporação de solvente.

Tabela 12. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para os filmes de PPD/PLLA 100/0 preparados por evaporação de solvente.

Tabela 13. Dados determinados por TGA para as blendas PPD/PLLA obtidas por evaporação de solvente e degradadas *in vitro*.

Tabela 14. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para as blendas de PPD/PLLA (0/100) preparadas por fusão.

Tabela 15. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para as blendas de PPD/PLLA na composição 20/80 preparadas por fusão.

Tabela 16. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para as blendas de PPD/PLLA na composição 50/50 preparadas por fusão.

Tabela 17. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para as blendas de PPD/PLLA na composição 100/0 preparadas por fusão.

Tabela 18. Dados obtidos por TGA para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão.

Nomenclatura

Abreviações

PGA - poli(ácido glicólico)

PCL - poli(ϵ -caprolactona)

PPD - poli(*para*-dioxanona)

PLA - poli(ácido láctico)

T_m - temperatura de fusão

T_g - temperatura de transição vítrea

PLLA - poli(L-ácido láctico)

DSC - calorimetria diferencial de varredura

DMA - análise dinâmico-mecânica

E' - módulo de armazenamento

E'' - módulo de perda

PDLA - poli(D-ácido láctico)

PDLLA - poli(DL-ácido láctico)

PHB - poli(β -hidróxi butirato)

ΔH_m - entalpia de fusão

PEO - poli(óxido de etileno)

PLLA-co-PDLA – poli(L –ácido láctico) – co – poli(D-ácido láctico)

PLLA-co-PCL - poli(L –ácido láctico) – co – poli(caprolactona)

PLLA-co-PGA - poli(L –ácido láctico) – co – poli(ácido glicólico)

PDLA-co-PCL - poli(D-ácido láctico) – co - poli(caprolactona)

PHB-co-HV - poli(hidróxi butirato-co-hidróxi valerato)

PDLA-co-PGA - poli(D-ácido láctico) – co - poli(ácido glicólico)

MO - microscopia óptica

MW - massa molar ponderal média

HFIP - hexafluorisopropanol

MDSC - calorimetria diferencial de varredura modulada

MEV - microscopia eletrônica de varredura

TGA - análise termogravimétrica

T_c - temperatura de cristalização

ΔH_c - entalpia de cristalização

ΔH_m° - entalpia de fusão considerando o polímero 100% cristalino

χ_c = grau de cristalinidade

X_{PPD} - composição de PPD

T_i = temperatura onde se inicia o estágio de perda de massa “onset”, em TGA

T_d = temperatura onde a derivada da curva é máxima, em TGA

Capítulo 1

Introdução

O uso de materiais poliméricos em aplicações na área biomédica é um campo de pesquisa relativamente novo, em contínuo crescimento e para o qual profissionais de diversas áreas de conhecimento unem seus esforços para encontrar soluções de problemas previamente sem resposta. Como estes biomateriais, usados como dispositivos médicos, irão interagir com o sistema biológico, a pesquisa de novos materiais e aplicações exige uma abordagem multidisciplinar. Neste sentido, os químicos e engenheiros sintetizam e caracterizam os polímeros, levando em consideração a estrutura química requerida e as propriedades mecânicas; os cirurgiões implantam o material de uma maneira conveniente para a aplicação desejada e os histologistas avaliam as interações entre o tecido e o biomaterial. Para ser utilizado no corpo humano, o material deve ser compatível com o tecido ao redor e não deve provocar reações adversas.

Os poli(α -hidróxi ácidos) são considerados uma das famílias de polímeros mais atrativas e promissoras. Isto porque além de bioreabsorvíveis, eles são também biocompatíveis, podendo ser utilizados em diversas aplicações na área médica. Alguns exemplos desta classe de polímeros são: o poli(ácido glicólico) (PGA), a poli(ϵ -caprolactona) (PCL), a poli(*para*-dioxanona) (PPD) e o poli(ácido láctico) (PLA).

A presença das ligações ésteres tornam os poli(α -hidróxi ácidos) hidroliticamente instáveis, podendo ser degradados em contato com os fluidos corpóreos, resultando em produtos que são reabsorvidos pelo organismo fazendo parte do metabolismo de carboidratos.

Nos últimos anos, os polímeros bioreabsorvíveis ganharam uma importância crescente na área médica sendo utilizados em um amplo número de aplicações no corpo humano, tais como, suturas cirúrgicas, sistemas para liberação controlada de drogas, peles artificiais, guias para nervos, veias e artérias artificiais e dispositivos ortopédicos.

Geralmente, para os polímeros serem utilizados como biomateriais, é necessário satisfazer uma série de requisitos, os quais nem sempre são atendidos por um único polímero. Uma opção para o desenvolvimento de novos materiais é a obtenção de blendas poliméricas, as quais exibem combinações de propriedades muitas vezes superiores às dos componentes puros. Algumas características, como propriedades mecânicas e degradação podem ser modificadas através da escolha favorável do segundo componente.

Blendas de polímeros bioreabsorvíveis têm sido estudadas visando atender diversas aplicações na área médica. Um dos problemas até hoje não solucionados é a lesão de meniscos, que ocorre geralmente em pacientes jovens e muito ativos fisicamente, principalmente em prática desportiva. Normalmente, eles são vitimados por traumatismo, lesando seus meniscos de forma grave, que a única saída é a retirada integral do menisco (meniscectomia total). A meniscectomia causa alterações na articulação do joelho, devido à ocorrência de artrose degenerativa. Até hoje, não existe ainda à disposição nenhuma prótese adequada para substituição do menisco. Os primeiros experimentos e resultados clínicos descritos na literatura na tentativa de substituir o menisco, são, na sua maioria, pouco satisfatórios. Além disso, os transplantes meniscais enfrentam inúmeras dificuldades, que vão desde tamanhos inadequados entre doador e receptor, até as temidas infecções cruzadas.

Devido às suas características de bioreabsorção e biocompatibilidade, os polímeros bioreabsorvíveis possuem alto potencial para serem utilizados como prótese temporária de menisco. Estes materiais são excelentes substratos para cultura de células *in vitro*, os chamados “scaffolds”, servindo de molde para que o neotecido formado adquira o formato do substrato

desejado, ao mesmo tempo em que o polímero vai sendo degradado. Para isto, existe um tempo ótimo em que o polímero deve iniciar o seu processo de degradação. Como o PLLA demora muito tempo para degradar e a PPD degrada rápido demais, acredita-se que em determinadas composições, as blendas de PPD/PLLA apresentem propriedades adequadas para a aplicação em questão, pois variando-se a composição da blenda, é possível controlar a taxa de degradação do material.

Os objetivos deste trabalho foram investigar as propriedades térmicas, mecânicas e morfológicas de blendas de PPD/PLLA preparadas por evaporação de solvente e fusão, estudar a degradação *in vitro* destas blendas e selecionar um material com propriedades otimizadas para ser utilizado como prótese de menisco bioreabsorvível.

Capítulo 2

Teoria e Revisão da Literatura

2.1. Biomateriais

Os biomateriais fazem parte de uma área de pesquisa relativamente nova que surgiu com o avanço científico e tecnológico de novos materiais e da adaptação dos já existentes para uso médico/odontológico. Esta área envolve o trabalho interdisciplinar de pesquisadores de várias áreas afins, como médicos, dentistas, biólogos, engenheiros, químicos e físicos. A definição de biomateriais é um pouco complexa e vem sofrendo mudanças em função do avanço das pesquisas na área. A definição adotada em 1982 na NIH Consensus Development Conference é a de que *biomaterial* é qualquer substância ou combinação de substâncias, que não drogas, de natureza natural ou sintética, que pode ser usado por qualquer período de tempo, como um todo ou parte do sistema, para aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do corpo. A definição adotada na Consensus Conference of the European Society for Biomaterials, mais simplificada, é a de que *biomaterial* é todo material não vivo usado em dispositivo médico (ou biomédico), objetivando interação com o sistema biológico [WILLIAMS, 1987]. Para que um biomaterial possa ser implantado no corpo humano, ele deve satisfazer uma série de exigências. Além de biocompatível e biofuncional, deve ser atóxico, fácil de esterilizar e apresentar propriedades mecânicas adequadas, dependendo do propósito da aplicação [VERT et al., 1992]. Um material que apresente ótima *biocompatibilidade* não resulta em reações teciduais adversas. De um modo

geral, um material biocompatível não deve provocar reação inflamatória crônica ou aguda do tecido e não deve apresentar diferenças significativas entre o material implantado e o material circunvizinho. Entretanto, o conceito de biocompatibilidade também foi evoluindo com os anos e a definição mais aceita é a de que *biocompatibilidade* é a habilidade de um material para induzir no hospedeiro uma resposta adequada a uma aplicação específica [WILLIANS, 1987]. A biocompatibilidade inclui também outros fenômenos biológicos, tais como, a resposta imunológica, carcinogenicidade e trombogenicidade [VERT et al., 1992].

Um termo bastante utilizado para definirmos um biomaterial é a *biofuncionalidade*, que é a capacidade do material exercer a função proposta, como por exemplo, a de reparar um tecido ou a de fixar uma fratura, ou seja, a biofuncionalidade depende das propriedades físicas, mecânicas e biológicas [VERT et al., 1992]. Um biomaterial pode ser biocompatível e não ser funcional ao mesmo tempo. Desta forma, um biomaterial deve ser estudado e definido através desses dois parâmetros.

2.2. Poli (α -hidróxi ácidos)

Os poli(α -hidróxi ácidos) constituem uma classe de poliésteres representados pela fórmula geral $-(O-CHR-CO)-_n$ [VERT et al., 1992]. Estes polímeros possuem grande potencial em aplicações biomédicas, pois são *biocompatíveis* e *bioreabsorvíveis*. O termo bioreabsorvível é definido para polímeros sólidos que sofrem degradação, principalmente por hidrólise, através da cisão das ligações ésteres, formando produtos atóxicos, biocompatíveis, e que depois são reabsorvidos *in vivo* pelo organismo e eliminados por caminhos naturais após a sua metabolização. A bioreabsorção é um conceito que reflete a eliminação total do material estranho inicial e da degradação em produtos sem efeitos residuais [VERT et al., 1992]. O termo *bioabsorvível* é reservado para materiais poliméricos sólidos ou dispositivos médicos que podem se dissolver nos fluidos corpóreos sem qualquer clivagem da cadeia polimérica ou decréscimo da massa molar [VERT et al., 1992]. Alguns exemplos de polímeros bioreabsorvíveis, tais como, o poli(ácido láctico) (PLA), o poli(ácido glicólico) (PGA), o poli(β -hidróxi butirato) (PHB), a poli(ϵ -caprolactona) (PCL) e a poli(*para*-dioxanona) (PPD) são apresentados na **Tabela 1**. O PLA possui três estereoisômeros: poli(L-ácido láctico) (PLLA), poli(D – ácido láctico) (PDLA) e o poli(D, L- ácido láctico) (PDLLA). O PLA levógiro e dextrógiro são imagens especulares um

do outro, ambos opticamente puros e semi-cristalinos [VERT et al., 1992] [TSUJI et al., 1991], enquanto o PDLLA é racêmico e amorfo [TSUJI & IKADA, 1997].

Tabela 1. Estruturas dos principais poli(α -hidróxi ácidos).

Precusores	Polímeros	Sigla	Estrutura
Ácido glicólico	Poli(ácido glicólico)	PGA	$\text{-(O-CH}_2\text{-C(=O)-)}_n$
Ácido láctico	Poli(ácido láctico)	PLA	$\text{-(O-CH(CH}_3\text{)-C(=O)-)}_n$
ϵ -caprolactona	Poli(ϵ -caprolactona)	PCL	$\text{-(O-(CH}_2\text{)}_5\text{-C(=O)-)}_n$
β -butirolactona	Poli(hidróxi butirato)	PHB	$\text{-(O-CH(CH}_3\text{)-CH}_2\text{-C(=O)-)}_n$
1,4-dioxanona-2-ona	Poli(<i>p</i> -dioxanona)	PPD	$\text{-(O-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-CH}_2\text{-C(=O)-)}_n$

O primeiro polímero bioreabsorvível sintetizado foi o PGA [SCHMITT & POLISTINA, 1967] [FRAZZA & SCHMITT, 1971], o qual foi utilizado como a primeira sutura sintética totalmente bioreabsorvível, Dexon®. As suturas preparadas a partir de copolímeros do ácido glicólico com o ácido láctico mostraram melhores propriedades mecânicas e uma taxa de degradação maior (Vicryl®, polyglactin 910®) [SCHNEIDER, 1975] [KULKARNI et al, 1971] [WASSERMAN, 1971] [GILDING & REED, 1979]. Os poli(α -hidróxi ácidos), especialmente o PLA (Figura 1, R = CH₃) e o PGA (Figura 1, R = H) e seus polímeros de baixa massa molar (menor que 10.000 Da), podem ser sintetizados através da reação de poliesterificação direta do ácido láctico e glicólico, respectivamente [WISE et al, 1979]. Devido às suas pobres propriedades mecânicas, estes polímeros não possuem uma aplicação prática. Entretanto, eles podem ser usados como material de partida para a síntese de dímeros cíclicos (lactídeos e/ou

glicolídeos), através da polimerização por abertura de anel do correspondente mono ou diéster cíclico [GILDING & REED, 1979] [TROFIMOFF et al, 1987].

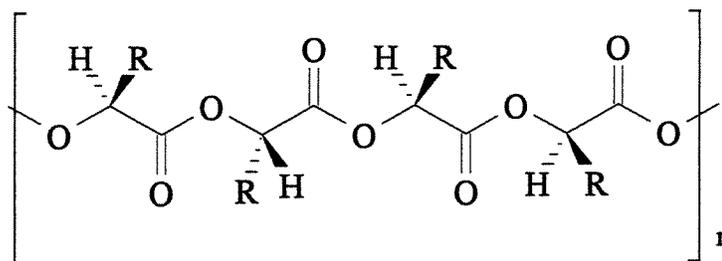


Figura 1. Estrutura dos poli(α -hidróxi ácidos). PLA quando R = CH₃ e PGA quando R = H.

A poli(*p*-dioxanona) (PPD) foi sintetizada em 1977 [DODDI et al, 1977] e é comercializada como sutura cirúrgica bioreabsorvível desde 1981, com o nome comercial de polidioxanone suture (PDS[®]). A T_g da PPD varia de -10 a 0°C, devido às ligações C-O-C, que conferem ao polímero maior mobilidade às cadeias e portanto, alto nível de flexibilidade.

A degradação dos poliésteres alifáticos e seus copolímeros foi investigada por vários autores, tanto *in vitro*, quanto *in vivo*. A degradação do PLA e PGA foi revisada por KOPECEK & ULBRICH, (1983), HOLLAND et al., (1986) e LEWIS, (1990).

Os poli(α -hidróxi ácidos) sofrem degradação principalmente por hidrólise, através da cisão das ligações ésteres, formando grupos terminais carboxila e hidroxila. A reação é representada na **Figura 2.**

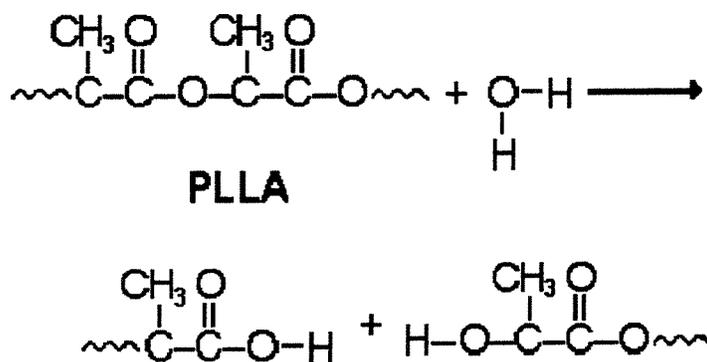


Figura 2. Hidrólise do poli(L-ácido láctico) através da cisão das ligações ésteres.

O ácido láctico, gerado pela degradação do poli(L-ácido láctico), é incorporado ao ciclo do ácido carboxílico e eliminado pelos pulmões como dióxido de carbono e água, como mostra a **Figura 3**. O PGA é também degradado através de esterases não específicas e carboxil peptidases, que produzem monômeros de ácido glicólico [CHU, 1981] [CHU & CAMPBELL, 1982]. As unidades monoméricas de ácido glicólico podem ser excretadas pela urina ou podem ser convertidas enzimaticamente para glioxalato, que reage com glicina transaminase. A glicina que é gerada pode ser usada na síntese da serina, a qual pode entrar no ciclo do ácido tricarboxílico depois da transformação para piruvato, como mostra a **Figura 3**.

Os produtos obtidos através da hidrólise da PPD são excretados pela urina e fezes e exalados como dióxido de carbono [RAY et al., 1981] (**Figura 3**). A completa absorção do polímero na forma de sutura ocorre entre 180 a 210 dias, acompanhada de uma reação mínima do tecido [RAY et al., 1981] [SHALABY, 1994].

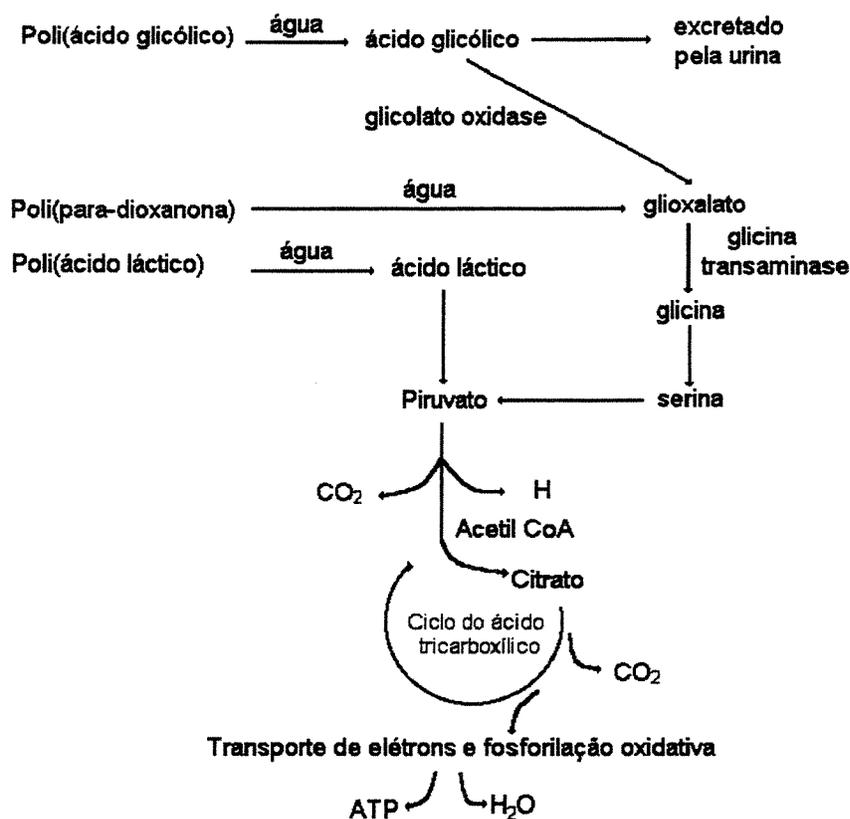


Figura 3. Esquema simplificado da degradação do poli(ácido láctico), poli(*para*-dioxanona) e poli(ácido glicólico). [HOLLINGER & BATTISTONE, 1986][BÖSTMAN, 1991].

2.3. Blendas Poliméricas

O crescente progresso científico e comercial na área de blendas poliméricas, a partir da década de 70, deve-se ao fato de que a produção de blendas pode ser realizada com maior rapidez que o desenvolvimento de novos polímeros [PAUL et al., 1989]. Uma das vantagens da mistura de polímeros diferentes é que podemos combinar também as suas propriedades, produzindo materiais para aplicações novas, nas quais os polímeros individuais não são adequados. Além da melhoria das propriedades mecânicas e físico-químicas, em alguns casos, a adição de um polímero a outro, resulta num material de melhor processabilidade e aparência final.

O termo *blendas poliméricas* é utilizado pela maioria dos autores para representar a mistura física de dois ou mais polímeros (ou copolímeros) [MANSON & SPERLING, 1976]. Segundo UTRACKI (1989), as blendas poliméricas podem ser classificadas em miscíveis ou imiscíveis. As blendas miscíveis apresentam-se homogêneas em escala molecular, enquanto que as imiscíveis apresentam-se em duas fases distintas. Estas últimas, podem ainda sofrer uma modificação na interface e/ou morfologia, tornando-se *blendas compatibilizadas* ou *ligas poliméricas*, as quais possuem propriedades mecânicas melhores.

Uma definição um pouco mais abrangente diz que as blendas miscíveis apresentam-se como uma única fase, onde os componentes estão intimamente misturados, uma única T_g , transparência. Em contrapartida, as blendas imiscíveis apresentam-se em duas fases distintas, cada uma correspondente aos componentes individuais (processo denominado de *separação de fases*), uma T_g para cada fase, opacidade e, quando não compatibilizadas, baixa dispersão e adesão interfacial, alta tensão interfacial e propriedades mecânicas insatisfatórias [PAUL & NEWMAN, 1978].

Na realidade, uma blenda miscível é uma solução de um polímero em outro, onde o polímero em menor concentração seria o soluto e o polímero em maior concentração seria o solvente. O termo *solubilidade*, porém, dificilmente é usado para se referir a uma blenda miscível pois no início das pesquisas na área de blendas, a maioria das blendas poliméricas eram consideradas imiscíveis, descartando-se este termo. As blendas poliméricas completamente miscíveis foram descobertas bem depois e só então passou-se a usar o termo *miscibilidade*. O

termo *compatibilidade* é mais abrangente que o termo *miscibilidade*, sendo mais adequado para representar blendas com as propriedades finais desejadas. Desta forma, uma mistura de polímeros pode não ser miscível e ser compatível ao mesmo tempo, ou seja, ela pode apresentar duas fases e possuir as propriedades finais adequadas ou desejadas para a aplicação em questão [HAGE, 1989].

2.3.1. Métodos para Obtenção de Blendas Poliméricas

As blendas poliméricas podem ser obtidas através dos seguintes processos:

a) por solução

- *evaporação de solvente* – processo no qual os polímeros são dissolvidos separadamente em um solvente comum. Após a completa dissolução, as duas soluções são misturadas e agitadas até a homogeneização. Membranas ou filmes densos são preparados através da evaporação lenta do solvente, podendo-se controlar a espessura dos filmes.

- *Coprecipitação* – processo em que os polímeros são dissolvidos separadamente em um solvente comum, são misturados e precipitados em um não solvente.

- *inversão de fases* – a técnica de inversão de fases úmida consiste em espalhar a solução polimérica em uma lâmina com um bastão e imergí-la em uma solução de não solvente, acarretando em uma separação de fases. Esta pode possuir estrutura esponjosa ou com cavidades em forma de dedos.

De preferência, o solvente deve ser o mesmo para ambos os polímeros. Porém, sistemas contendo mais do que um solvente também podem ser empregados, dependendo da necessidade de solubilidade dos componentes. O processo de evaporação de solvente é bastante importante, pois define a morfologia da blenda. Além disso, solventes residuais podem trazer prejuízos às propriedades mecânicas da blenda final.

b) mistura mecânica

- polímeros são misturados no estado fundido principalmente por um processo de extrusão (ou moldagem por injeção). Neste tipo de processo, deve-se encontrar as melhores condições de processamento de modo a não degradar o polímero, tais como, o controle da temperatura, da viscosidade e do projeto do equipamento. A principal diferença entre os processos de misturas mecânicas e por solução é o meio da mistura. Misturas mecânicas tem ar como meio, enquanto que por solução o meio é o solvente. A viscosidade do primeiro é reduzida por temperatura e pressão, enquanto que o último tem sua viscosidade reduzida pela interação entre o solvente e os componentes poliméricos.

- polímeros são misturados no estado amolecido utilizando-se extrusoras e moinhos de rolos. Moinhos de rolos são misturadores que possuem dois ou mais cilindros que giram em sentido contrário, promovendo alto cisalhamento. Neste caso, utiliza-se uma temperatura mais branda e alto cisalhamento para melhorar a eficiência da mistura.

2.3.2. Blendas de Polímeros Bioreabsorvíveis

Em relação às blendas poliméricas com componentes bioreabsorvíveis, pode-se distinguir dois tipos: blendas de polímeros bioreabsorvíveis e polímeros não bioreabsorvíveis e blendas de polímeros bioreabsorvíveis.

- **Blendas de polímeros bioreabsorvíveis e polímeros não bioreabsorvíveis.** Neste caso, a hidrofobicidade do polímero não degradável e a miscibilidade dos polímeros têm grande influência sobre as propriedades das blendas. Um exemplo de blenda não miscível com polímero não degradável é o sistema poli(ϵ -caprolactona)/polipropileno. Nesta blenda, o polímero não degradável se dispersa quando a fração do componente degradável é alta o suficiente. Uma situação diferente é quando o polímero não degradável é bastante hidrofílico ou quase solúvel em água. Um exemplo deste tipo é a blenda de poli(óxido de etileno) (PEO) com PLLA [NIJENHUIS et al, 1996].

• **Blendas de polímeros bioreabsorvíveis.** As características de degradação destas blendas não são necessariamente intermediárias entre as propriedades dos polímeros constituintes.

As blendas obtidas a partir de polímeros bioreabsorvíveis, que já foram estudadas, estão relacionadas na **Tabela 2**.

Tabela 2. Blendas obtidas a partir de polímeros bioreabsorvíveis já investigadas.

PLLA/PDLA	[IKADA et al., 1987][TSUJI et al., 1991] [TSUJI et al., 1991a] [TSUJI et al., 1991b] [TSUJI et al., 1992] [TSUJI et al., 1992b] [TSUJI & IKADA, 1993] [TSUJI & IKADA, 1994] [TSUJI et al., 1994] [TSUJI & IKADA, 1999]
PLLA-co-PDLA/PLLA-co-PDLA	[TSUJI & IKADA, 1992a]
PLLA/PDLLA	[TSUJI & IKADA, 1995] [TSUJI & IKADA, 1996b] [TSUJI & IKADA, 1997]
PLLA/PLLA-co-PCL	[CHA & PITT, 1990]
PLLA/PLLA-co-PGA	[CHA & PITT, 1990]
PLLA/PDLA-co-PCL	[DIJSTRA et al., 1991]
PLLA/PHB	[BLÜMM & OWEN, 1995]
PLLA/PHB-co-HV	[IANNANCE et al., 1994] [FERREIRA et al, 2001]
PLLA-co-PGA/PDLA-co-PGA	[TSUJI & IKADA, 1994]
PHB-co-HV/PCL	[DAVE et al., 1990]
PDLA/PHB-co-HV	[DAVE et al., 1990]
PDLLA/PCL	[ZHANG et al., 1995] [TSUJI & IKADA, 1996a] [DOMB, 1993]
PDLLA/PDLA	[TSUJI & IKADA, 1997]
PDLLA/PHB	[ZHANG et al., 1995] [ZHANG et al., 1996]
PHB/PHB-co-HV	[ORGAN, 1994] [SATO et al., 1994] [SCANDOLA et al., 1997]
PHB/PCL	[ZHANG et al., 1995] [GASSNER & OWEN, 1994] [YASIN & TIGHE, 1993] [KUMAGAI & DOI, 1992]

A mistura de polímeros bioreabsorvíveis pode ser usada para a obtenção de materiais com novas características de degradação [CHA & PITT, 1990] [SATO et al., 1994], propriedades físicas [TSUJI & IKADA, 1996] e mecânicas diferentes [ZHANG et al., 1996] [GAJRIA et al., 1996]. A revisão bibliográfica mostrou que o estudo de blendas bioreabsorvíveis foi muito pouco explorado até o momento. Existem muitos trabalhos sobre a blenda PLLA/PDLA, poucos trabalhos sobre as blendas de PLLA com outros polímeros e apenas três trabalhos envolvendo a hidrólise de blendas bioreabsorvíveis. Não foi encontrado na literatura nenhum estudo envolvendo a blenda PLLA/PPD, nem envolvendo o PPD com qualquer outro polímero. A maior parte dos trabalhos descritos na literatura é destinada, principalmente, ao estudo da miscibilidade do PLLA, PDLA e PHB com outros polímeros e copolímeros. O método de preparação das blendas, a composição das mesmas e a massa molar dos polímeros parecem influenciar bastante as propriedades finais, a taxa de degradação e a miscibilidade das blendas. Porém, a miscibilidade nem sempre é requerida quando um polímero bioreabsorvível é misturado com outro [BLÜMM & OWEN, 1995].

2.4. Menisco

O menisco é reconhecido como um componente integral da junta do joelho e a sua presença é importante para a função normal do mesmo [ZUKOR et al., 1990]. Ele é responsável pela distribuição da força sobre a área da tibia [KUROSAWA et al., 1980] [FUKABAYASHI & KUROSAWA, 1980], absorção de choques durante o carregamento dinâmico e lubrificação da junta [SCHOEMAKER & MARLKOLF, 1986] [FITHIAN et al., 1990]. No mínimo 50% da carga total imposta na junta do joelho é sustentada pelo menisco [RADIN et al., 1984] [ZUKOR et al., 1990].

Os meniscos dos joelhos são semilunares, fibrocartilagosos (**Figura 4**) e situam-se entre os côndilos femoral e o platô tibial. A superfície do menisco em contato com o côndilo femoral é côncava, enquanto que a superfície em contato com o platô tibial é ligeiramente convexa. O menisco medial é semicircular e é menor do que o menisco lateral circular [McDEVITT & WEBBER, 1990].

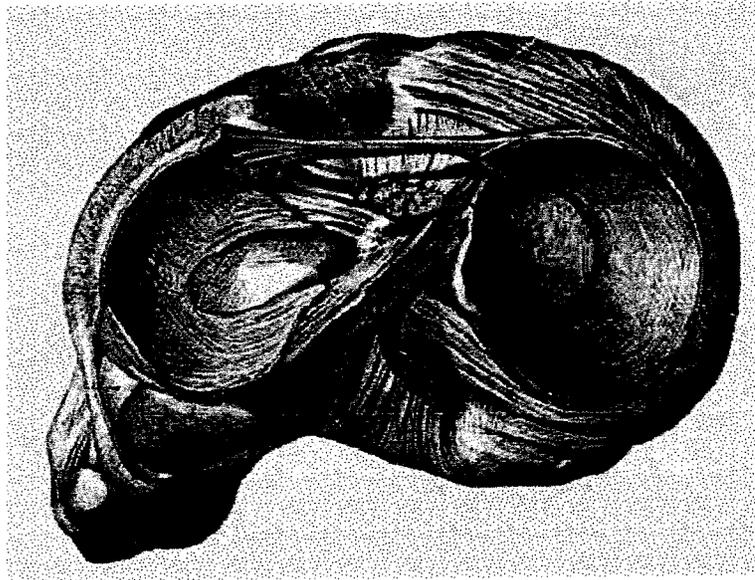


Figura 4. Anatomia do menisco [Carl Told, 1919].

O menisco é um tecido conjuntivo típico composto por relativamente poucas células, cercadas por uma matriz extracelular abundante. Ele é formado por fibras finas de colágeno, que são predominantemente circunferenciais em sua orientação [McDEVITT & WEBBER, 1990]. A matriz extracelular da cartilagem é sólida e firme, embora com alguma flexibilidade, sendo responsável pelas propriedades elásticas. Adapta-se bem à sustentação de peso, especialmente em pontos de movimento, como nas articulações sinoviais. A matriz é composta principalmente por colágeno, com menor quantidade de proteoglicanos, glicoproteínas e elastina. O colágeno é predominantemente do Tipo I, com pequenas quantidades do Tipo II, III e V. O colágeno do tipo I responde por 98% do colágeno do organismo, sendo essencial para proporcionar a resistência à tensão [McDEVITT & WEBBER, 1990].

A microanatomia do menisco é complexa e dependente da idade. A vascularidade do menisco aumenta do centro para a margem periférica, com alterações no arranjo entre as fibras de colágeno [McDEVITT & WEBBER, 1990]. As fibras colágenas são as principais e mais abundantes fibras nos ossos e na dentina, são flexíveis e têm grande força tênsil. Este tecido conjuntivo periférico liga o menisco à junta da cápsula e provavelmente leva o oxigênio e nutrientes para a porção interna do menisco. O restante, a porção mais visceral do menisco, é avascular, aneural e fibrocartilaginosa, consistindo de células (fibrocondrócitos) cercadas por

uma abundante matriz extracelular [McDEVITT & WEBBER, 1990]. Os fibrocondrócitos do menisco possuem potencial considerável para reparo ou regeneração de tecido [McDEVITT & WEBBER, 1990].

Os fibrocondrócitos sintetizam a matriz fibrocartilaginosa. A fibrocartilagem está presente nos meniscos das articulações dos joelhos e é considerada um tecido de transição, visto que possui propriedades estruturais e funcionais intermediárias entre o tecido conjuntivo fibroso denso e a cartilagem articular hialina [BENJAMIN & EVANS, 1990]. Geralmente, a presença de fibrocartilagem indica que naquele local o tecido precisa resistir à compressão e ao desgaste.

Os condrócitos articulares sintetizam sua própria matriz cartilaginosa hialina. Duas populações de fibrocondrócitos podem ser distinguidas e ambas se assemelham a condrócitos típicos. Os fibrocondrócitos da zona superficial (mais perto da superfície articular) são usualmente, mas não invariavelmente, ovais ou fusiformes com poucos processos celulares. Aqueles situados na zona profunda, que constituem a maioria da substância interna do menisco, tendem a ser mais arredondados [McDEVITT & WEBBER, 1990].

A matriz extracelular é arranjada de uma maneira tal que a distingue da cartilagem hialina. Nos locais onde os fibrocondrócitos estão em proximidade uns com os outros, a matriz parece conter apenas pequenas quantidades de fibras de colágeno e polieletrólitos, chamados proteoglicanos. Na maior parte da área, as fibras de colágeno se alinham em paralelo formando finas bandas de colágeno, que podem ser vistas tanto longitudinalmente ou através da sessão transversal. Embora a orientação preferencial das fibras de colágeno no menisco seja circunferencial, as fibras dispostas radialmente são encontradas tanto na zona superficial quanto na zona profunda [McDEVITT & WEBBER, 1990].

A resiliência da fibrocartilagem é devido às proteínas gigantes chamadas proteoglicanos, importantes na determinação das propriedades viscoelásticas da fibrocartilagem. A estrutura dos proteoglicanos pode conter grandes volumes de água, muitas vezes ultrapassando o próprio peso. Além disso, a água é presa em buracos da matriz extracelular, o que a torna o componente mais abundante, cerca de 70 % do peso total [PROCTOR et al., 1989]. A resiliência e as propriedades

viscoelásticas da fibrocartilagem é consequência direta das propriedades estruturais da água, enquanto as fibras colágenas são responsáveis pela resistência à tensão.

Embora o menisco possua propriedades mecânicas excelentes, a exposição a pressões ou tensões anormais pode exceder sua elasticidade e ocasionar lesões. Um número crescente de incidência de lesões no menisco, ocasionando a meniscectomia parcial e procedimentos de sutura, ocorrem principalmente devido ao excesso de atividades esportivas. Dado que o menisco possui uma estrutura complexa e é responsável por várias funções importantes, não é surpresa que ele não possa ser removido sem consequências.

As lesões no menisco e a meniscectomia predis põem ao desenvolvimento precoce de osteoartrite. FAIRBANK, (1948) foi o primeiro a observar mudanças degenerativas na junta do joelho após a meniscectomia [FAIRBANK, 1948]. Desde então, foi demonstrado muitas vezes que a remoção do menisco resulta em alta porcentagem de degeneração da cartilagem articular [JACKSON, 1968] [VETH, 1985] [MEDLAR et al., 1980] [ABDON et al., 1990]. Como o grau de degeneração é proporcional a parte removida do menisco, o método preferido é a meniscectomia parcial, preservando o máximo possível de tecido do menisco [KING, 1983]. Apesar dos resultados serem melhores, quando comparados à meniscectomia total, a meniscectomia parcial é associada com o desenvolvimento de mudanças degenerativas no joelho, visto que a osteoartrite não é prevenida [HOSHIKAWA, 1983].

Após a meniscectomia, a distribuição das forças no joelho é bastante alterada. A área de contato decresce, produzindo um aumento nas forças de contato entre os ossos, o que pode levar a uma osteoartrose precoce, artrite degenerativa e degeneração da cartilagem.

A base científica para as cirurgias de lesões de meniscos foi estabelecida por King em 1936, através de uma série de experimentos simples com meniscos de cães [KING, 1936]. Em 1980, Heatley, repetindo em coelhos os experimentos de King, mostrou que os meniscos danificados possuem um considerável potencial para a reparação [HEATLEY, 1980]. Entretanto, o tecido reparado não era fibrocartilagem, consistia de fibras colágenas dispersas e o conteúdo de proteoglicanos era menor do que o do menisco normal [GHOSH et al., 1983]. O reparo do menisco parece ser a melhor opção, visto que nesse caso todo o tecido do menisco é preservado.

Contudo, devido ao limitado suprimento de sangue do menisco, a cura é um problema. Apenas 10 a 20 % das lesões da parte externa vascularizada podem ser reparadas adequadamente, simplesmente suturando [HEATLEY, 1980]. Quando as lesões estão situadas na parte central avascular do menisco não existe nenhuma tendência para a cura e nenhum método cirúrgico disponível até o presente momento.

Hoje em dia existe quatro diferentes concepções para a substituição do menisco [MESSNER, 1994]:

- transplante de menisco alógeno
- transplante de menisco autógeno
- próteses sintéticas (permanentes)
- próteses bioreabsorvíveis (temporárias)

O transplante de menisco alógeno foi a primeira concepção testada clinicamente. Os primeiros estudos clínicos foram relatados no final da década de 80 [MILACHOWSKI et al., 1989]. Nesta época, este método cirúrgico começou a fazer parte da rotina de muitos atletas com lesões sérias no joelho. Porém, no transplante de menisco existe a possibilidade de transmissão de doenças infecciosas, que passou a ser um problema e que até hoje ainda não foi solucionado [MESSNER, 1994].

O transplante de menisco autógeno em ovelhas foi relatado na literatura recentemente [KOHN et al., 1992] [KOHN & WIRTH, 1989]. Este grupo utilizou primeiro um transplante a partir de um coxim gorduroso e mais tarde, o tendão da patela como substituto para o menisco medial.

Quanto às próteses sintéticas, existe uma série de experimentos descritos na literatura. Próteses permanentes de teflon® foram implantadas em cães entre os côndilos tibial e femoral, após a retirada do menisco lateral. Entretanto, mudanças degenerativas foram observadas no côndilo tibial 3 meses após o implante [TOYONAGA et al., 1983]. Estudos de próteses sintéticas a base de poliéster com fibra de carbono em coelhos foram relatados por WOOD et al., (1990). Um estudo mais aprofundado descreve o uso de uma prótese de Dacron® recoberta com

poliuretano em coelhos [SOMMERLATH & GILLQUIST, 1992]. Esta prótese parece proteger a cartilagem, porém, seu tamanho inadequado e as propriedades biomecânicas similares ao do joelho com meniscectomia, favoreceram a formação excessiva de osteófitos e sinovites crônicas. Osteófitos são uma neoformação óssea associada à degeneração articular (bico de papagaio). Além disso, ela não restabeleceu o comportamento de relaxação de carga de uma junta normal de joelho. Em uma série de experimentos em coelhos, o “design” e a construção da prótese foram alterados para melhorar o encaixe e as propriedades biomecânicas da mesma [SOMMERLATH & GILLQUIST, 1992] [SOMMERLATH et al., 1992] [SOMMERLATH & GILLQUIST, 1993a] [SOMMERLATH & GILLQUIST, 1993b]. Foram implantados em coelhos um compósito de Teflon-periosteal [MESSNER, 1994a]. Esta prótese apresentou propriedades mecânicas melhores e um “design” mais aproximado ao tecido do menisco normal do que a prótese de Dacron recoberta com poliuretano.

de GROOT et al., (1996) desenvolveram uma prótese porosa de poliuretano e implantaram em cães (**Figura 5**). Os autores salientam a importância de se utilizar um material com poros interconectados, para induzir o crescimento de tecido fibrocartilagenoso e reconstruir o menisco lesado. Entretanto, o agente de reticulação liberado na degradação, o glutaraldeído, é considerado tóxico e o tempo de indução da formação de fibrocartilagem é considerado muito alto, cerca de 20 semanas [ELEMA et al., 1990]. Em um trabalho mais recente foi produzido poliuretano sem o uso de solventes orgânicos, com porosidade controlada e boas propriedades mecânicas [SPAANS et al., 2000]. Outros materiais também foram testados para a mesma aplicação, envolvendo copolímeros de ϵ -caprolactona e L-lactídeo, que exibem boas propriedades mecânicas resultantes das sequências de poli(L- ácido láctico) [de GROOT et al., 1997].

O uso de próteses bioreabsorvíveis teve seu início bem mais recentemente, em 1992 [STONE et al., 1992]. O autor desenvolveu uma prótese a base de colágeno, sintetizada a partir do tecido do tendão de Achiles bovino e implantou em cães. Entretanto, essas próteses de colágeno apresentaram um tempo de degradação relativamente curto (cerca de 6 semanas).

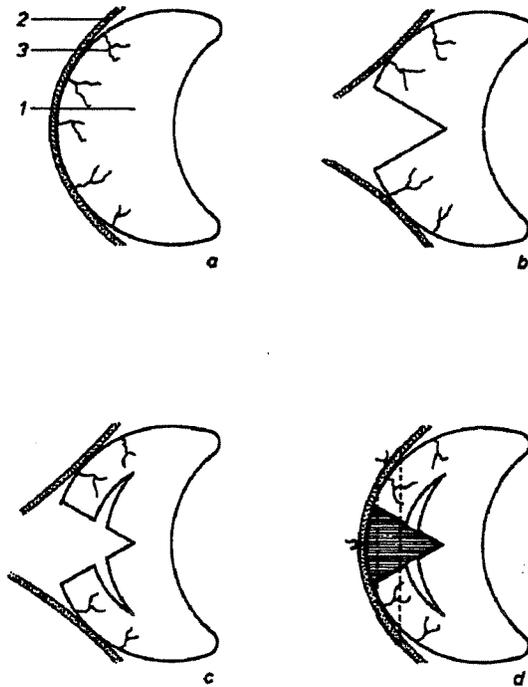


Figura 5. Técnicas de reconstrução do menisco. **(a)** apenas a periferia do menisco é vascularizada. **(b)** a junta da cápsula é aberta e uma lesão triangular é criada, estendendo-se até a zona avascular do menisco. **(c)** o defeito é expandido com um defeito longitudinal na zona avascular do menisco. **(d)** um polímero poroso é suturado dentro do defeito triangular sem suturá-lo na lesão longitudinal [de GROOT et al., 1996].

Os polímeros bioreabsorvíveis vêm ganhando crescente importância na área de Engenharia de Tecidos e transplante de células. Foi comprovado que o tecido cartilaginoso pode ser regenerado através de uma cultura de condrócitos em um substrato poroso de PGA [FREED et al., 1993a] [FREED et al., 1993b]. A cultura de condrócitos só é possível quando eles crescem em uma matriz tridimensional porosa, caso contrário eles se diferenciam em células com aparência de fibroblastos [YASUI et al., 1982] [KIMURA et al., 1986] [ARCHER et al., 1990]. A matriz serve também como substrato, no qual os condrócitos, dependentes de ancoragem podem se aderir [THOMSON et al., 1995].

Recentemente, foi obtido tecido de menisco através do uso de um substrato de um polímero bioreabsorvível, o poli(ácido glicólico) (PGA) e fibrocondrócitos de menisco isolados em cultura

[IBARRA et al., 1997]. Os fibrocondrócitos cresceram e se expandiram no substrato bioreabsorvível e ao serem implantados subcutaneamente em ratos, formaram, após algumas semanas, um tecido semelhante ao tecido do menisco. Os estudos biomecânicos e bioquímicos do tecido de menisco estão ainda sendo realizados. Os autores buscaram ainda, em sua pesquisa, sintetizar um menisco *in vitro* criado a partir da cultura das células do próprio paciente que vai sofrer meniscectomia total, com a forma e o tamanho exato que se encaixa no joelho do mesmo.

Uma comunicação bastante recente e muito semelhante com a idéia do nosso trabalho, envolveu o implante de um compósito bioreabsorvível à base de colágeno e polidioxanona em ovelhas [METAK et al., 1997]. A prótese foi implantada em 7 ovelhas e todos os animais foram sacrificados após 1 ano. O trabalho relata apenas que ocorreu a formação de um neomenisco, que comparado com o menisco normal, apresentou redução no volume e perda da resistência mecânica. Porém, nenhum resultado histológico foi apresentado.

Capítulo 3

Parte Experimental

Neste capítulo, será abordada a metodologia empregada ao longo do desenvolvimento deste trabalho, que envolve as etapas de obtenção de blendas PPD/PLLA por dois métodos distintos: evaporação de solvente e fusão, na forma de filmes e pinos, respectivamente. As amostras foram caracterizadas quanto à morfologia, propriedades térmicas e mecânicas. Realizou-se um estudo *in vitro* das blendas, no qual as amostras foram degradadas em tampão fosfato e avaliadas por métodos de análise térmica e morfológica. Foi desenvolvida uma prótese de menisco e a mesma foi implantada em coelhos, podendo-se avaliar a interação prótese/tecido por histologia e microscopia eletrônica de varredura.

3.1. Materiais

Os polímeros utilizados neste trabalho foram o poli(L-ácido láctico) (PLLA) de massa molar ponderal média (MW = 100.000 Da) (Medisorb - Dupont) e a poli(*p*-dioxanona) (PPD), obtida na forma de sutura violeta (Ethicon, Inc). O corante foi previamente extraído em cloreto de metileno (Synth) com agitação à temperatura ambiente por cerca de 24 horas. O hexafluoroisopropanol (HFIP) foi fornecido pela Aldrich.

3.2. Preparação das blendas

3.2.1. Evaporação de solvente

Foram preparadas blendas PPD/PLLA por evaporação de solvente a temperatura ambiente nas composições (0/100), (20/80), (40/60), (50/50), (60/40), (80/20) e (100/0) % (m/m). O PLLA e a PPD foram dissolvidos separadamente em HFIP para formar soluções 10 % (m/v), que foram mantidas em agitador magnético por 2 horas, até completa homogeneização. As soluções foram misturadas e as misturas foram vertidas em um molde de vidro (50x30x5 mm) e colocadas em uma câmara para evaporação do solvente por 24 horas, com fluxo constante de ar seco, como mostrado na **Figura 6**. Os filmes foram secos em uma estufa à vácuo a 60°C durante 24 horas e armazenados em um dessecador, obtendo-se amostras com a mesma dimensão do molde.

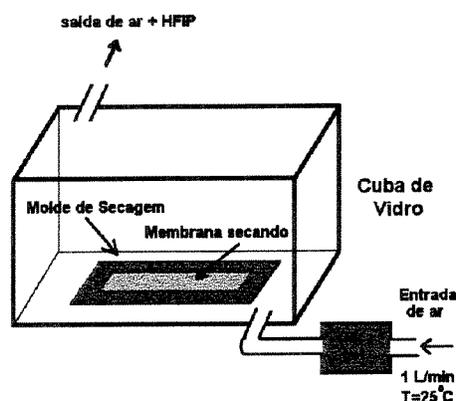


Figura 6. Câmara evaporadora para obtenção de filmes por evaporação de solvente [LUCIANO, 1997].

3.2.2. Fusão

Foram preparadas blendas PPD/PLLA por fusão nas composições (0/100), (20/80), (40/60), (50/50), (60/40), (80/20) e (100/0) % (m/m), obtendo-se pinos com 3,1 cm de diâmetro e 9 cm de comprimento, utilizando-se uma mini-injetora modelo LMM-2017 (**Figura 7**). As amostras foram colocadas na panela da mini-injetora, e deixadas 1 min na temperatura de injeção, seguido de 1,5 min sob taxa de cisalhamento constante (120 rpm). A temperatura da panela foi mantida em 210 °C e a temperatura da camisa de aquecimento do molde foi mantida em 120°C.

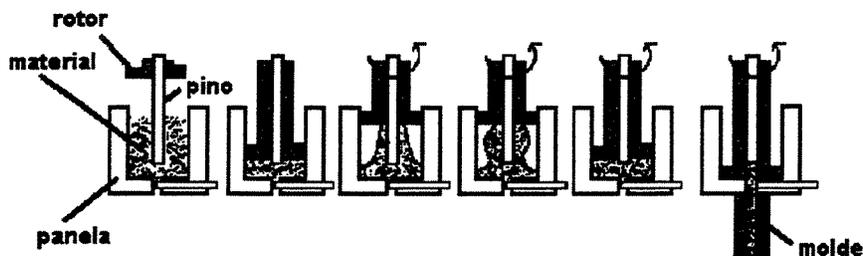


Figura 7. Esquema de funcionamento da mini-injetora.

3.3. Caracterização das blendas

3.3.1. Caracterização das blendas obtidas por evaporação de solvente

3.3.1.1. Calorimetria diferencial de varredura modulada (MDSC)

As medidas no MDSC foram feitas no equipamento modelo 2920 da TA Instruments. Amostras pesando de 3-5 mg foram seladas em panelas de alumínio e mantidas por 1 min a 200°C. Em seguida, elas foram resfriadas rapidamente em nitrogênio líquido e introduzidas no forno a - 40°C para melhorar a visualização das temperaturas de transição vítrea. As medidas foram tomadas no intervalo de temperatura de - 40 a 190°C, com taxa de aquecimento de 1°C.min⁻¹. A amplitude e o período de oscilação utilizados foram de 0,5°C e 60 s, respectivamente.

3.3.1.2. Difratometria de raios-X

Os difratogramas de raios-X foram obtidos pelo Difrátômetro Rigaku Geigerflex com fonte de radiação CuK_α. Os ângulos de varredura utilizados foram de 15 – 30 °. A velocidade de corrida foi de 2°C.min⁻¹ e o fundo de escala foi 500 cps.

3.3.1.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os fragmentos da superfície superior dos filmes e a superfície de fratura dos mesmos (fraturadas em N₂ líquido), foram fixados em um suporte metálico e recobertos com uma fina

camada de ouro, utilizando-se um metalizador de amostras BAL-TEC SCD 050. Os fragmentos foram observados ao MEV JEOL JXA 860A, sob tensão de 10 a 20 kV.

3.3.1.4. Microscopia óptica (MO)

Filmes com cerca de 40 μm de espessura foram prensados, a partir do fundido a 200°C por 1 min e a 34 $\text{kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ e colocados entre duas laminulas. Antes de cristalizadas, as amostras foram primeiramente aquecidas a 200 °C por 1 min e resfriadas até a temperatura de cristalização desejada, $T_c = 130^\circ\text{C}$ para o PLLA e $T_c = 65^\circ\text{C}$ para a PPD. Nas blendas, a isoterma de cristalização do PLLA foi mantida por 10 a 15 minutos e a isoterma de cristalização da PPD foi mantida até que todo o espaço fosse preenchido com os esferulitos. Um Microscópio Zeiss Axiophot com luz polarizada, equipado com controle de aquecimento, foi utilizado para visualizar as morfologias. Foram tiradas micrografias das amostras e as morfologias resultantes foram estudadas em função da composição da blenda.

3.3.1.5. Ensaio mecânicos de tração

As blendas PPD/PLLA nas composições (0/100), (20/80), (50/50), (80/20) e (100/0) % (m/m) com cerca de 40 mm de comprimento, 2,0 mm de largura e 0,20 mm de espessura foram submetidas a ensaios de tração em um sistema automático de testes de materiais da Instron Corporation, Série IX, modelo 1.09, célula de carga de 100 N e velocidade de 10 $\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$ utilizando norma ASTM D882-75. Cada amostra foi submetida a 5 ensaios nas mesmas condições de umidade (50%) e temperatura (22 °C).

3.3.2. Caracterização das blendas obtidas por fusão

3.3.2.1. Análise dinâmico mecânica (DMA)

As blendas foram analisadas por DMA, através de ensaios de flexão em três pontos, ao ar, em um equipamento Netzsch DMA 242. As amostras foram apoiadas sob duas extremidades, enquanto que a extremidade chanfrada da haste aplicava uma carga na amostra em sua região central superior. O espaçamento entre as duas extremidades está de acordo com a norma DIN

53457. Pinos com diâmetro 3,1 mm e comprimento 4,0 mm foram submetidos à deformação senoidal de 240 μm de amplitude, frequência de 10.000 Hz na faixa de temperatura de -50 a 200°C a uma taxa de aquecimento de 5°C.min⁻¹.

3.3.2.2. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As medidas de DSC foram realizadas em um equipamento Netzsch STA 409C sob fluxo de hélio. Amostras pesando de 6 a 11 mg foram seladas em painéis de alumínio e aquecidas de 25 a 200°C a uma taxa de aquecimento de 5°C.min⁻¹ (primeiro aquecimento) e mantidas a esta temperatura por 2 min. Subsequentemente, elas foram resfriadas a -30°C a uma taxa de 10°C.min⁻¹ e mantidas a esta temperatura por 2 min. As blendas cristalizadas foram aquecidas a 200°C a uma taxa de aquecimento de 5°C.min⁻¹ (segundo aquecimento).

3.3.2.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As superfícies de fratura das blendas foram observadas por MEV em um equipamento JEOL JXA 860A. Todas as amostras foram fraturadas em nitrogênio líquido e cobertas com uma fina camada de ouro através de um equipamento BAL-TEC SCD 050.

3.4. Estudo *in vitro* das blendas obtidas por evaporação de solvente e fusão

As amostras das blendas PPD/PLLA obtidas por evaporação de solvente nas composições (0/100), (20/80), (50/50), (80/20) e (80/20) % (m/m), foram imersas em tubos de ensaios com tampa rosqueada, previamente esterilizados com álcool 70% contendo solução tampão fosfato pH 7,4 a 37 \pm 1°C, sendo retiradas após 1, 2, 4, 6, 8 e 10 semanas. O mesmo procedimento foi realizado com as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão nas composições 0/100, 20/80, 50/50 e 100/0, sendo retiradas após 2, 4, 8, 10, 12, 15 e 32 semanas. Após tempos determinados, as amostras foram lavadas com água, secas à vácuo e submetidas às técnicas de caracterização citadas a seguir. À blenda PPD/PLLA 80/20, selecionada para o estudo *in vivo*, adicionou-se 3 % de trietil citrato de sódio (80/20 3%p), e a mesma foi submetida ao estudo *in vitro* nas mesmas condições citadas acima.

3.4.1. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As curvas de DSC foram feitas no STA 409C (NETZSCH). As amostras, pesando em torno de 10 mg, foram aquecidas utilizando o programa:

aquecimento de 20 a 200 °C a 10 °C.min⁻¹

isoterma de 2 min em 200 °C

resfriamento de 200 a 0 °C a 20 °C.min⁻¹

isoterma de 2 min em 0 °C

aquecimento de 0 a 200 °C a 10 °C.min⁻¹

3.4.2. Análise termogravimétrica (TGA)

As amostras dos filmes, pesando cerca de 20 mg foram aquecidas de 25 a 450°C a 10 °C.min⁻¹ sob atmosfera de hélio, utilizando-se o equipamento STA 409C (NETZSCH).

3.4.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os fragmentos da superfície superior das membranas e a superfície de fratura das mesmas (fraturadas em N₂ líquido), foram fixados um suporte metálico e recobertos com uma fina camada de ouro, utilizando-se um metalizador de amostras BAL-TEC SCD 050. Os fragmentos foram observados ao microscópio eletrônico de varredura JEOL JXA 860A, sob tensão de 10 a 20 kV.

3.5. Estudo *in vivo* das blendas

Com base na literatura [de GROOT et al., 1996], uma das características para aplicação em prótese de menisco, é que a prótese deve apresentar poros interconectados para permitir o crescimento do tecido. Baseando-se em trabalhos desenvolvidos pelo grupo, obteve-se próteses porosas por dois métodos, por adição de citrato de sódio (sal) [BARBANTI, 2001] e por adição de trietil citrato de sódio (plastificante) [LUCIANO, 1997].

3.5.1. Preparação das próteses

O filme de PPD/PLLA (50/50) 10 % (m/V) com 27% de citrato de sódio (sal) foi sintetizado por evaporação de solvente como descrito na sessão 3.2.1. Após a homogeneização, adicionou-se o sal peneirado (180 a 250 μm) e agitou-se por mais 30 minutos. A solução foi vertida em um molde de vidro e colocada em uma câmara para evaporação de solvente por 24 horas, com fluxo constante de ar seco. O filme foi deixado em água destilada deionizada por 48 horas (trocada de 6 em 6 horas) para solubilizar o sal. Em seguida, os filmes foram secos em estufa à vácuo a 60 °C durante 24 horas e armazenados em um dessecador. Filmes da blenda PPD/PLLA (80/20) 10% (m/V) com 3 e 5 % de trietil citrato de sódio 99% (Aldrich) foram obtidos por evaporação de solvente foram preparadas como descrito na sessão 3.2.1. O plastificante foi adicionado após a homogeneização e a solução foi agitada por mais 1 hora. A solução final foi vertida em um molde e colocada em uma câmara para evaporação de solvente por 24 horas, com fluxo constante de ar seco. Posteriormente, os filmes foram secos em estufa à vácuo a 60 °C durante 24 horas e armazenados em um dessecador.

3.5.2. Implantes

As próteses selecionadas para o implante, 80/20 3%p, foram cortadas no formato do menisco, com o auxílio de uma punção, conforme **Figura 8** e esterilizadas com óxido de etileno.

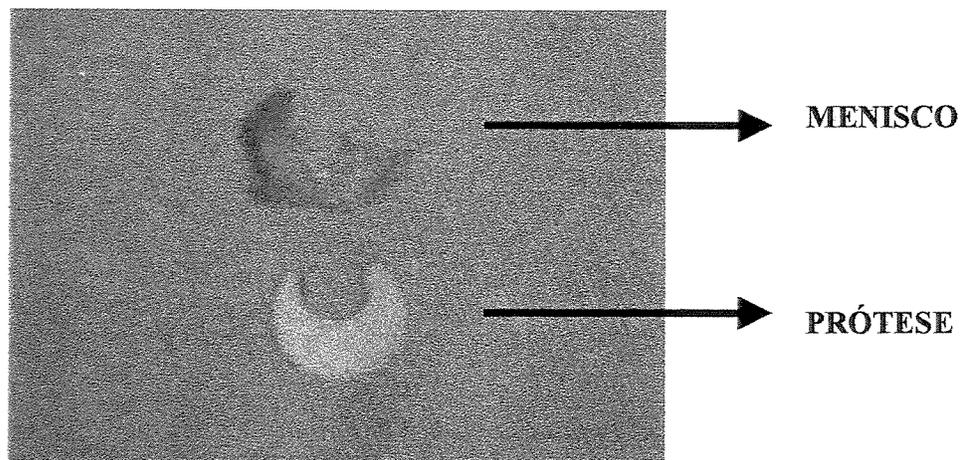


Figura 8. Foto da prótese de menisco em comparação com o menisco de coelho.

Neste trabalho, foram utilizados 36 coelhos brancos da raça New Zeland, de ambos os sexos, com idade entre 5 a 7 meses e pesando de 2 a 4 kg, sendo que dois coelhos foram utilizados para o estudo piloto e 34 coelhos para o estudo *in vivo*. Esses animais permaneceram no biotério, recebendo ração comercial e água *ad libitum*, durante todo período de implante.

O material cirúrgico foi esterilizado em autoclave a 120°C. Os coelhos foram submetidos à menissectomia total do menisco medial, por incisão parapatelar medial e artrotomia, sendo que em um dos joelhos foi implantada a prótese do polímero e o outro, sem implante, serviu como controle. A **Figura 9** ilustra o procedimento cirúrgico, mostrando a prótese sendo suturada no local do menisco. Antes da cirurgia, os animais permaneceram em jejum durante doze horas e foram anestesiados com uma injeção intramuscular de uma mistura de drogas: atropina/quetamina 5%/xilazina 2% na razão de 30/3/0,2 mg/kg. Foram realizadas tricotomias na região do implante e, seguida à implantação, os cortes foram suturados e foi feita aplicação de álcool iodado no local para a prevenção de infecções.



Figura 9. Procedimento cirúrgico mostrando a prótese sendo suturada no local do menisco do coelho.

Os coelhos receberam uma dose de antibiótico e foram acondicionados soltos dentro de gaiolas individuais. Foram feitas observações diárias para avaliação de suas condições de saúde e

comportamento. Os coelhos foram novamente anestesiados e passaram por uma nova tricotomia no joelho. Foram recolhidos de todos os coelhos, as próteses juntamente com o tecido ao redor delas, os cêndilos femorais controle (ao lado onde foi realizada a remoção do menisco), amostras dos meniscos e dos cêndilos femorais normais (em contato com o menisco). Os materiais foram submetidos à análise histológica por microscopia óptica.

3.5.3. Procedimento histológico das amostras

As amostras foram preparadas para a análise histológica de acordo com a técnica utilizada para microscopia óptica, utilizando parafina líquida como meio de embebição [MICHELANY, 1980].

Os animais para o estudo piloto foram sacrificados após 2 e 4 semanas, enquanto os animais para o estudo *in vivo*, divididos em grupos, foram sacrificados após 3, 6, 12, 14 e 15 semanas de implante.

As amostras foram fixadas em solução de Bouin por 24 horas à temperatura ambiente. Após a fixação, as amostras foram lavadas, desidratadas em uma bateria de álcoois, diafanizadas em xilol e embebidas em parafina líquida à temperatura ambiente. Cortes histológicos foram realizados com 5 µm de espessura e recolhidos em lâminas recobertas com albumina.

3.5.3.1. Coloração e montagem permanente das lâminas

Para se proceder à coloração dos tecidos, os cortes foram desparafinizados em xilol, hidratados em uma bateria de álcoois e corados por dois métodos distintos: Tricrômico de Masson e Picrosírius, descritos a seguir:

a) coloração com Tricrômico de Masson

Esta técnica consiste em utilizar 3 corantes distintos, que permitem distinguir nitidamente entre o núcleo (corado pela hematoxilina, corante básico que cora os compostos aniônicos – ex: ácidos nucleicos), o citoplasma celular (corado pela eosina ou fucsina, corante ácido, que cora os

compostos catiônicos), mas também entre a célula e a matriz extracelular através do terceiro corante (azul de anilina), que tem uma tonalidade azul.

b) coloração com picrosírius

Esta técnica de coloração permite a observação dos componentes tissulares ao Microscópio óptico com luz polarizada, pois o corante se impregna em estruturas repetitivas, como o colágeno, provocando um brilho intenso quando submetidos à luz polarizada.

Em seguida, as amostras foram desidratadas em uma bateria de álcoois, diafanizadas em xilol e os cortes foram montados entre lâmina e lamínula.

3.5.4. Procedimento para microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Primeiramente, o material foi fixado em solução de glutaraldeído a 2%, paraformaldeído a 2% e ácido tânico a 0,5% em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,3) por 16 horas. Logo após a fixação, o material foi preparado para análise de acordo com o seguinte esquema:

1. Lavagem em água destilada à temperatura ambiente por 30 minutos (3 trocas de 10 min.).
2. Pós-fixação em tetróxido de ósmio a 1% por 2 horas a 4°C.
3. Lavagem em água destilada por 45 minutos (3 trocas de 15 min.).
4. Desidratação: etanol a 50%; etanol a 70%; etanol a 80%; etanol a 95% e etanol a 100%.
5. Criofratura em nitrogênio líquido com lâmina de bisturi, após 20 minutos de incubação.
6. Desidratação: etanol a 100% por 30 minutos (2 trocas de 15 min.).
7. Obtenção do Ponto Crítico.
8. Colagem do material em suporte metálico.
9. Cobertura do material com ouro.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

4.1. Blendas obtidas por evaporação de solvente

4.1.1. Calorimetria diferencial de varredura modulada (MDSC)

O MDSC nos dá informações sobre o fluxo de calor total, fluxo de calor reversível e fluxo de calor irreversível, sendo possível, desta forma, observar eventos que poderiam estar sendo mascarados caso utilizássemos a técnica de DSC convencional. A T_g , por exemplo, é uma transição reversível que aparece nas curvas de fluxo de calor total e calor reversível, mas não aparece na curva de fluxo de calor irreversível. Como o sinal da T_g é mais nítido nas curvas de fluxo de calor reversível, as temperaturas de transição vítrea são determinadas através destas curvas [READING et al., 1994]. Conforme relatado na Parte Experimental, todas as amostras foram submetidas a um tratamento térmico para melhorar a detecção das temperaturas de transição vítrea. As curvas obtidas por MDSC de fluxo de calor total e fluxo de calor reversível para os diferentes pares de blendas e homopolímeros, após o resfriamento, são apresentadas, respectivamente, nas **Figuras 10 e 11**. Estas curvas mostram que os homopolímeros e as blendas apresentam picos de fusão, picos de cristalização e temperaturas de transição vítrea, comportamento típico de polímeros semi-cristalinos.

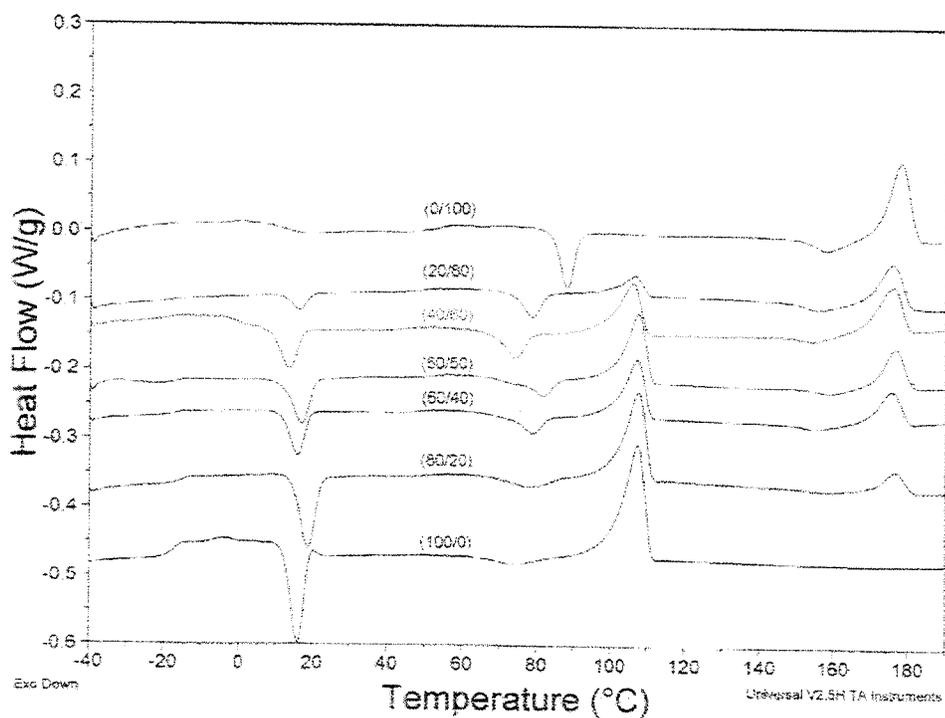


Figura 10. Curvas de fluxo de calor total obtidas por MDSC para as diferentes composições das blendas PPD/PLLA após o resfriamento rápido.

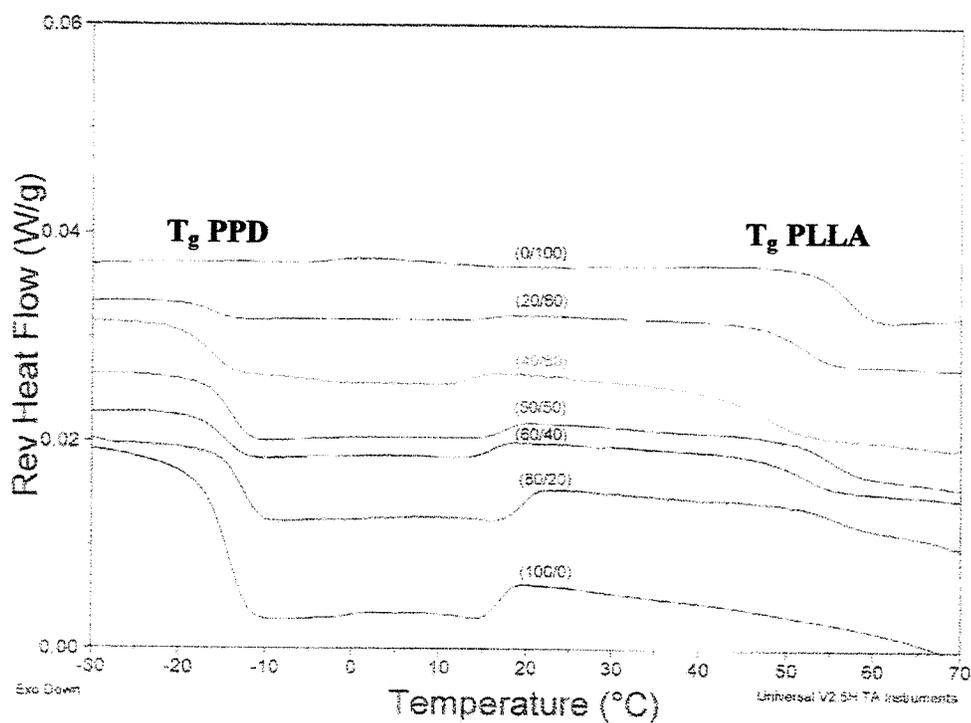


Figura 11. Curvas de fluxo de calor reversível obtidas por MDSC para as diferentes composições das blendas PPD/PLLA após o resfriamento rápido.

Os valores de temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c), temperatura de fusão (T_m), entalpias de cristalização (ΔH_c) e entalpias de fusão (ΔH_m) das blendas PPD/PLLA, determinados a partir das curvas de MDSC estão sumarizados na **Tabela 3**. Os valores de T_m e T_c foram obtidos a partir das temperaturas dos picos de fusão e cristalização, respectivamente.

Tabela 3. Valores de temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c), temperatura de fusão (T_m), entalpias de cristalização (ΔH_c) e entalpias de fusão (ΔH_m) das blendas PPD/PLLA determinados a partir das curvas de MDSC.

blendas PPD/PLLA	T_g	T_c	ΔH_c	T_m	ΔH_m	T_g	T_c	ΔH_c	T_m	ΔH_m
	PPD (°C)	PPD (°C)	PPD (J/g)	PPD (°C)	PPD (J/g)	PLLA (°C)	PLLA (°C)	PLLA (J/g)	PLLA (°C)	PLLA (J/g)
0/100	-	-	-	-	-	57	88	26	178	49
20/80	-16	16	34	106	71	52	79	17	176	38
40/60	-16	14	48	106	89	48	74	30	176	54
50/50	-14	17	46	107	87	55	82	27	176	51
60/40	-15	16	32	107	64	52	79	31	175	56
80/20	-13	19	40	108	75	56	79	37	177	54
100/0	-14	16	36	108	79	-	-	-	-	-

As curvas de MDSC mostram T_g igual a -14 e 57 °C para a PPD e o PLLA, respectivamente. Duas T_g 's distintas, praticamente constantes e iguais aos homopolímeros podem ser verificadas para todas as composições de blendas (**Tabela 3**), sugerindo a imiscibilidade do sistema. Outro fator que indica a imiscibilidade de um sistema é o fato dos valores de T_m não variarem em função da composição da blenda, como mostra a **Figura 10**. Observa-se dois picos endotérmicos, em 108 e 178 °C, devido à fusão das fases cristalinas da PPD e do PLLA, respectivamente.

Estudos de blendas PHB/PDLLA, PHB-HV/PLLA e PDLLA/PCL também apresentaram duas temperaturas de transição vítrea próximas dos homopolímeros e valores de T_m constantes para as composições estudadas, indicando a imiscibilidade dos sistemas [ZHANG et al., 1996] [DAVE et al., 1990] [TSUJI & IKADA, 1996a].

A T_c da PPD é constante para todas as composições de blendas, enquanto que a T_c do PLLA é dependente da composição (Tabela 3). Podemos observar que a T_c do PLLA puro é maior que a T_c do PLLA nas blendas. Este resultado indica que a PPD interfere na cristalização do PLLA nas blendas. Isto pode ser explicado pelo fato de que quando o PLLA cristaliza, os cristais de PPD já formados podem interferir, resultando em uma cristalização a temperaturas mais baixas, o que acarreta em um decréscimo da T_c do PLLA independente da quantidade de PPD.

Um resultado similar foi observado também para as blendas de PHB/PDLLA [ZHANG et al., 1996]. Os autores observaram um decréscimo da T_c do PHB em função da composição da blenda, indicando que o componente PDLLA amorfo exerce forte influência sobre a cristalização do PHB nas blendas, especialmente quando seu conteúdo é relativamente alto.

A área relacionada ao pico de fusão é associada a entalpia de fusão (ΔH_m) da região cristalina. Os valores de ΔH_m da PPD e do PLLA foram normalizados em relação à composição, sendo considerados constantes dentro dos erros experimentais.

A partir dos dados de ΔH_m , ΔH_c e da entalpia de fusão, considerando o polímero 100% cristalino, $\Delta H_m^\circ = 93.7$ J/g para o PLLA [FISHER et al., 1993] e $\Delta H_m^\circ = 102.9$ J/g para a PPD [PEZZIN et al., 2001], foi possível calcular o grau de cristalinidade (χ_c %) do PLLA e PPD na blenda, segundo a equação 1,

$$\chi_c = \frac{\Delta H_m - \Delta H_c}{\Delta H_m^\circ} \times 100 \quad (1)$$

A Figura 12 mostra que o grau de cristalinidade do PLLA (χ_c PLLA) e PPD (χ_c PPD) se mantém constante para todas as composições das blendas.

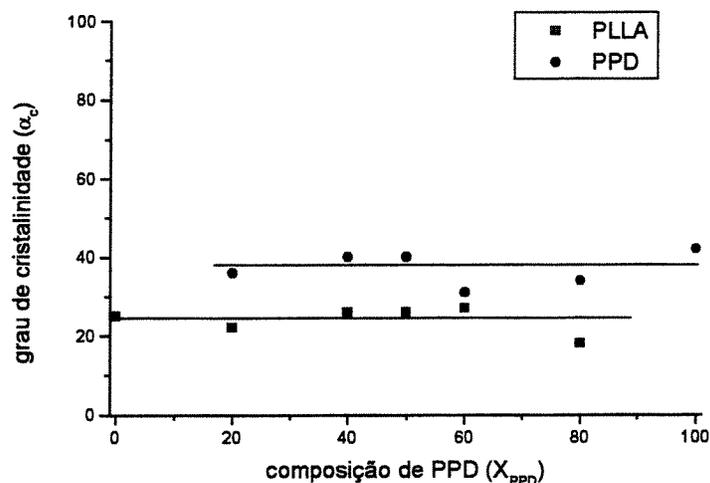


Figura 12. Grau de cristalinidade (χ_c) do PLLA e da PPD em função da composição de PPD (X_{PPD}), calculados a partir do MDSC das blendas PPD/PLLA.

4.1.2. Difratometria de raios-X

O perfil de difração de raios-X para os homopolímeros e as blendas é mostrado na **Figura 13**. Como pode-se observar, o PLLA apresenta picos de difração em 2θ igual a $16,5^\circ$ (reflexão 110 e 200); 19° (reflexão 203) e $22,5^\circ$ (reflexão 205), enquanto que a PPD apresenta picos de difração em 2θ igual a 22° ; $23,5^\circ$ e 29° . A intensidade dos picos de difração do PLLA decresce à medida em que acrescenta-se mais PPD à blenda. Os picos de difração das blendas contêm todos os picos correspondentes aos homopolímeros. O perfil de difração para o PLLA é similar ao padrão mostrado por IKADA et al. (1987), que são comparáveis aos resultados para a forma cristalina α do PLLA, a qual possui célula unitária pseudo-ortorrômbica de dimensões; $a= 1.07$ nm, $b=0.595$ nm, and $c= 2.78$ nm [OKIHARA et al., 1991]. De Santis and Kovacs relataram que a estrutura cristalina do PLLA consiste de cadeias helicoidais orientadas para a esquerda [de SANTIS et al., 1968]. A ausência de deslocamentos de picos sugere que as distâncias moleculares nas estruturas cristalinas não são afetadas e que os dois materiais não co-cristalizam.

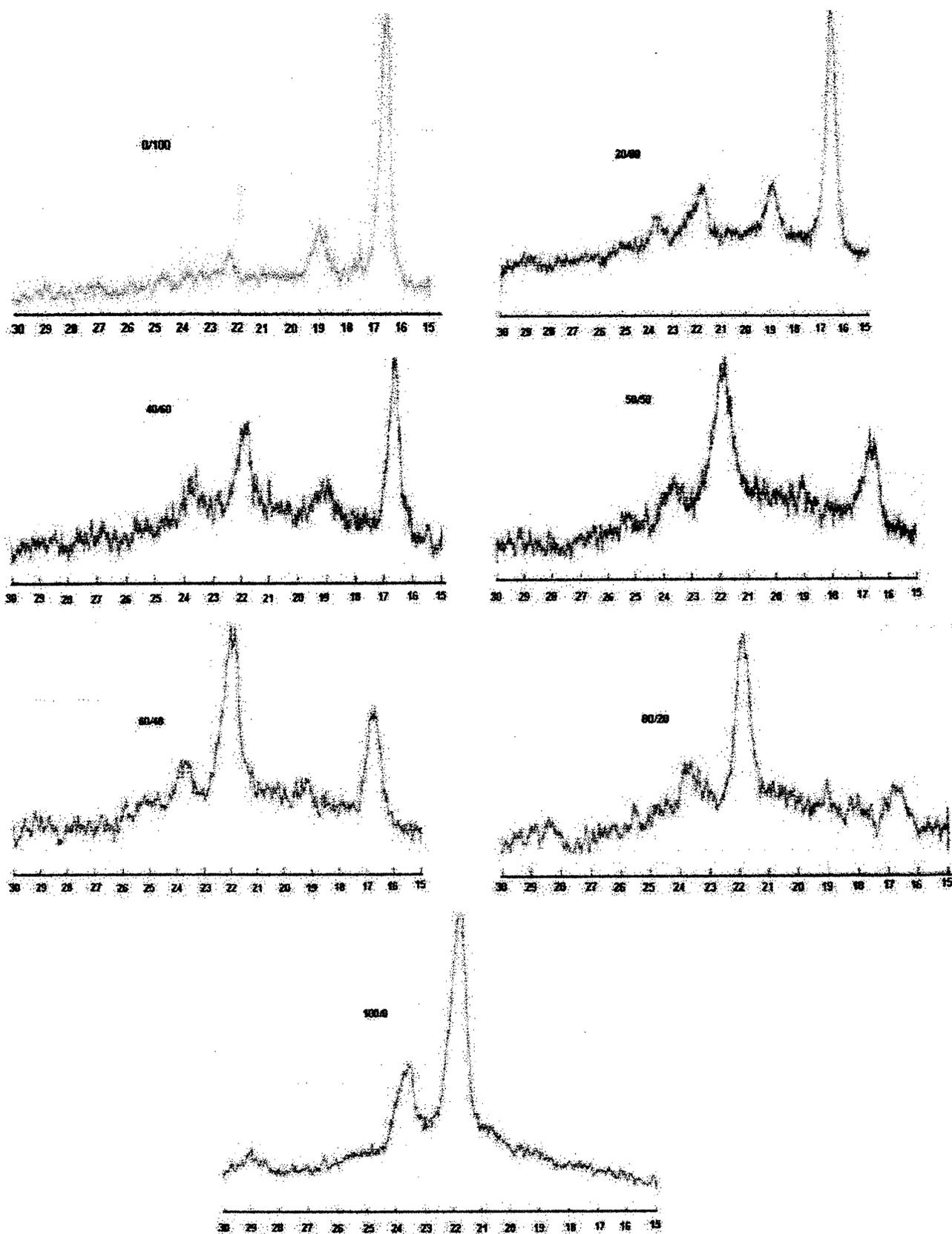


Figura 13. Difratogramas das blends PPD/PLLA sintetizadas por evaporação de solvente.

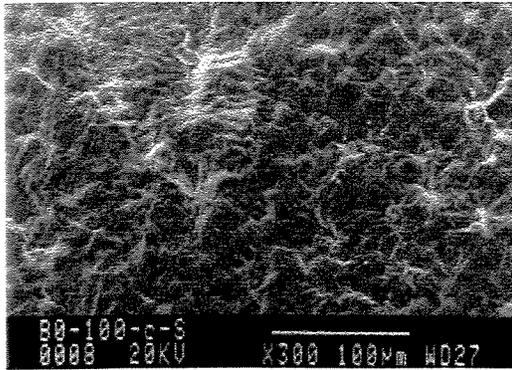
4.1.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias obtidas por MEV das superfícies das blendas PPD/PLLA em várias composições são apresentadas na **Figura 14**. Observa-se que a morfologia do PLLA é bastante distinta da morfologia da PPD. Enquanto a PPD apresenta uma superfície irregular, composta por glóbulos pontiagudos, o PLLA possui uma superfície rugosa menos irregular.

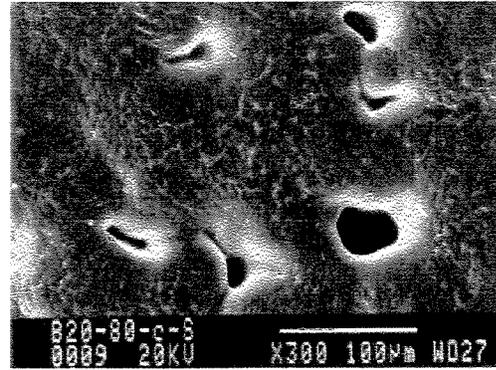
As blendas (40/60), (50/50) e (60/40) apresentam uma completa separação entre as fases, enquanto que as blendas (20/80) e (80/20) mostram uma maior homogeneidade, apresentando similaridade com o polímero em maior concentração, em função da baixa concentração do segundo componente. Entretanto, uma análise mais minuciosa, indica que estas blendas também apresentam separação de fases. Ao compararmos a blenda PPD/PLLA (20/80) com o PLLA homopolímero, observa-se o aparecimento de alguns buracos, mostrando que a superfície do PLLA apresentou alterações com a adição de 20 % de PPD na blenda. Já na blenda 80/20, verifica-se algumas regiões planas entre os glóbulos de PPD, que podem ser atribuídos ao PLLA.

A observação das superfícies de fratura das amostras indicam que todas as blendas são densas (**Figura 15**) e possuem praticamente a mesma espessura. Na **Figura 16**, pode-se observar que todas as composições apresentam separação de fases, confirmando os resultados obtidos por MDSC de que todas as composições são imiscíveis. No entanto, as composições (50/50) e (60/40) apresentam uma tendência maior para a ocorrência de separação de fases. Nestas composições verifica-se a formação de grandes contornos de uma fase e de outra (setas) (**Figura 16**), como verificado também nas análises de superfície das blendas (**Figura 14**). As superfícies de fratura mostram com melhor nitidez que as blendas 20/80 e 80/20 também apresentam separação de fases.

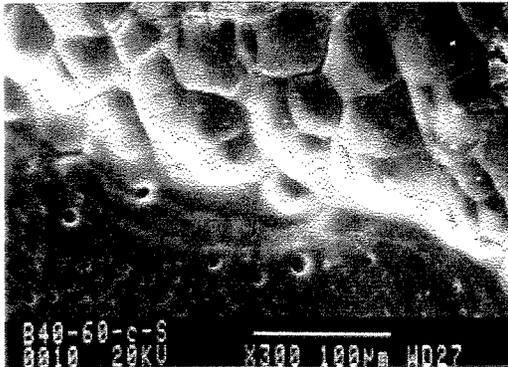
IANNACE et al., (1994) também observaram separação de fases em todas as composições estudadas e maior similaridade das blendas PHB-HV/PLLA (20/80) e (80/20) com o polímero em maior concentração.



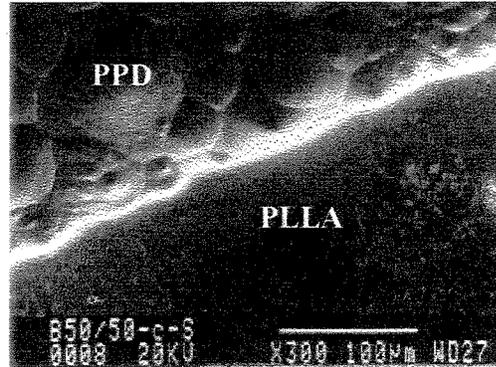
PPD/PLLA (0/100)



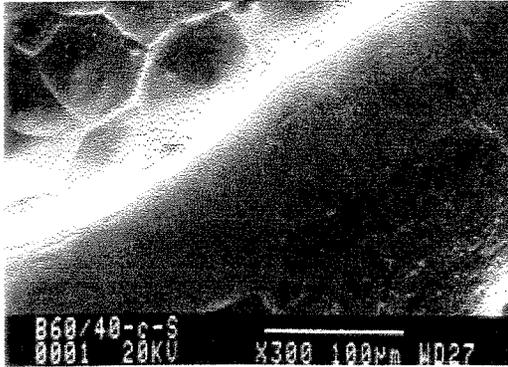
PPD/PLLA (20/80)



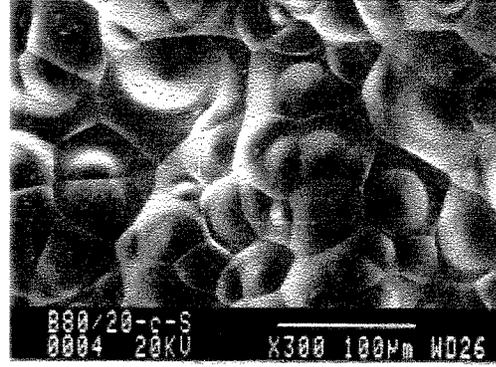
PPD/PLLA (40/60)



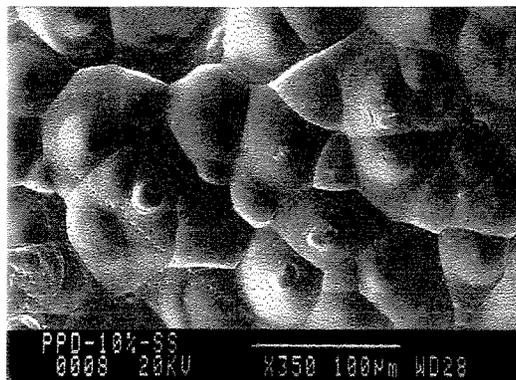
PPD/PLLA (50/50)



PPD/PLLA (60/40)



PPD/PLLA (80/20)



PPD/PLLA (100/0)

Figura 14. Micrografias obtidas por MEV das superfícies das blendas de PPD/PLLA.

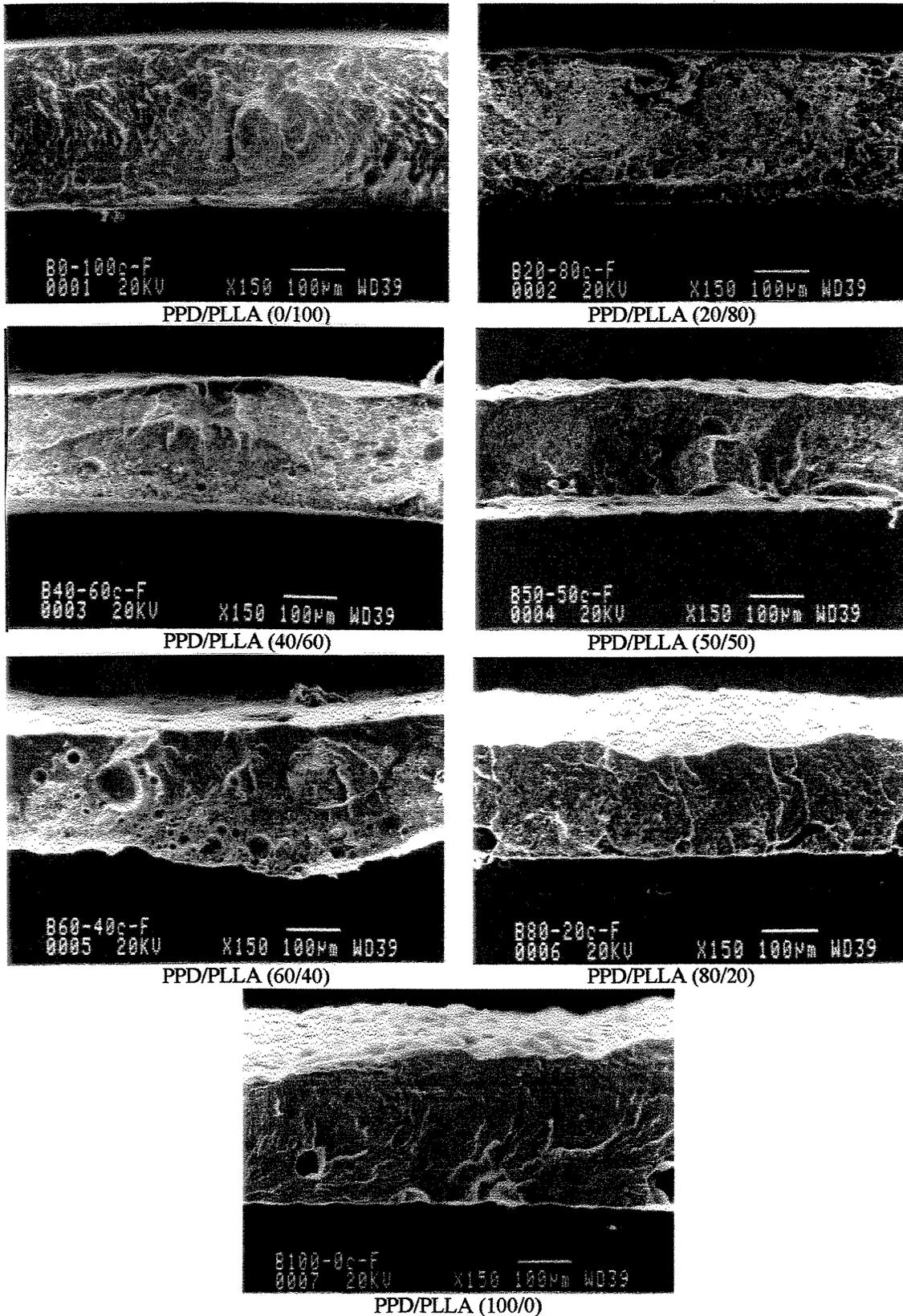


Figura 15. Micrografias obtidas por MEV das superfícies de fraturas blendas de PPD/PLLA. 150 x.

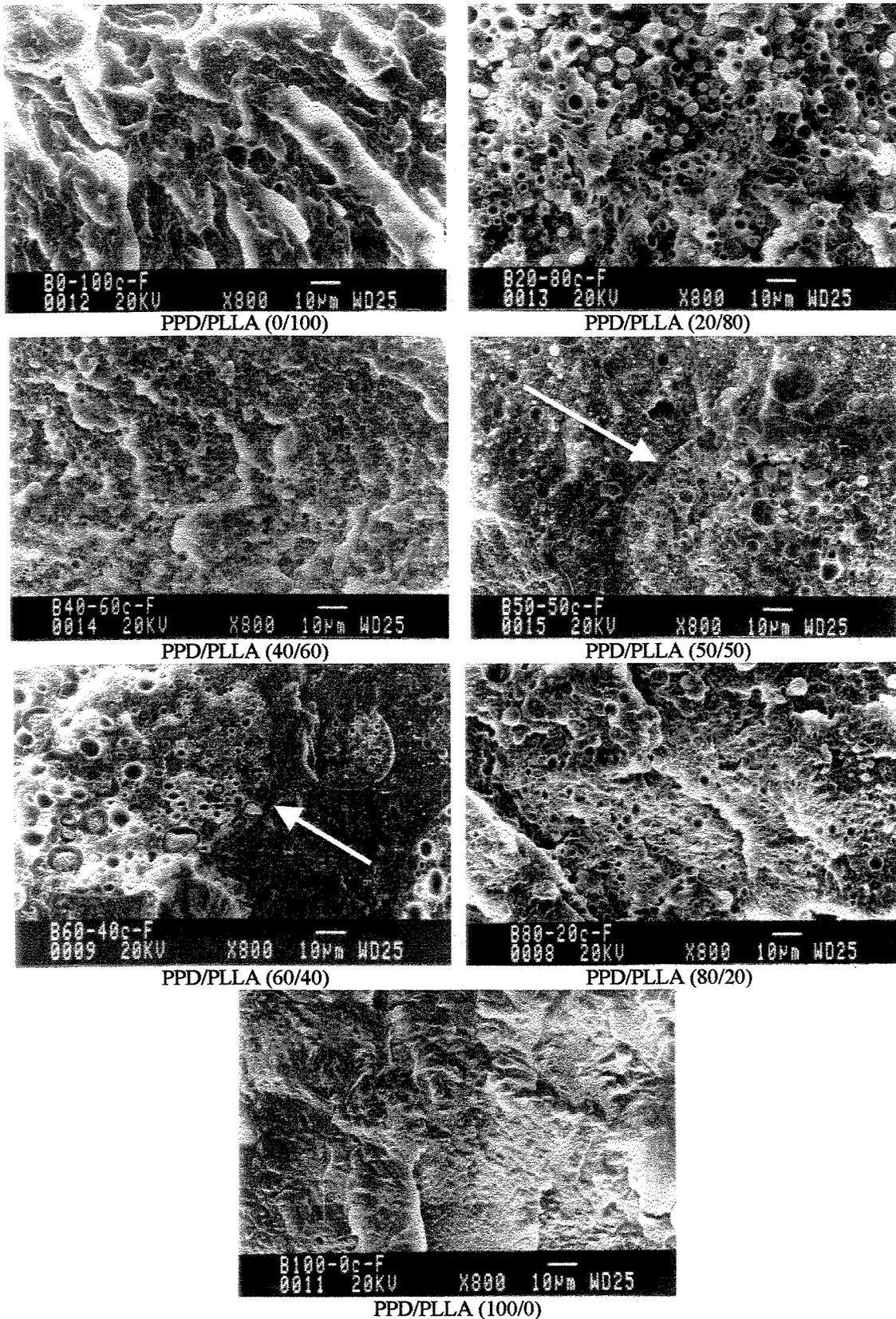


Figura 16. Micrografias obtidas por MEV das superfícies de fraturas blendas de PPD/PLLA. 800 x.

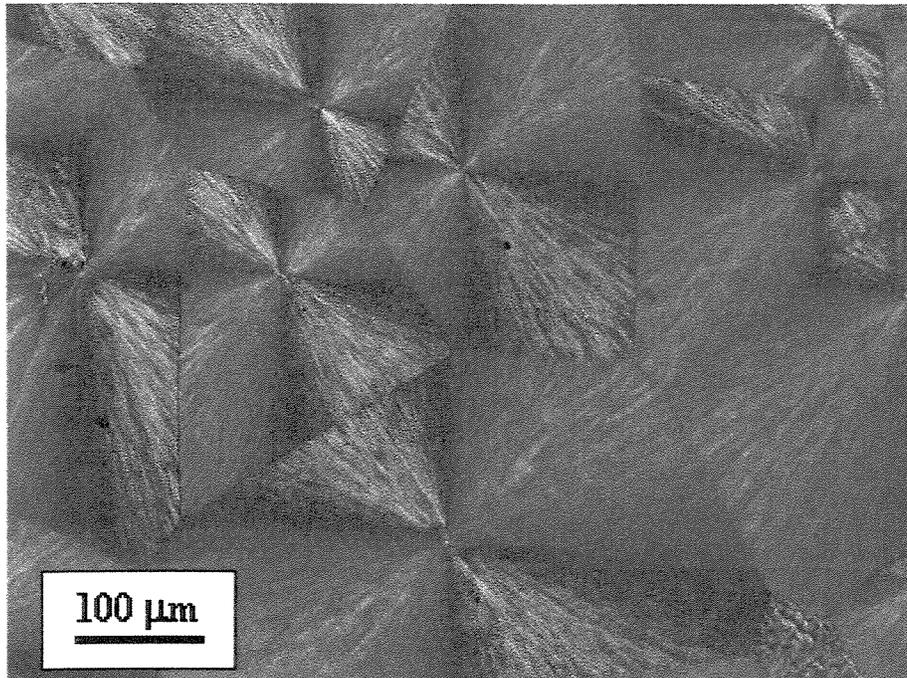
4.1.4. Microscopia óptica (MO)

Durante o processo de cristalização a partir do polímero fundido, um dos arranjos que podem ser observados, quando vistos por um microscópio óptico com luz polarizada, são os *esferulitos*, que se formam pelo crescimento de cristais em forma de fibrilas, na direção radial de uma esfera.

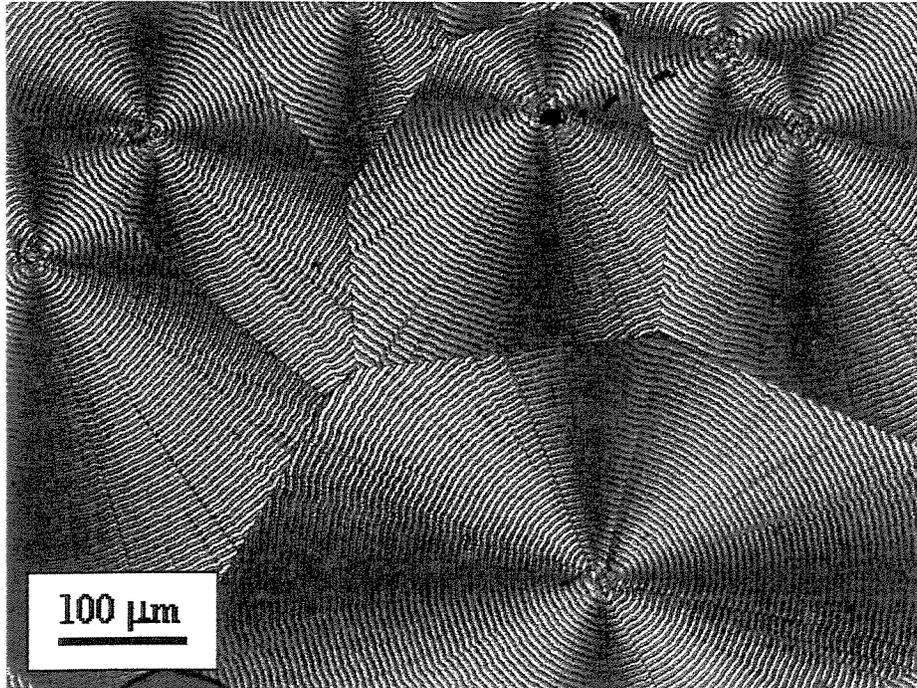
As micrografias obtidas por MO com luz polarizada para os homopolímeros são apresentadas na **Figura 17**. Para o PLLA homopolímero, cristalizado a 130°C, observa-se cristais bem definidos, onde o crescimento dos mesmos é limitado por outros esferulitos da vizinhança. A formação de esferulitos para o PLLA homopolímero é semelhante aos observados por TSUJI & IKADA, (1995), os quais cristalizaram o PLLA em diferentes temperaturas (120, 140 e 160°C). Para a PPD homopolímero, cristalizada a 65°C, são observados anéis regulares concêntricos.

As micrografias obtidas por MO com luz polarizada para as blendas PPD/PLLA 20/80 e 40/60 são mostradas na **Figura 18**. Todas as micrografias apresentam o espaço totalmente preenchido por esferulitos. Na blenda 20/80 os esferulitos da PPD não foram observados, provavelmente, em função da sua baixa composição na blenda. Nesta blenda, os esferulitos de PLLA maiores cresceram a $T_c = 130^\circ\text{C}$, enquanto que os menores cresceram durante o resfriamento até 65°C, em função de não termos mantido a amostra a $T_c = 130^\circ\text{C}$, tempo suficiente para que todo o espaço fosse preenchido com os esferulitos de maior tamanho. A temperaturas de cristalização menores do que 130 °C, a cinética de crescimento dos esferulitos é maior e observa-se um maior número de núcleos, tendo como consequência, a formação de esferulitos pequenos. A blenda 40/60 apresenta esferulitos dos dois polímeros, sendo que é possível observar separação de fases. Embora a proporção de PPD em relação ao PLLA seja alta (40 %), são muito mais evidentes os esferulitos de PLLA.

As micrografias obtidas por MO com luz polarizada para as blendas PPD/PLLA 50/50, 60/40 e 80/20 são mostradas na **Figura 19**.

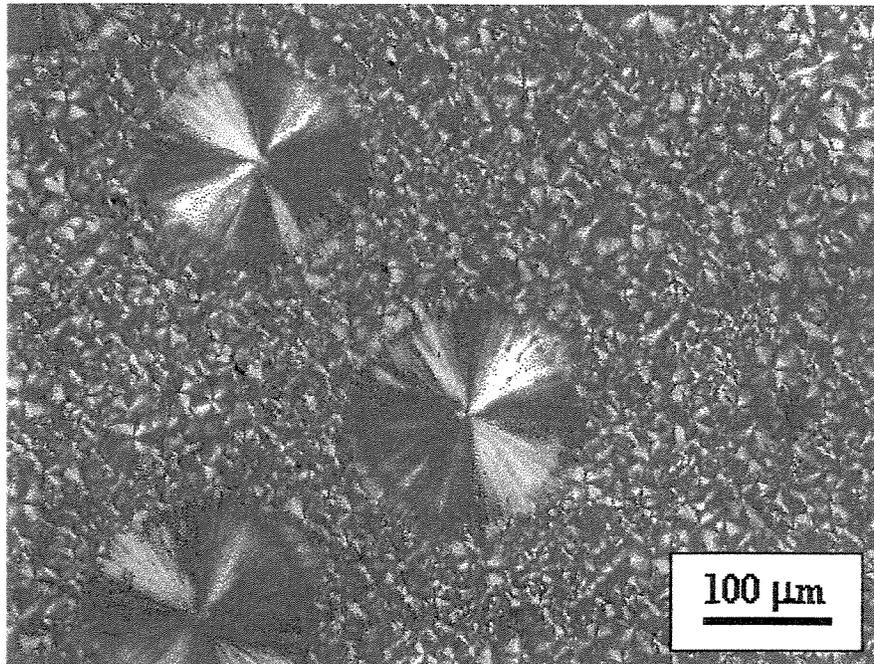


(a)

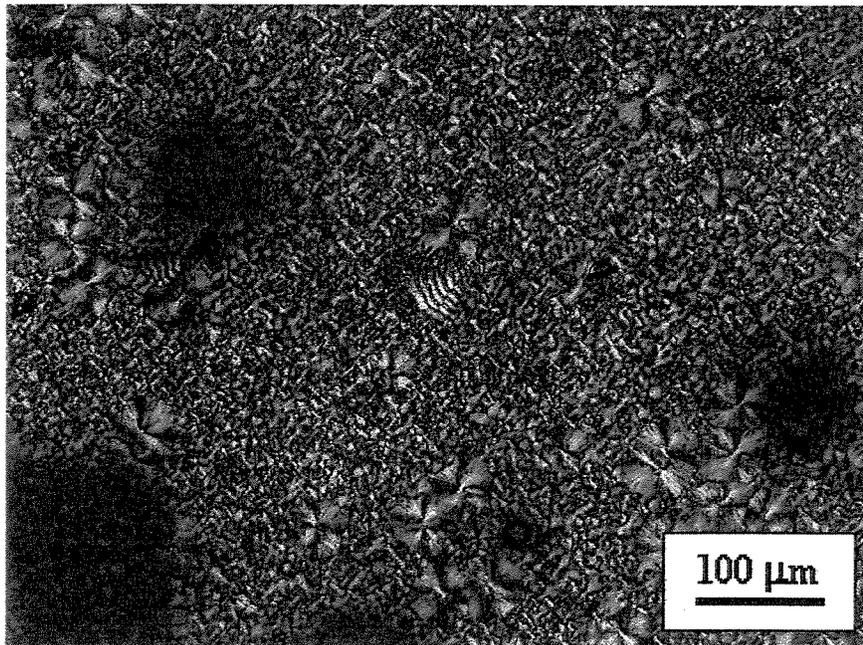


(b)

Figura 17. Micrografias obtidas por MO com luz polarizada para os homopolímeros. (a) PLLA, (b) PPD.

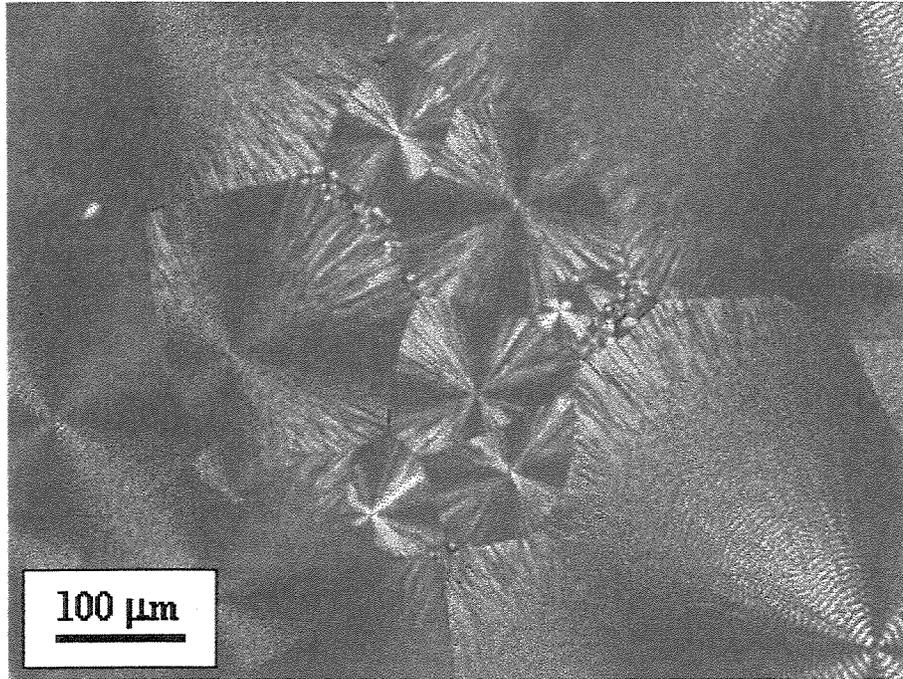


(a)

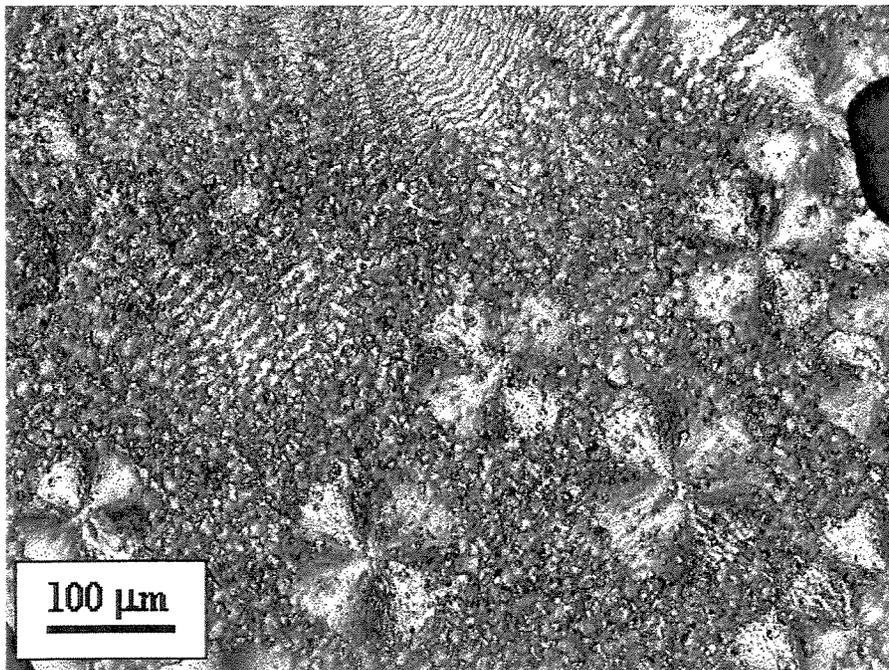


(b)

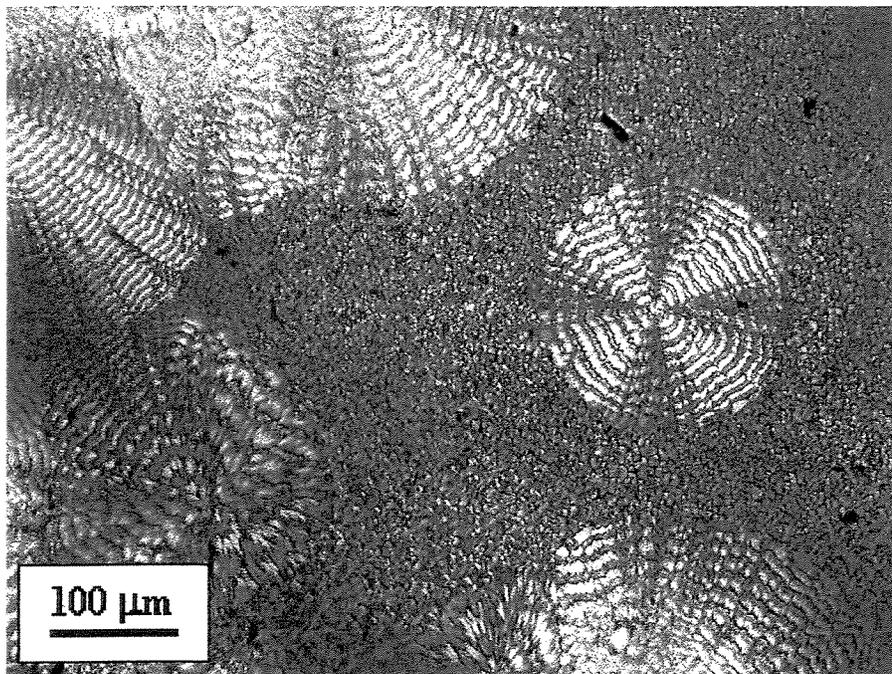
Figura 18. Micrografias obtidas por MO com luz polarizada para as blendas PPD/PLLA. (a) (20/80), (b) (40/60).



(a)



(b)



(c)

Figura 19. Micrografias obtidas por MO com luz polarizada para as blendas PPD/PLLA. (a) (50/50), (b) (60/40), (c) 80/20.

A partir da composição 40/60, já é possível observar a presença dos esferulitos dos dois polímeros, sendo que na composição 50/50 é visível uma macroseparação entre as duas fases, com domínios bem definidos do PLLA e da PPD. À medida que aumenta a concentração de PPD na blenda, essa macroseparação é menos nítida, sendo que para a composição 80/20, observa-se domínios de esferulitos de PPD crescidos isoladamente dos domínios de PLLA.

4.1.5. Ensaio mecânicos de tração

As curvas de tensão em função da deformação para as blendas PPD/PLLA 0/100, 20/80, 50/50, 80/20 e 100/0 obtidas através dos ensaios de tração são mostradas na **Figura 20**. Dentre as curvas obtidas para cada composição, foi escolhida aquela que melhor representava o comportamento de cada blenda.

Os gráficos de módulo de rigidez, tensão na ruptura, resistência à tração, deformação na ruptura e tenacidade para todas as blendas obtidos a partir do ensaio de tração são apresentados na **Figura 21**. O comportamento mecânico do PLLA homopolímero mostra características típicas de um polímero vítreo com módulo de rigidez de 1402 ± 147 MPa, tensão na ruptura de 26 ± 3 MPa, resistência à tração de 30 ± 2 MPa, deformação na ruptura de $15 \pm 4,5$ % e tenacidade de $3,9 \pm 1,6$ MPa. Estes dados estão de acordo com os valores relatados por Jin et al., (2000) para o PLLA, os quais obtiveram módulo de rigidez de 1582,5 MPa, tensão na ruptura de 18,1 MPa e deformação na ruptura de 10,2 %.

Por outro lado, a PPD homopolímero exibe módulo de rigidez (584 ± 45 MPa) mais baixo que o PLLA, tensão na ruptura mais baixa que PLLA ($11 \pm 4,4$ %), resistência à tração intermediária ($16,7 \pm 1,5$ MPa), quase a mesma deformação na ruptura que o PLLA puro (14 ± 4 %) e baixa tenacidade ($1,7 \pm 0,6$ MPa). O baixo valor de módulo de rigidez, confere à PPD alta flexibilidade, que se deve à presença de uma ligação éter e um $-\text{CH}_2-$ adicional na estrutura em relação ao PLLA [RAY et al., 1981].

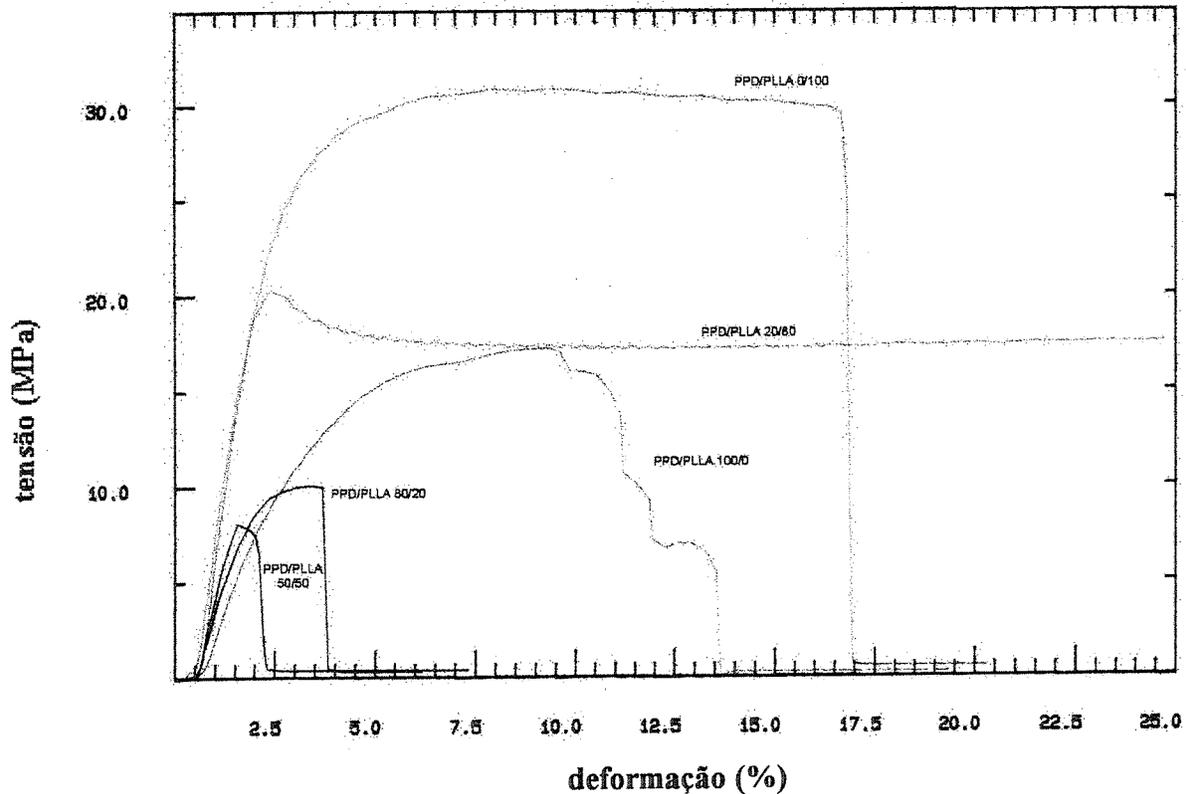


Figura 20. Curvas de tensão x deformação das blendas PPD/PLLA obtidas através dos ensaios de tração.

Pode-se observar na **Figura 21** que a blenda (20/80) apresenta melhores propriedades mecânicas. Adicionando apenas 20 % de PPD ao PLLA, o sistema apresenta maiores valores de módulo de rigidez, deformação na ruptura e tenacidade que o PLLA e a PPD homopolímeros, enquanto que a tensão na ruptura e a resistência à tração são mais baixos que o PLLA homopolímero. Esta blenda é um material mais flexível e tenaz, e observa-se a formação de um pescoço durante a deformação, devido provavelmente à PPD, a qual pode estar agindo como plastificante. Valores maiores de deformação na ruptura e formação de pescoço também foram observados para as blendas PLLA/PEO contendo mais de 10 % em peso de PEO [NIJENHUIS et al., 1991].

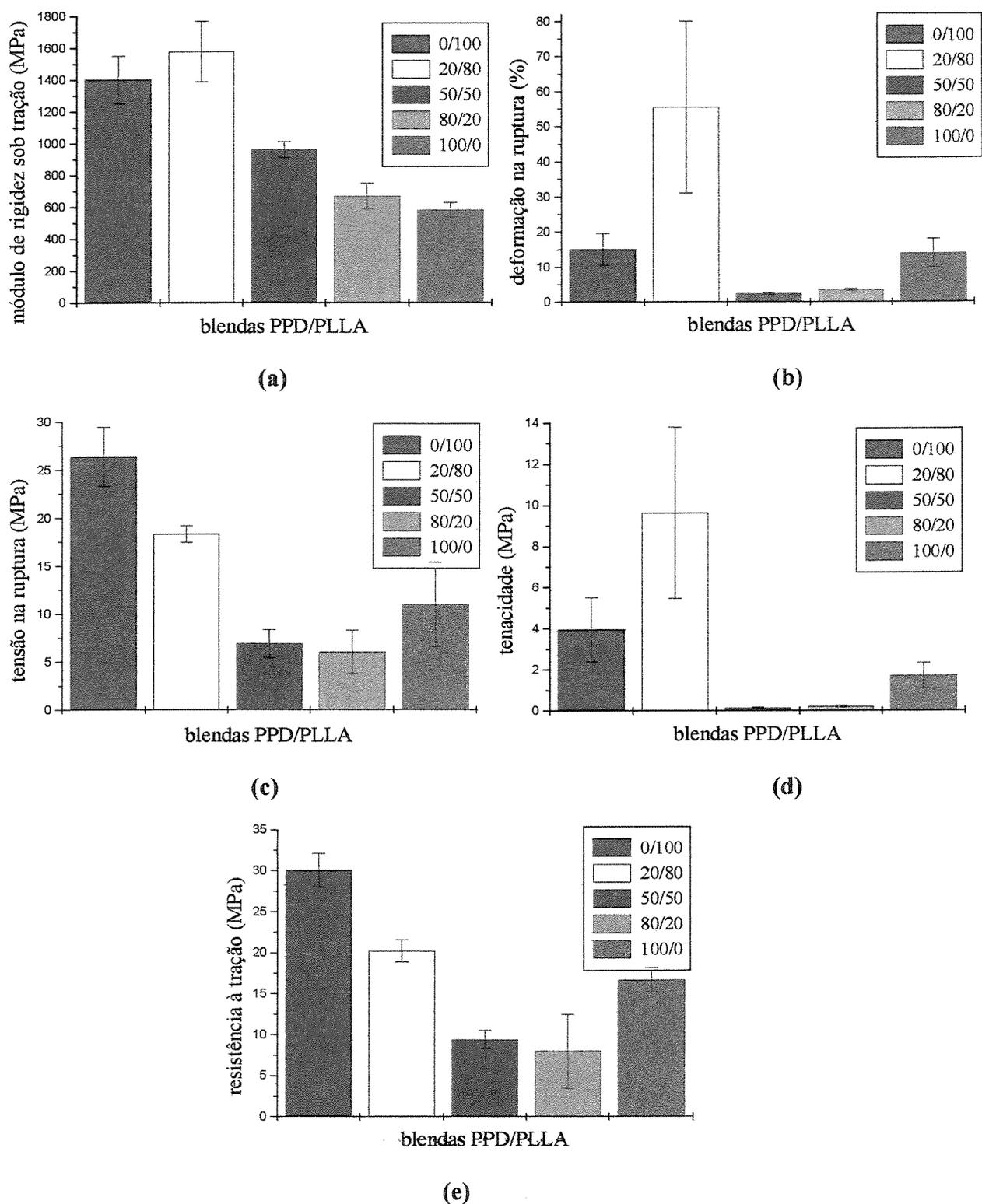


Figura 21. Gráficos de (a) módulo de rigidez sob tração, (b) tensão na ruptura, (c) resistência à tração, (d) deformação na ruptura e (e) tenacidade obtidos a partir do ensaio de tração para as blendas PPD/PLLA preparadas por evaporação de solvente.

As blendas (50/50) e (80/20) apresentaram módulo de rigidez mais alto que a PPD homopolímero, mas valores mais baixos de tensão na ruptura, deformação na ruptura, resistência à tração e tenacidade. Para a blenda (50/50), este comportamento pode estar relacionado com a nítida morfologia de separação de fases observada por MEV e MO, resultando em uma perda das propriedades mecânicas. A blenda 80/20 apresentou o valor de módulo de rigidez mais baixo dentre todas as blendas, o que a torna indicada para a prótese de menisco, devido à sua flexibilidade. Vale ressaltar que para os biomateriais, nem sempre um módulo de rigidez alto é tão importante, se ao degradar, o polímero perde rápido suas propriedades. É necessário ter em mente que as propriedades requeridas para um material irão depender da aplicação à qual ele se destina.

De um modo geral, MDSC, MEV e MO são técnicas de caracterização que nos dão informações diferentes sobre a miscibilidade e a separação de fases do sistema. Embora as três técnicas nos levem a crer que o sistema é imiscível, as técnicas de microscopia indicam que a separação de fases é mais nítida nas blendas 40/60, 50/50 e 60/40 e menos intensa nas blendas 20/80 e 80/20.

4.2. Blendas obtidas por fusão

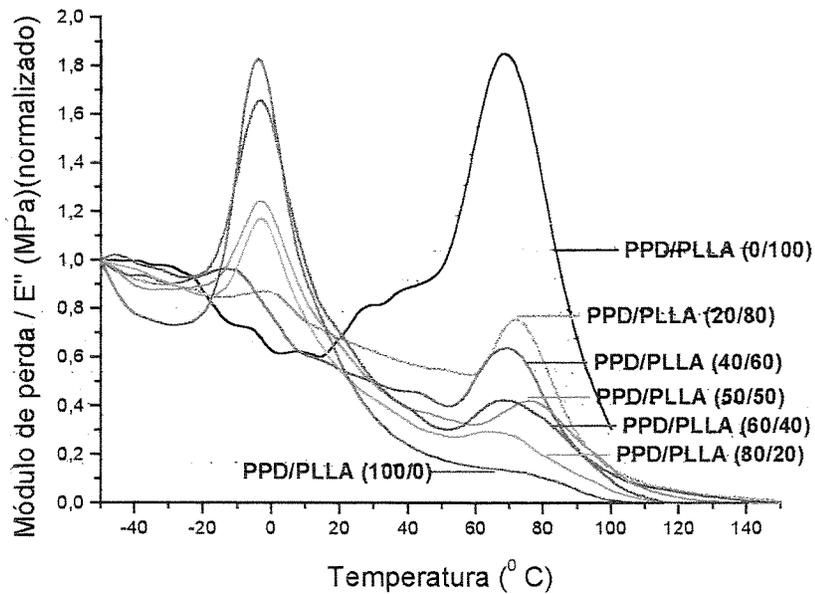
4.2.1. Análise dinâmico mecânica (DMA)

A análise dinâmico-mecânica é um método poderoso na investigação de fenômenos de relaxação em materiais poliméricos. A análise do módulo de perda em função da temperatura (E'' x T) é muito utilizada para obter informação sobre a miscibilidade de blendas [IANNACE et al., 1994]. O uso da T_g para determinar a miscibilidade de blendas é baseado na premissa de que o tamanho do domínio é inferior a 15 nm [UTRACKI, 1990].

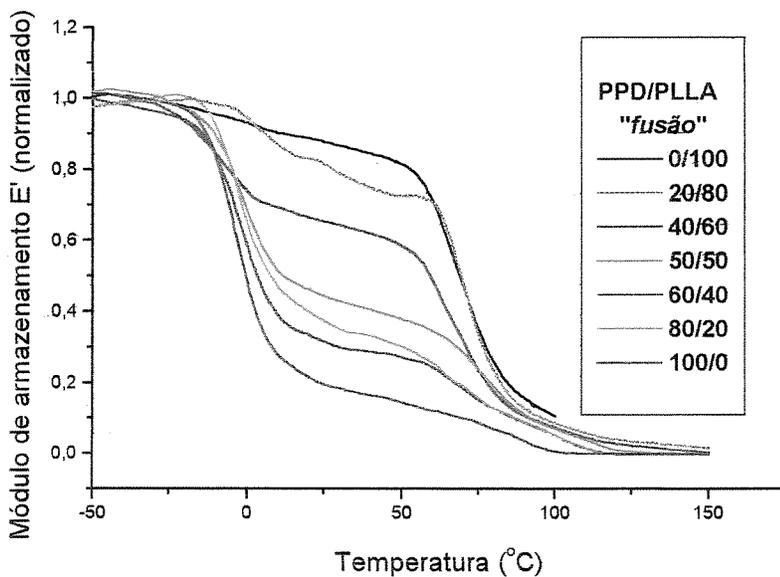
Os máximos das curvas de E'' x T, obtidos por DMA (Figura 22a), mostram a presença de duas temperaturas de transição vítrea (T_g), características dos homopolímeros e que se mantiveram constante em todas as composições, indicando que as blendas são imiscíveis. As T_g 's foram obtidas através dos máximos de E'' x T e não através das curvas de $\tan \delta$ x T, pois a $\tan \delta$ não é um valor puro, ou seja, ela expressa a razão entre a energia perdida e a energia armazenada, não tendo portanto um significado molecular direto [UTRACKI, 1990]. As pequenas variações da T_g observadas na Tabela 4, não são consideradas significativas e estão dentro da margem de erro da técnica. A influência da composição polimérica no comportamento dinâmico-mecânico das blendas, ilustrada na Figura 22b, mostra que, na região plástica, a PPD apresenta módulo de armazenamento (E') mais baixo que o PLLA, enquanto que as blendas apresentam comportamento intermediário entre os dois polímeros.

Tabela 4. Temperaturas de transição vítrea para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão, medidas por DMA a partir do módulo de perda (E'').

Composição PPD/PLLA	T_g PPD (°C)	T_g PLLA (°C)
0/100	---	69
20/80	-3	72
40/60	-13	69
50/50	-3	76
60/40	-3	68
80/20	-3	64
100/0	-4	---



(a)



(b)

Figura 22. DMA das blendas de PPD/PLLA obtidas por fusão. (a) Curvas de E'' x T (b) Curvas de E' x T.

4.2.2. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As curvas de DSC para os homopolímeros e as blendas de PPD/PLLA obtidas por fusão no primeiro e segundo aquecimento, apresentam picos de fusão e cristalização, como pode-se observar na **Figura 23**. Devido à alta cristalinidade das blendas, a detecção das temperaturas de transição vítrea dos polímeros não é muito nítida. As T_c 's, T_m 's, entalpias de cristalização (ΔH_c) e entalpias de fusão (ΔH_m) das blendas PPD/PLLA foram determinadas a partir das curvas de DSC e os valores estão sumarizados nas **Tabelas 5 e 6**. Os valores de ΔH_m foram calculados a partir das áreas dos dois picos e normalizados com relação à composição. No primeiro aquecimento, dois picos endotérmicos podem ser vistos. Observa-se a fusão dos cristais da PPD em cerca de 109°C e a fusão dos cristais de PLLA em aproximadamente 178°C, e também verifica-se que as posições das temperaturas de fusão do PLLA e PPD não variam em função da composição da blenda. Há um aumento significativo do ΔH_m da PPD a partir de 40% de PLLA e um aumento do ΔH_m do PLLA com 40 e 80% de PPD, mostrando um aumento da cristalinidade dos polímeros nas blendas. Essa variação pode também estar relacionada ao controle das condições de processamento, pois no primeiro aquecimento, as amostras são analisadas com a sua própria história térmica. Observou-se que a cristalização do PLLA foi ligeiramente afetada pela presença da PPD, devido ao aparecimento de dois picos de fusão para o PLLA na blenda 20/80.

No segundo aquecimento é possível fazer uma análise mais comparativa entre as amostras, pois a história térmica das mesmas foi apagada. Com relação à T_m da PPD e do PLLA, não se observou-se qualquer variação em relação ao primeiro aquecimento. Porém, em relação ao ΔH_m da PPD e do PLLA, verifica-se que os valores são sempre maiores do que os obtidos no primeiro aquecimento. Estes valores oscilam dentro de um limite pequeno e podem ser considerados constantes. A T_c do PLLA e PPD puros ocorreu a 101 e 37°C, respectivamente. A T_c do PPD manteve-se constante, enquanto foi observado um decréscimo de 9 a 11°C na T_c do PLLA nas blendas. Este decréscimo é devido ao pico de cristalização do PLLA ocorrer a uma temperatura próxima da fusão da PPD, motivo pelo qual nas outras composições é difícil de observar este pico, além da menor concentração de PLLA na blenda.

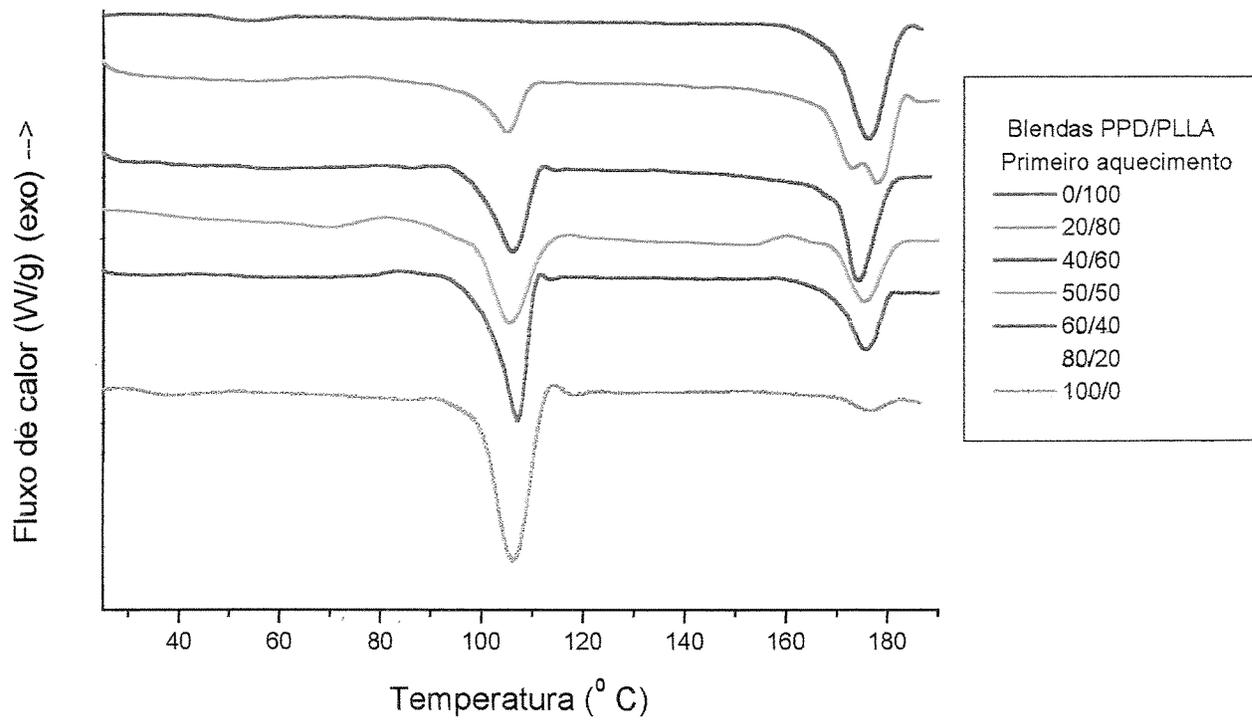
O grau de cristalinidade (χ_c %) do PLLA e PPD na blenda foi calculado da mesma maneira que para as blendas sintetizadas por evaporação de solvente, utilizando entalpia de fusão considerando o polímero 100% cristalino, $\Delta H_m^\circ = 93.7$ J/g para o PLLA [FISHER et al., 1993] e $\Delta H_m^\circ = 102.9$ J/g para a PPD [PEZZIN et al., 2001]. No cálculo do grau de cristalinidade do PLLA no segundo aquecimento, a fórmula utilizada foi $\Delta H_m / \Delta H_m^\circ$, devido à dificuldade de se observar o pico de cristalização do PLLA. Quanto à PPD, observa-se um decréscimo no (χ_c PPD) para as blendas 40/60 e 50/50, com menor quantidade de PPD. O ΔH_m do PLLA e da PPD e consequentemente, o grau de cristalinidade, são maiores no segundo aquecimento do que no primeiro aquecimento para todas as blendas, o qual pode estar relacionado ao resfriamento controlado antes do segundo aquecimento. A técnica de DSC nos mostra que não houve decréscimos significativos da T_m dos polímeros, sugerindo que as blendas são imiscíveis.

Tabela 5. Dados de DSC para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão. Valores de T_m e ΔH_m obtidos do primeiro aquecimento.

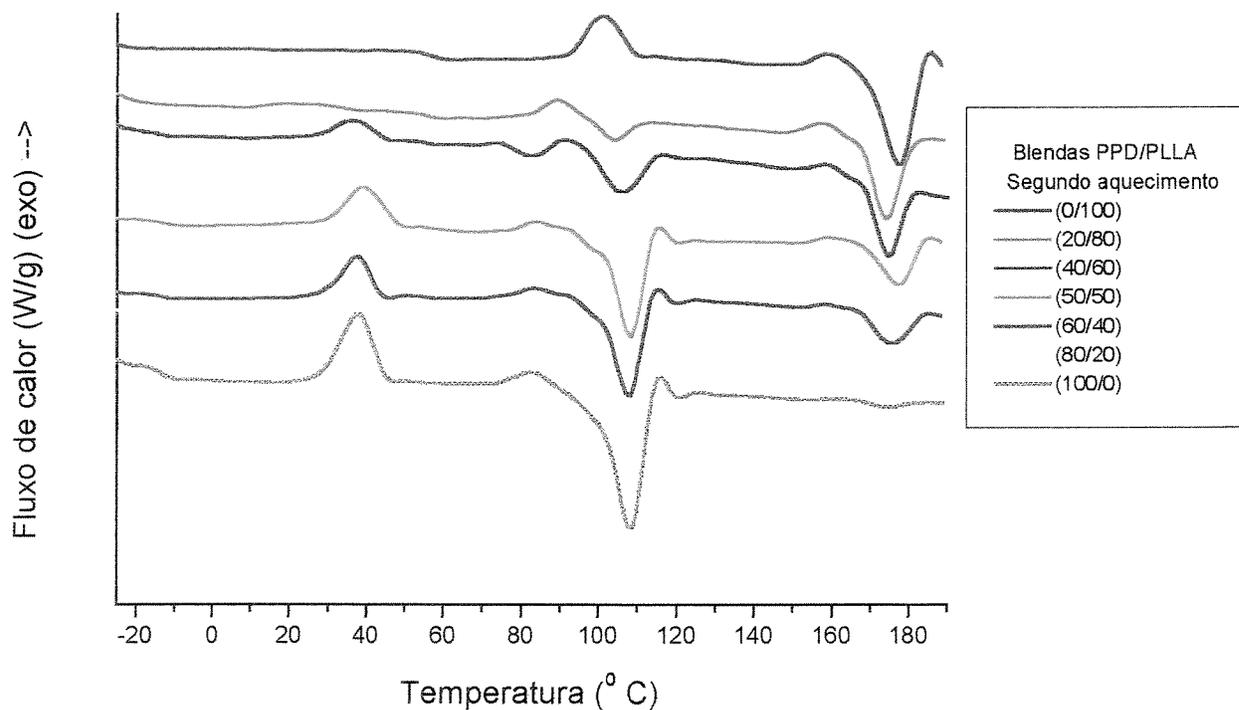
Composição (PPD/PLLA)	T_m	ΔH_m	χ_c	T_m	ΔH_m	χ_c
	PPD (°C)	PPD (J/g)	PPD (%)	PLLA (°C)	PLLA (J/g)	PLLA (%)
0/100	-	-	-	178	42	45
20/80	106	88	86	173 / 179	44	47
40/60	107	64	62	175	55	59
50/50	108	77	75	177	43	46
60/40	107	65	63	176	42	45
80/20	108	58	56	176	48	51
100/0	109	58	56	-	-	-

Tabela 6. Dados de DSC para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão. Valores de T_m e ΔH_m , T_c e ΔT_c obtidos do segundo aquecimento.

Composição (PPD/PLLA)	T_m	ΔH_m	χ_c	T_c	ΔH_c	T_m	ΔH_m	χ_c	T_c	ΔH_c
	PPD (°C)	PPD (J/g)	PPD (%)	PPD (°C)	PPD (J/g)	PLLA (°C)	PLLA (J/g)	PLLA (%)	PLLA (°C)	PLLA (J/g)
0/100	-	-	-	-	-	177	51	54	101	28
20/80	106	86	-	-	-	176	57	60	90	16
40/60	81/108	69	23	36	45	176	59	63	92	12
50/50	109	85	24	39	60	177	43	46	-	-
60/40	108	71	35	37	35	176	44	47	-	-
80/20	106	63	36	36	26	176	58	62	-	-
100/0	108	71	31	37	39	-	-	-	-	-



(a)



(b)

Figura 23. Curvas de DSC para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão. (a) primeiro aquecimento, (b) segundo aquecimento.

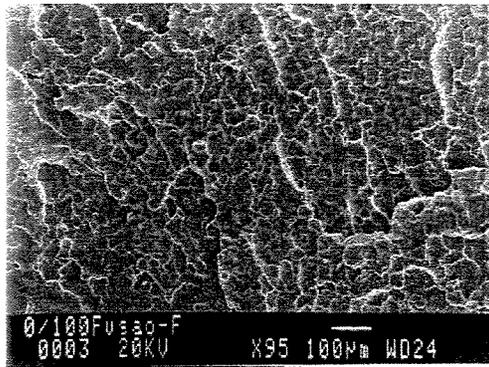
4.2.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias das superfícies de fraturas obtidas por MEV dos homopolímeros e das blendas obtidos por fusão são mostradas na **Figura 24**. O PLLA apresenta uma superfície densa e lisa (**Figura 24a**), enquanto que a superfície da PPD, além de ser densa, tem uma certa rugosidade (**Figura 24g**), mas não apresenta os mesmos glóbulos pontiagudos observados nas membranas de PPD homopolímero (**Figura 14**).

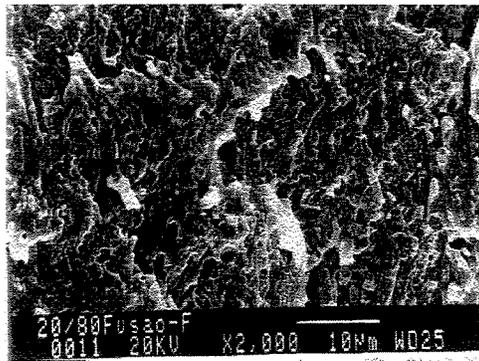
As blendas de composições 20/80 e 80/20 (**Figuras 24b e 24f**) apresentam uma maior homogeneidade, atribuída à baixa concentração de um dos polímeros na blenda. Mesmo com maior aumento, não é possível perceber com nitidez a presença de duas fases na blenda 20/80. Por outro lado, nas blendas de composições 40/60, 50/50, 60/40 e 80/20, (**Figuras 24c, 24d, 24e, 24f**), observa-se a presença de duas fases distintas, confirmando os resultados obtidos por DMA e DSC de que essas blendas são imiscíveis.

É nítida a formação de buracos nessas blendas, mais pronunciados na blenda 50/50, devido à criofratura das mesmas, o que indica uma baixa adesão entre os polímeros.

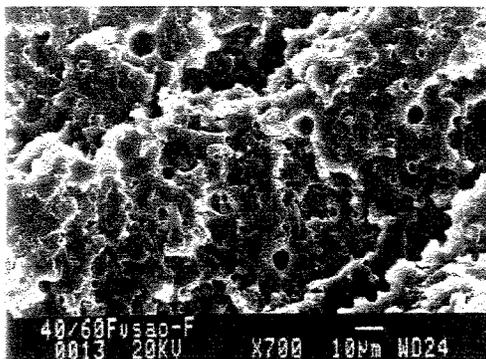
As técnicas de DMA e DSC mostram que todas as blendas são imiscíveis. Os resultados de MEV confirmam a presença de duas fases nas blendas, além de evidenciar uma maior homogeneidade nas blendas em que um dos polímeros está em baixa concentração. Estes resultados são concordantes com os obtidos para as blendas preparadas por evaporação de solvente.



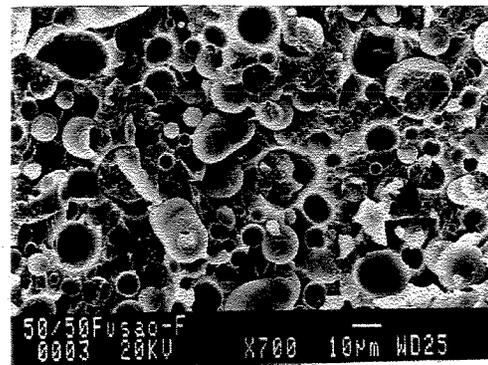
(a)



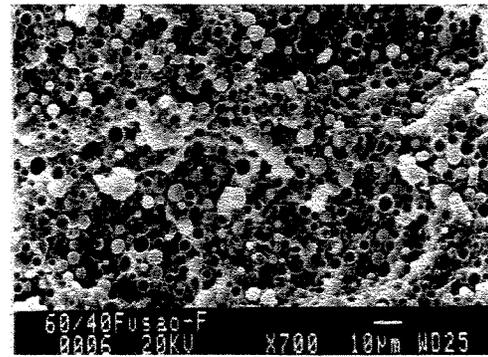
(b)



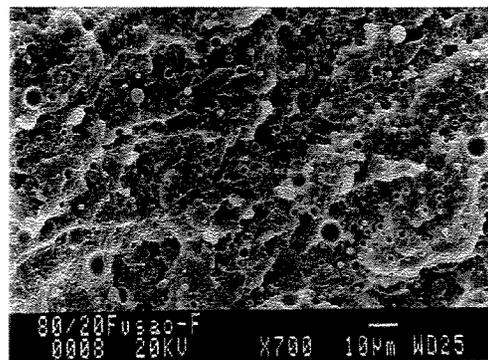
(c)



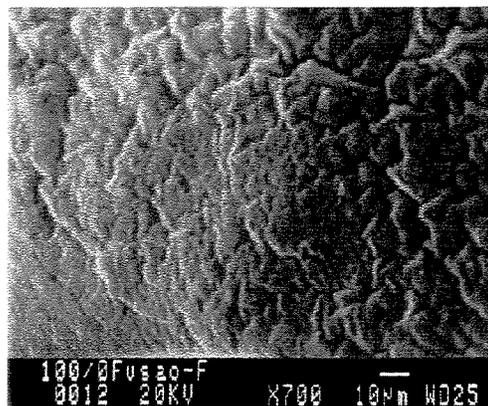
(d)



(e)



(f)



(g)

Figura 24. Micrografias obtidas por MEV das blendas criofraturadas de PPD/PLLA. (a) 0/100 (b) 20/80 (c) 40/60 (d) 50/50 (e) 60/40 (f) 80/20 (g) 100/0

4.3. Estudo *in vitro*

4.3.1. Blendas preparadas por evaporação de solvente

4.3.1.1. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As Tabelas 7 a 12, que se encontram no Anexo I, apresentam os dados obtidos por DSC para as membranas PPD/PLLA nas composições 0/100, 20/80, 50/50, 80/20, 80/20 com 3% de trietil citrato de sódio e 100/0, degradadas nos tempos de 0, 1, 2, 4, 6, 8 e 10 semanas e 12 e 15 semanas para a amostra 20/80.

Na Tabela 7 são apresentados os dados para a membrana de PLLA homopolímero. Verifica-se que após 4 semanas, ocorreu um aumento de 43 % no ΔH_m do PLLA (primeiro aquecimento) e um aumento de mais 25 % de 4 para 10 semanas. O estudo da degradação para a PPD homopolímero (Tabela 13), mostra um aumento do ΔH_m da PPD de 13 % após 1 semana de degradação, que se manteve praticamente constante até 4 semanas, indicando que a degradação da PPD é mais rápida no início do processo [ASSIS et al., 1988]. O aumento da entalpia de fusão significa um aumento na cristalinidade do material, característica desses poliésteres, devido à cisão das ligações e consequente diminuição da massa molar.

A Figura 25 apresenta o ΔH_m do PLLA para todas as blendas no primeiro aquecimento. Observa-se que o ΔH_m aumenta em função do tempo de degradação para todas as blendas e para os polímeros puros. Até duas semanas, verifica-se um aumento mais acentuado do ΔH_m , indicando que a degradação é mais rápida no início do processo. Após esse período, o ΔH_m continua a aumentar, mas não tão significativamente. Como as curvas foram normalizadas, é possível perceber, que no início do processo, quanto maior a quantidade de PPD, mais acentuada é o aumento do ΔH_m do PLLA. O aumento de ΔH_m indica um aumento no grau de cristalinidade [DUEK et al., 1999] [LIN et al., 1993] [GRUPMA, 1993]. Desta forma, as curvas do ΔH_m do PLLA em função do tempo de hidrólise ilustram a dependência do grau de cristalinidade do PLLA com o tempo de degradação. Estes resultados estão de acordo com os dados relatados na literatura com respeito ao aumento da cristalinidade do PLLA [TSUJI & IKADA, 2000] [TSUJI & IKADA, 1997].

LIN et al., (1993) e SABINO et al., (2000) relataram que após a hidrólise em solução tampão fosfato, o grau de cristalinidade da PPD também aumentou. CHU & BROWNING, (1988) também observaram aumento de cristalinidade para o PGA, após a degradação hidrolítica.

O aumento da cristalinidade do PLLA com o tempo de degradação foi atribuído a cisões hidrolíticas dos segmentos das cadeias localizados inicialmente na parte amorfa. Tais cisões resultam em um menor envelhecimento dos segmentos de cadeia localizados nas regiões amorfas.

Na **Figura 26** pode-se constatar uma diminuição da T_m do PLLA para todas as blendas em função do tempo de degradação, concordando com os resultados da literatura [TSUJI & IKADA, 2000] [TSUJI & IKADA, 1997] [MIGLIARESI et al., 1994] [PISTNER et al., 1993] [VERT & GARREAU, 1991] [LI et al., 1990]. Por exemplo, na blenda 20/80 (**Tabela 8**) a T_m do PLLA (primeiro aquecimento) decresce de 177 para 165 °C após 15 semanas de degradação. Para o PLLA homopolímero (**Tabela 7**) a T_m do PLLA diminui de 178 para 169 °C, após 10 semanas de degradação.

Estes resultados podem ser explicados pelo fato de que com as cisões hidrolíticas dos segmentos das cadeias ocorre uma recristalização, onde novos cristais são formados, provavelmente com menor interação entre as cadeias, fazendo com que ocorra a fusão dos cristais a uma temperatura mais baixa.

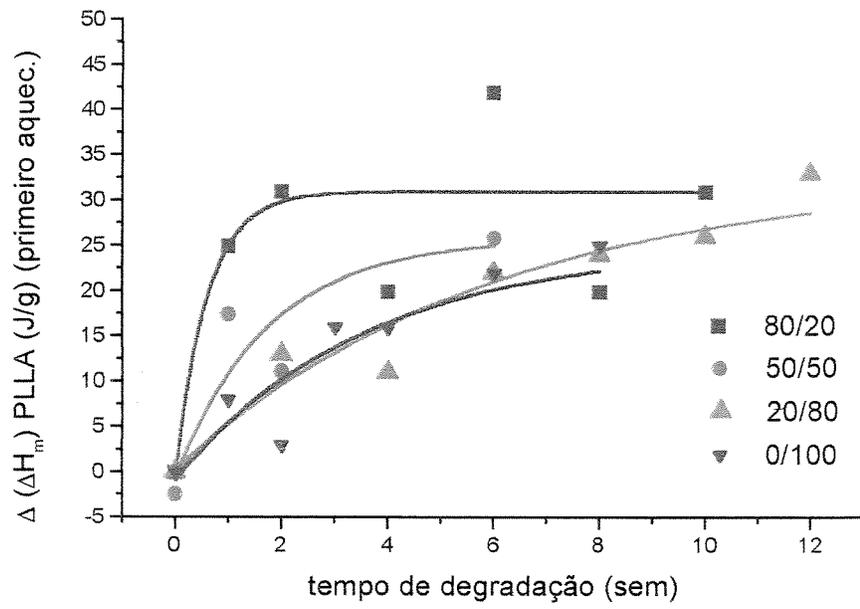


Figura 25. Variação de (ΔH_m) do PLLA para as amostras de blendas PPD/PLLA obtidas por evaporação de solvente em função do tempo de degradação, determinados a partir de curvas de DSC (primeiro aquecimento).

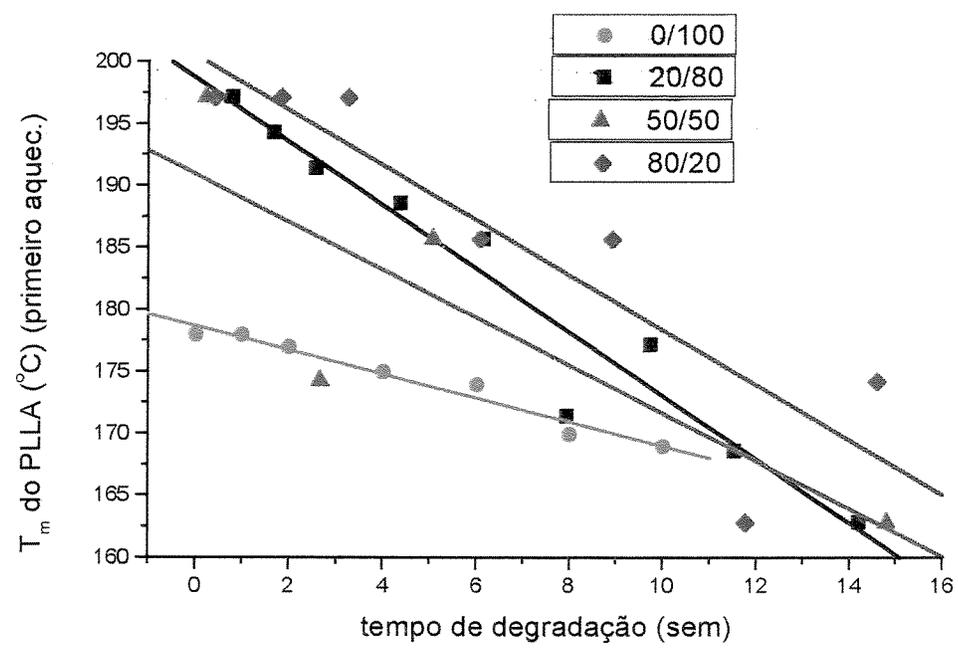


Figura 26. T_m do PLLA para as amostras de blendas PPD/PLLA obtidas por evaporação de solvente em função do tempo de degradação, determinados a partir de curvas de DSC (primeiro aquecimento).

Após algumas semanas de degradação, observa-se o desaparecimento do ΔH_c do PLLA e da PPD, no segundo aquecimento, para as blendas 0/100 e 20/80 (Tabelas 7 e 8). Na Figura 27, o ΔH_c do PLLA da blenda 0/100 é verificado até duas semanas, enquanto que na Tabela 8 (blenda 20/80), o ΔH_c de ambos os polímeros é observado somente até 6 semanas. Isto pode ser explicado, com o aumento da degradação ocorre um rearranjo das cadeias poliméricas, formando novos cristais e resultando no aumento do grau de cristalinidade, conforme já verificado através do aumento do ΔH_m . Após algumas semanas de degradação, diminui a possibilidade de formar cristais durante o segundo aquecimento, pois o material já se encontra mais cristalino.

Para as blendas 80/20 e 80/20 com 3% de trietil citrato de sódio (Tabelas 10 e 11) há evidências de um segundo pico de fusão para a PPD, o qual se separa do primeiro em função do tempo de degradação. Isto pode ser observado nas curvas de DSC, apresentadas na Figura 28 para a blenda PPD/PLLA (80/20). Uma explicação para este resultado é que pode estar ocorrendo recristalização dos cristais de PPD durante a corrida do DSC [TSUJI & IKADA, 1997]. Pode-se verificar que isto ocorre somente nas blendas com alta concentração de PPD.

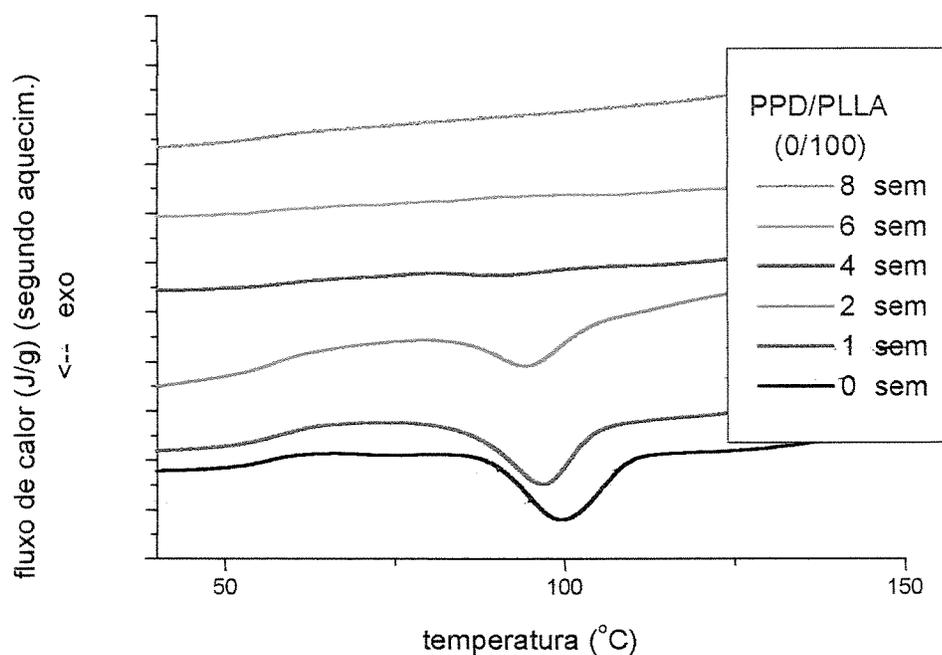


Figura 27. Curvas de DSC (segundo aquecimento), mostrando a cristalização do PLLA para a blenda PPD/PLLA (0/100) obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro*.

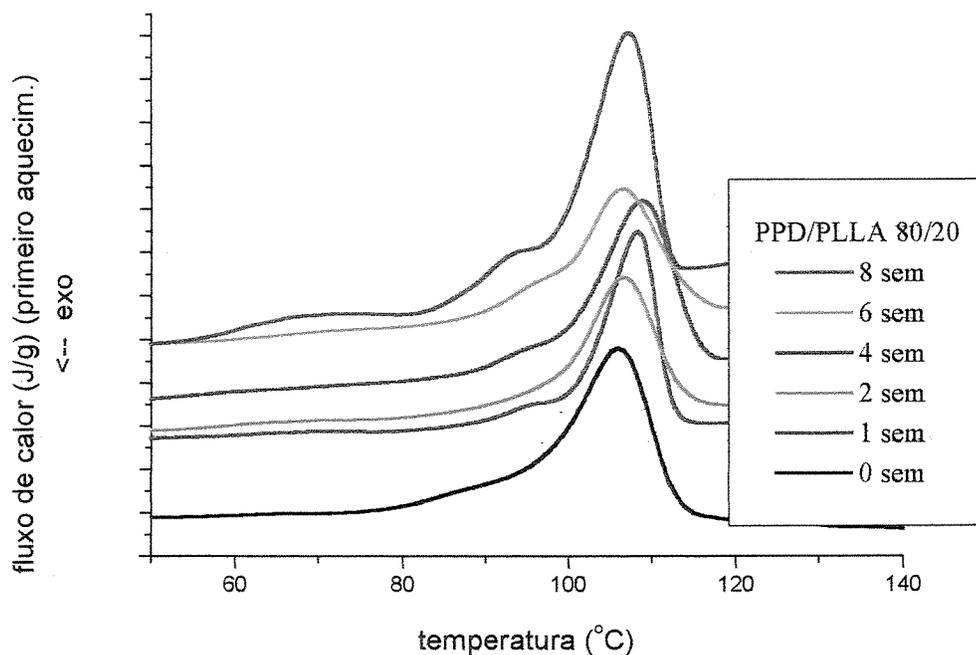


Figura 28. Curvas de DSC (primeiro aquecimento), mostrando a fusão da PPD para a blenda PPD/PLLA (80/20) obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro*.

[PEZZIN et al., 2001] explicaram a ocorrência de dois pontos de fusão para PPD, através da obtenção do fluxo de calor não reversível para uma corrida única (aquecimento) de uma amostra cristalizada a 75 °C por 60 min (**Figura 29**). Foram observados fortes e múltiplos efeitos exotérmicos nesta curva, comprovando a ocorrência de recristalização.

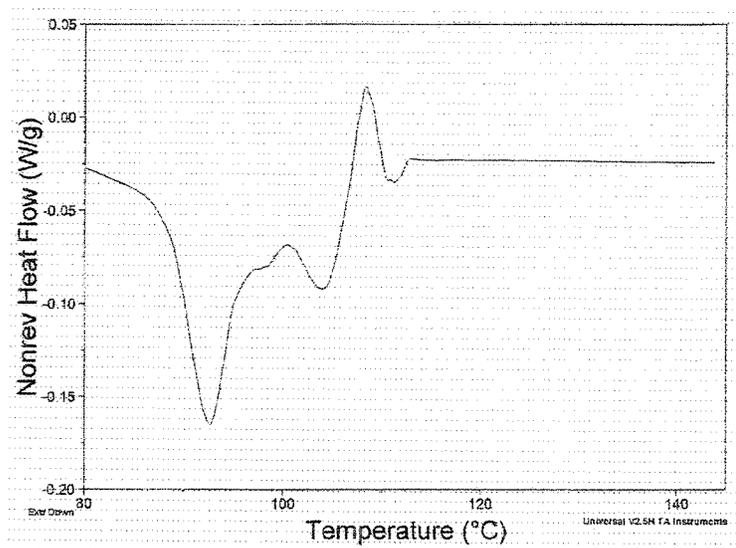


Figure 29. Curva de fluxo de calor não reversível da PPD cristalizada a 75°C por 60 min obtida por MDSC [PEZZIN et al., 2001].

Esse interessante resultado foi relatado na literatura por TSUJI & IKADA, (1997) para o PLLA, entretanto não está de acordo com o resultado obtido por SABINO et al., (2000). Este último observou dois picos de fusão bem diferenciados para a PPD antes da degradação, os quais tendem a se aproximar um ao outro após 6 semanas de degradação, e tornam-se apenas um pico após 8 semanas.

A degradação dos poliésteres alifáticos tanto *in vitro*, quanto *in vivo*, foi investigada por muitos autores. A degradação do PLA e PGA foi revisada por KOPECEK & ULBRICH (1983), HOLLAND & YASIN (1986) e LEWIS (1990). A degradação do PCL foi estudada por PITT & SCHINDLER, (1983). Sabe-se que a massa molar, a polidispersividade, o grau de cristalinidade, a morfologia, a história térmica e a geometria dos polímeros são fatores que influenciam consideravelmente a taxa de degradação [DUMITRIU, 1996]. Polímeros com massa molar mais baixa degradam mais rápido que os de massa molar mais alta [LINDHARDT, 1988] e os polímeros ramificados degradam muito mais rápido do que os lineares. Entretanto, nenhuma

explicação adequada foi dada para este fenômeno [KISSEL, 1991]. Contudo, o mecanismo da degradação não está totalmente compreendido. Um estudo mais detalhado sobre a degradação do PLLA, descrito por VERT et al., (1991), mostra que esse fenômeno ocorre de maneira heterogênea, sendo mais rápido nos domínios amorfos do que nos cristalinos e mais rápido no interior do que na superfície, devido a uma auto-catálise ácida. O entendimento da degradação preferencial no interior é baseado no estudo *in vitro*, mimetizando o meio fisiológico. O polímero é imerso em um meio aquoso, onde ocorre a absorção de água e inicia-se a clivagem hidrolítica das ligações ésteres, ocasionando uma diminuição da massa molar. No início, a degradação é mais rápida na superfície do que no centro, devido ao gradiente de absorção de água. Os produtos da degradação são formados tanto na superfície quanto no centro, mas aqueles localizados perto da superfície dissolvem-se mais facilmente no meio, pois os localizados no interior devem difundir-se através da massa. Logo, a concentração de grupamentos carboxílicos ácidos aumenta muito mais no interior do que na superfície, catalisando a degradação [PITT & SCHINDLER, 1980].

WOODWARD et al. (1985), ao estudar a degradação do PCL, propuseram que esta ocorre em dois estágios discretos. O primeiro envolve a hidrólise não enzimática das ligações ésteres, autocatalisada pelos grupos carboxílicos terminais dos polímeros, e no segundo estágio o polímero adquire elevada cristalinidade e diminuição da massa molar. O aumento da cristalinidade com o aumento da degradação pode ser explicado devido a um rearranjo das cadeias menores, geradas pelo próprio processo de degradação com a formação de novos cristais [DUEK et al., 1999]. Esta explicação está de acordo com a explicação dada por VERT et al., (1991). Outros autores acreditam que o grau de cristalinidade aumenta, pois a parte amorfa se degrada primeiro, permanecendo uma maior porcentagem da fase cristalina [LEENSLAG et al., 1987].

4.3.1.2. Análise termogravimétrica (TGA)

As blendas obtidas por evaporação de solvente foram analisadas por TGA para avaliar o grau de degradação das mesmas. Nos termogramas, observa-se um único estágio de perda de massa para os dois homopolímeros. A **Tabela 13** ilustra os dados obtidos por TGA para todas as blendas. Comparando-se os valores de T_i da PPD (temperatura em que se inicia o estágio de

perda de massa da PPD) em função do tempo de degradação, verifica-se um decréscimo nesse valor para a PPD homopolímero, confirmando o processo de degradação. Observa-se que essa degradação é rápida no início do processo, após 2 semanas (um decréscimo de 7 %), e após 4 semanas, manteve-se estabilizada, confirmando os resultados obtidos por DSC. Este mesmo comportamento é observado também para os valores de Td da PPD (temperatura em que a derivada da curva de perda de massa é máxima).

Analisando a Ti do PLLA após 4 e 6 semanas, observa-se um aumento pouco significativo de 7 °C após 4 semanas, que se mantém constante após 6 semanas, o que indica que praticamente não se iniciou a degradação do PLLA homopolímero até 6 semanas em tampão fosfato.

Verifica-se que a temperatura onde o PLLA inicia o processo de perda de massa (Ti = 334 °C), é bastante superior à da PPD (Ti = 258 °C). As blendas 20/80, 50/50 e 80/20 apresentaram dois estágios de perda de massa, sendo o primeiro atribuído à PPD e o segundo atribuído ao PLLA. Ao compararmos a Ti do PLLA para as blendas PPD/PLLA 0/100 e 20/80, verifica-se que a adição de 20 % de PPD à blenda, diminui a Ti do PLLA em 12 % após quatro semanas de degradação (**Figura 30**). A diminuição da Ti do PLLA indica que o aumento da concentração de PPD acelera a degradação do PLLA.

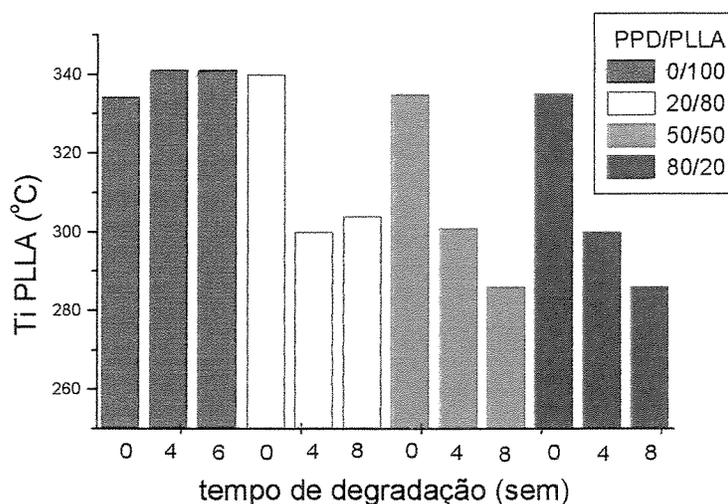


Figura 30. Temperatura do início do estágio de perda de massa (Ti) do PLLA para as amostras de blendas PPD/PLLA preparadas por evaporação de solvente em função do tempo de degradação, determinadas a partir de termogramas de TGA.

Tabela 13. Dados determinados por TGA para as blendas PPD/PLLA obtidas por evaporação de solvente e degradadas *in vitro*.

PPD/PLLA (0/100)	Ti PPD (°C)	Ti plast (°C)	Ti PLLA (°C)	Td PPD (°C)	Td plast (°C)	Td PLLA (°C)
0 semanas	---	---	334	---	---	364
4 semanas	---	---	341	---	---	367
6 semanas	---	---	341	---	---	366
PPD/PLLA (20/80)						
0 semanas	284	---	340	301	---	362
4 semanas	222	---	300	241	---	327
8 semanas	209	---	304	230	---	335
PPD/PLLA (50/50)						
0 semanas	280	---	336	314	---	354
6 semanas	234	---	292	255	---	304
PPD/PLLA (80/20)						
0 semanas	280	---	335	312	---	342
4 semanas	240	---	301	269	---	307
8 semanas	235	---	286	256	---	294
PPD/PLLA (80/20) 3%p						
1 semana	284	231	302	272 / 288	252	305
2 semanas	259	231	287	270	252	289
4 semanas	256	*	*	269	*	*
PPD/PLLA (100/0)						
0 semanas	258	---	---	277	---	---
2 semanas	239	---	---	258	---	---
6 semanas	237	---	---	257	---	---
8 semanas	230	---	---	247	---	---

Ti = temperatura onde se inicia o estágio de perda de massa “onset”

Td = temperatura onde a derivada da curva é máxima

* = difícil visualização

O acréscimo de 50 % de PPD à blenda, acelera a degradação do PLLA em 14 % após 6 semanas. Entretanto, com 80 % de PPD na blenda, a variação encontrada após 4 semanas foi a mesma, ou seja, 12 %.

A blenda com plastificante possui 3 estágios de perda de massa, sendo um estágio referente à PPD, outro referente ao PLLA e um terceiro estágio, que ocorre em $T_i = 232\text{ }^\circ\text{C}$ e $T_d = 259\text{ }^\circ\text{C}$, o qual é atribuído à perda de massa do trietil citrato de sódio (plastificante).

4.3.1.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As morfologias dos filmes antes e após o processo de degradação, foram analisadas por MEV e se encontram na sessão 4.3.1.4. As Figuras 31a e 31b, mostram, respectivamente, a superfície superior da membrana de PPD homopolímero, que apresenta uma superfície irregular composta por glóbulos pontiagudos, antes e após 6 semanas em tampão fosfato. A Figura 31c mostra a superfície da fratura da membrana após 6 semanas de degradação enquanto a Figura 31d mostra a superfície superior da PPD, após 8 semanas de degradação. O aparecimento de trincas ocorre após 2 semanas e assumindo uma significativa proporção após 6 semanas. Essas trincas podem ser verificadas também na superfície da fratura. Após 8 semanas a PPD já se encontra completamente degradada.

A Figura 32 mostra a superfície da membrana de PLLA homopolímero, após 1, 2, 6 e 10 semanas de degradação, na qual não se observa trincas ou rachaduras até este período. Estes resultados comprovam que a PPD degrada muito mais rápido que o PLLA. Macroscopicamente, a aparência das amostras muda durante a degradação. Após 6 semanas de degradação, observa-se que as amostras tornam-se embranquiçadas. NIJENJUIS et al., (1996) atribuíram este fato à recristalização dos polímeros.

As blendas em todas as composições foram estudadas *in vitro*, mas serão discutidos dois casos representativos, que são as blendas PPD/PLLA 80/20 e 20/80. Enquanto a blenda 80/20 é formada por esferas de PLLA dispersas em uma matriz de PPD, o oposto ocorre com a blenda 20/80, que é constituída por esferas de PPD dispersas em uma matriz de PLLA (Figura 33). Ao compararmos as micrografias de superfície inferior das duas composições, após a degradação, observa-se uma diferença significativa quanto ao mecanismo de degradação destas blendas.

A **Figura 33** mostra que a degradação da blenda 80/20 inicia-se pela matriz, composta de PPD. Após 2 semanas, já é possível observar o aparecimento de algumas trincas (**Figura 33a**). A **Figura 33b** mostra a superfície superior da blenda após 4 semanas, onde pode-se observar que a blenda 80/20 apresenta uma matriz de PPD menos estável composta por esferas de PLLA ancoradas na mesma. Após 6, 8 e 10 semanas, a blenda apresenta-se completamente degradada (**Figuras 33d, 33f, 33h**). É interessante notar, que apesar da matriz estar bastante degradada, as esferas de PLLA apresentam-se praticamente intactas. Por outro lado, o mecanismo de degradação da blenda 20/80 é completamente diferente. Como a matriz é formada por PLLA, que possui uma taxa de degradação mais lenta que o PPD, o processo de degradação desta blenda inicia-se nas esferas de PPD e não na matriz. Após 4 semanas, as esferas começam a se “destacar” da matriz (**Figura 33a**). Após 6 semanas, não se observa uma variação significativa da degradação (**Figura 33c**). Com 8 semanas, uma boa parte das esferas de PPD já se “destacaram” (**Figura 33e**), sendo completamente removidas após 12 semanas, de forma que a superfície da amostra apresenta-se cheia de buracos (**Figura 33g**). A **Figura 34** mostra que o mecanismo de degradação é o mesmo para a blenda de composição 50/50, onde pode-se verificar que após 6 semanas, o domínio atribuído à PPD apresenta várias rachaduras, enquanto que o domínio do PLLA ainda permanece intacto. As superfícies de fratura das blendas PPD/PLLA 20/80, após uma semana e 80/20, após 2 semanas (**Figura 35**), mostram que na parte interna da membrana, a degradação ocorre mesmo pelo mecanismo citado acima.

Ao compararmos as micrografias das **Figuras 33b, 34 e 33d** referentes, respectivamente, às blendas PPD/PLLA 20/80, 50/50 e 80/20, após 6 semanas de degradação, observa-se que o aumento da concentração de PPD acelera a degradação da mesma.

As técnicas de DSC e TGA permitiram quantificar que a degradação da PPD é mais rápida no início do processo e que a PPD degradada muito mais rápido que o PLLA. A degradação acarreta em um aumento do grau de cristalinidade do material, atribuído às cisões hidrolíticas dos segmentos das cadeias localizados inicialmente na parte amorfa. Com as cisões hidrolíticas dos segmentos das cadeias, ocorre uma recristalização, onde novos cristais são formados, provavelmente com menor interação entre as cadeias, fazendo com que ocorra a fusão dos cristais a uma temperatura mais baixa e diminuindo a possibilidade de formar cristais durante o segundo aquecimento, pois o material já se encontra mais cristalino. A análise das micrografias

obtidas por MEV mostra que o processo de degradação das blendas inicia-se sempre pela PPD e nos permite concluir que o aumento da concentração de PPD acelera a degradação da mesma. Estes resultados mostram que é possível controlar a taxa de degradação de uma blenda bioreabsorvível variando-se sua composição.

4.3.1.4. Documentação fotográfica das blendas obtidas por evaporação de solvente
estudo *in vitro*

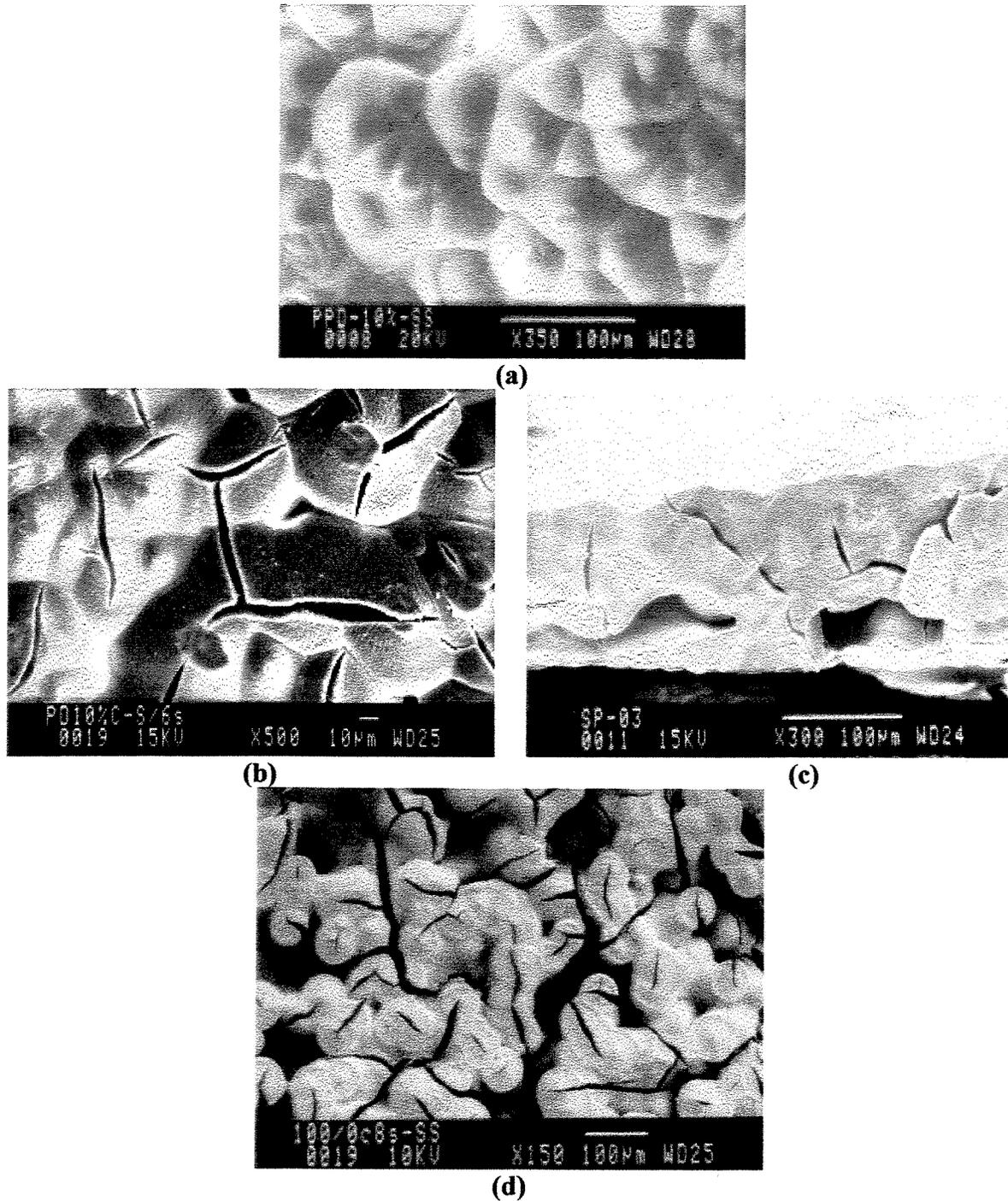
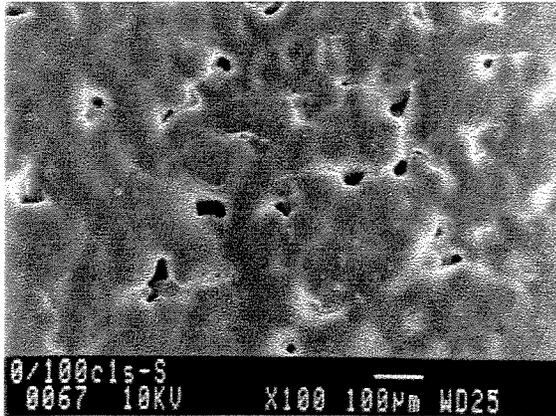
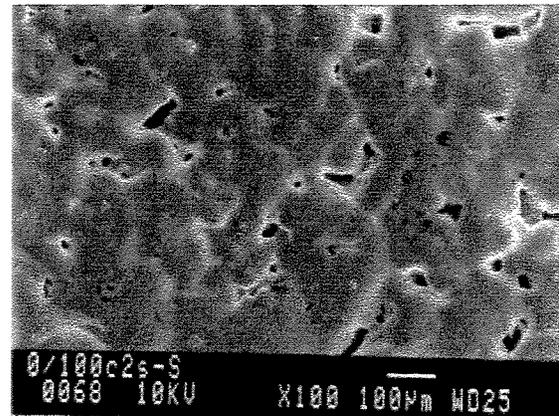


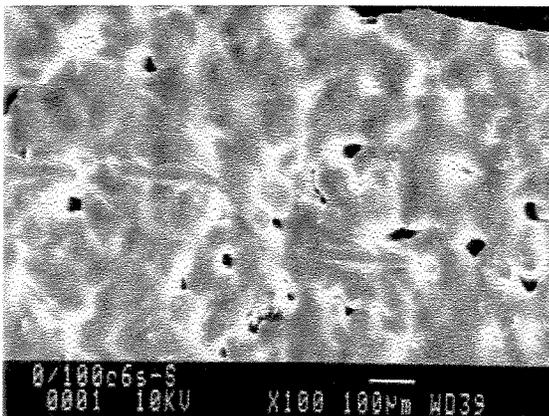
Figura 31. Micrografias de MEV da blenda PPD/PLLA (100/0) obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro*: **a)** superfície superior $t = 0$ sem, **b)** superfície $t = 6$ sem, **c)** superfície de fratura $t = 6$ sem, **d)** superfície superior $t = 8$ sem.



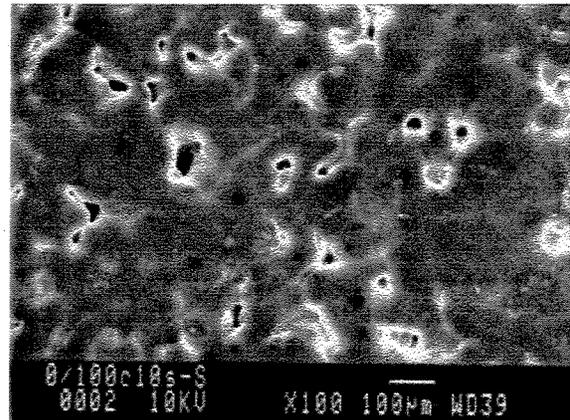
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 32. Micrografias de MEV da superfície superior da blenda PPD/PLLA (0/100) obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro*. **a)** $t = 1$ sem, **b)** $t = 2$ sem, **c)** $t = 6$ sem, **d)** $t = 10$ sem.

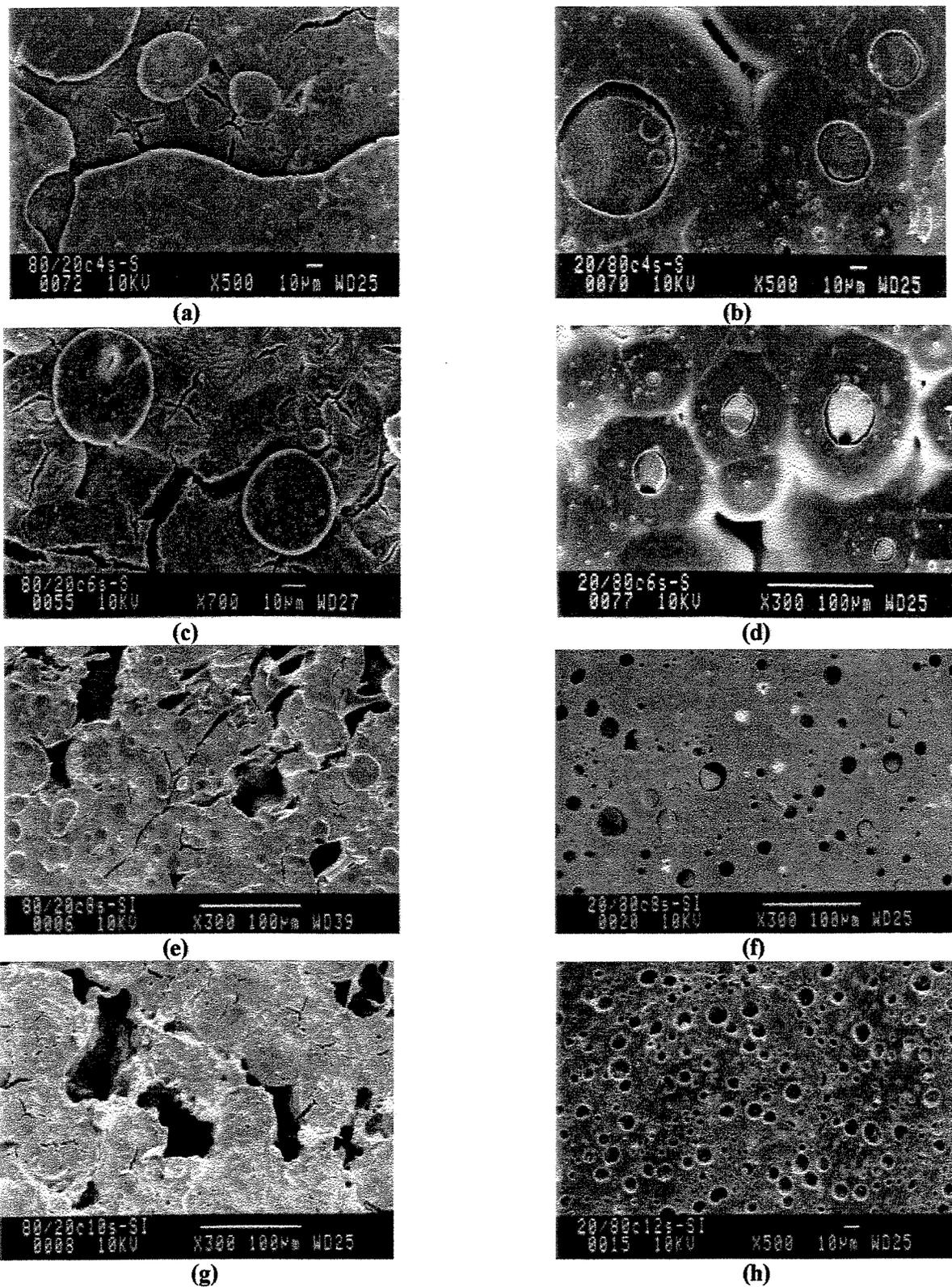


Figura 33. Micrografias de MEV da superfície das blendas PPD/PLLA obtidas por evaporação de solvente e degradadas *in vitro*: **a)** (20/80) $t = 4$ sem, **b)** 80/20 $t = 4$ sem, **c)** (20/80) $t = 6$ sem, **d)** (80/20) $t = 6$ sem, **e)** (20/80) $t = 8$ sem, **f)** (80/20) $t = 8$ sem, **g)** (20/80) $t = 12$ sem, **h)** (80/20) $t = 10$ sem.

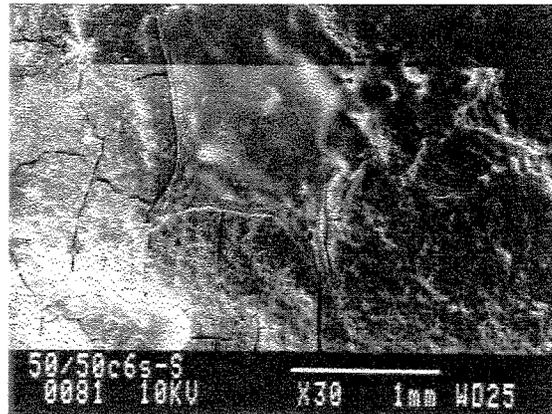
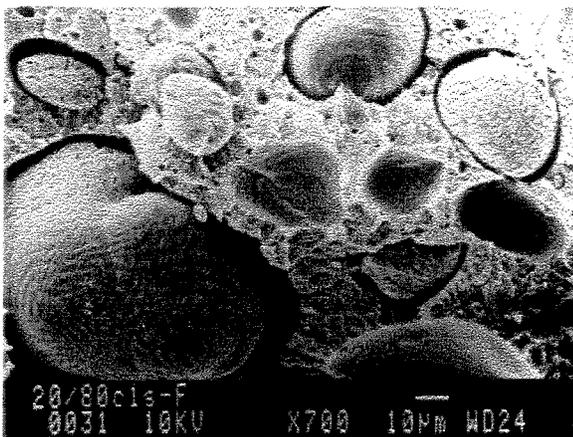
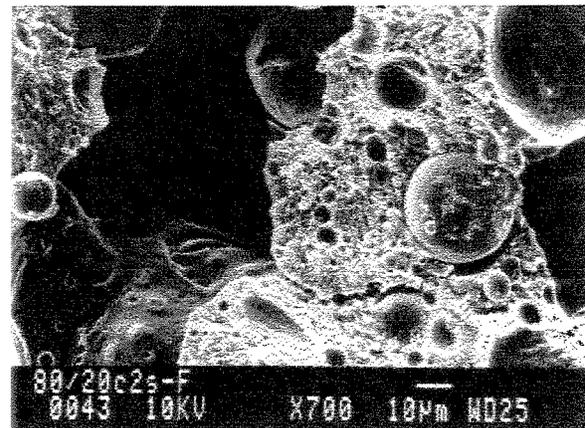


Figura 34. Micrografia de MEV da superfície inferior da blenda PPD/PLLA (50/50) obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro* (t = 6 sem).



(a)



(b)

Figura 35. Micrografias de MEV da superfície de fratura das blendas PPD/PLLA obtida por evaporação de solvente e degradada *in vitro*: **a)** 20/80 t = 1 sem, **b)** 80/20 t = 2 sem.

4.3.2. Blendas preparadas por fusão

4.3.2.1. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As Tabelas 14 a 17, que se encontram no Anexo II, apresentam os dados obtidos por DSC para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão nas composições 0/100, 20/80, 50/50 e 100/0 após 2, 4, 8, 10, 12, 15 e 32 semanas. O mesmo comportamento em função da degradação observado para os filmes preparados por evaporação de solvente também foi verificado para as blendas preparadas por fusão:

- aumento significativo do ΔH_m do PLLA e PPD;
- diminuição das temperaturas de fusão do PLLA e da PPD;
- desaparecimento do ΔH_c do PLLA e PPD;
- aparecimento de dois picos de fusão distintos

A Figura 36 mostra o decréscimo da T_m da PPD em função do tempo de degradação. Os valores de T_m da PPD apresentados na Figura 37 mostram que a degradação é acelerada nos primeiros 10 semanas, mantendo-se praticamente constante após este período. Estes dados concordam com os dados obtidos para as blendas preparadas por evaporação de solvente.

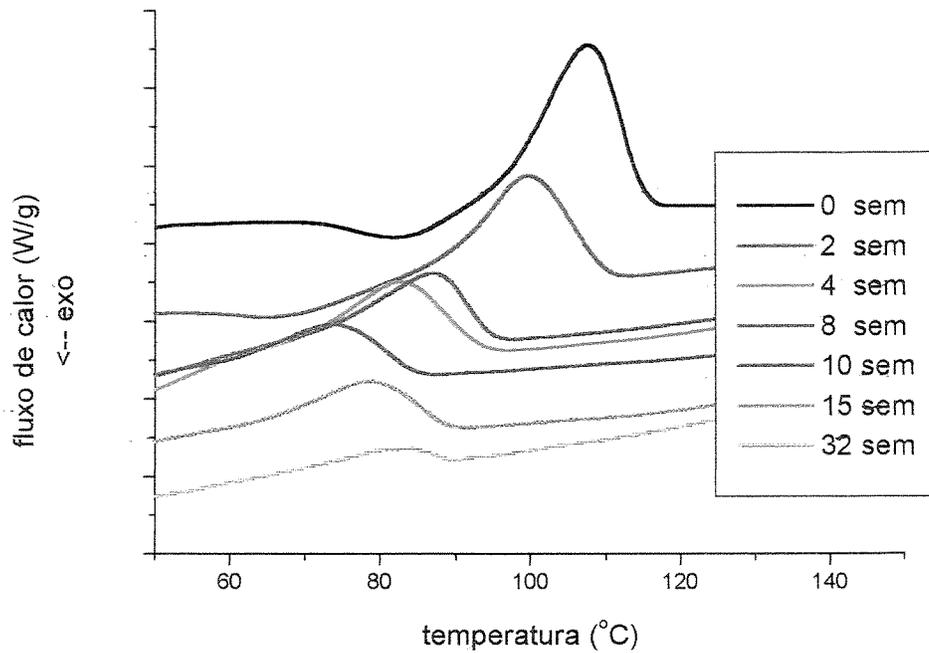


Figura 36. Curvas de DSC (segundo aquecimento) da blenda PPD/PLLA (100/0) obtida por fusão e degradada *in vitro*.

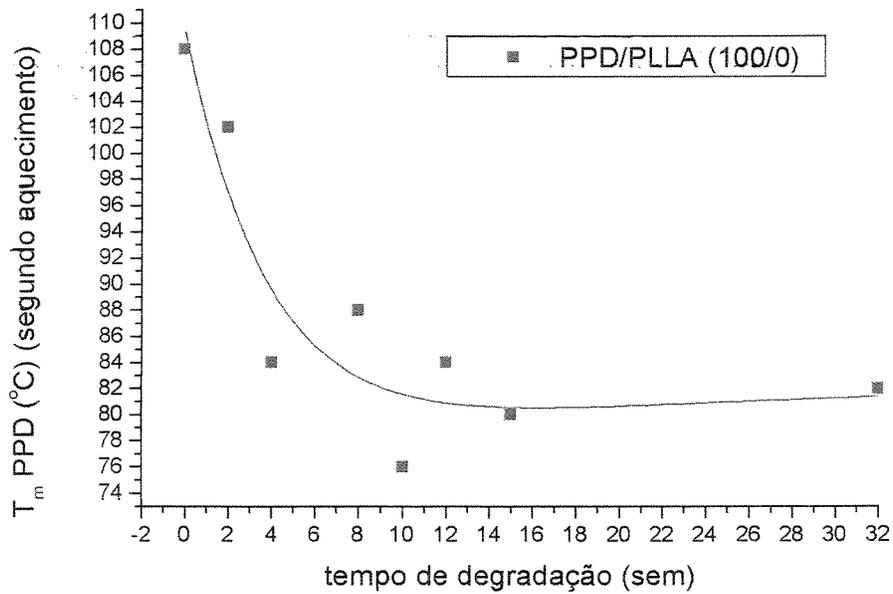


Figura 37. T_m da PPD para as amostras de blendas PPD/PLLA obtidas por fusão em função do tempo de degradação, determinadas a partir de curvas de DSC (segundo aquecimento).

4.3.2.2. Análise termogravimétrica (TGA)

A **Figura 38** mostra as curvas de TGA para as blendas PPD/PLLA 0/100, 20/80, 50/50 e 100/0 preparadas por fusão após a degradação *in vitro*. A **Tabela 18** apresenta os dados obtidos por TGA para todas as blendas. Observa-se um único estágio de perda de massa para os polímeros puros e um decréscimo nos valores de T_i e T_d em função do tempo de degradação. Assim como observado para as membranas, a degradação da PPD é mais rápida nas primeiras semanas. Com os dados da **Tabela 18**, pode-se concluir que de 4 a 8 semanas a T_i da PPD diminui 29,8%, enquanto de 8 a 12 semanas diminui somente 2,9%. Este comportamento pode ser melhor visualizado na **Figura 39**.

Ao contrário da PPD, durante as primeiras semanas o PLLA praticamente não degrada. De 8 para 12 semanas o decréscimo da T_i deste polímero é de 1,2%, enquanto de 12 para 32 semanas o decréscimo é de 11,6%.

As blendas 20/80 e 50/50 apresentam dois estágios de perda de massa, sendo o primeiro atribuído a PPD e o segundo atribuído ao PLLA.

Na **Tabela 18** observa-se que para os homopolímeros, ocorre uma diminuição da T_i e da T_d em função do tempo de degradação, pois com a degradação ocorre quebras dos polímeros em cadeias menores, que iniciam o processo de degradação a uma temperatura mais baixa. Entretanto, para as blendas observa-se um comportamento diferenciado. Para as blendas 50/50 e 20/80, quanto maior o tempo de degradação, maior a T_i e T_d . Este comportamento ocorre devido a degradação da PPD, restando somente PLLA, que apresenta T_i muito maior que PPD. Este comportamento é mais pronunciado na blenda 50/50.

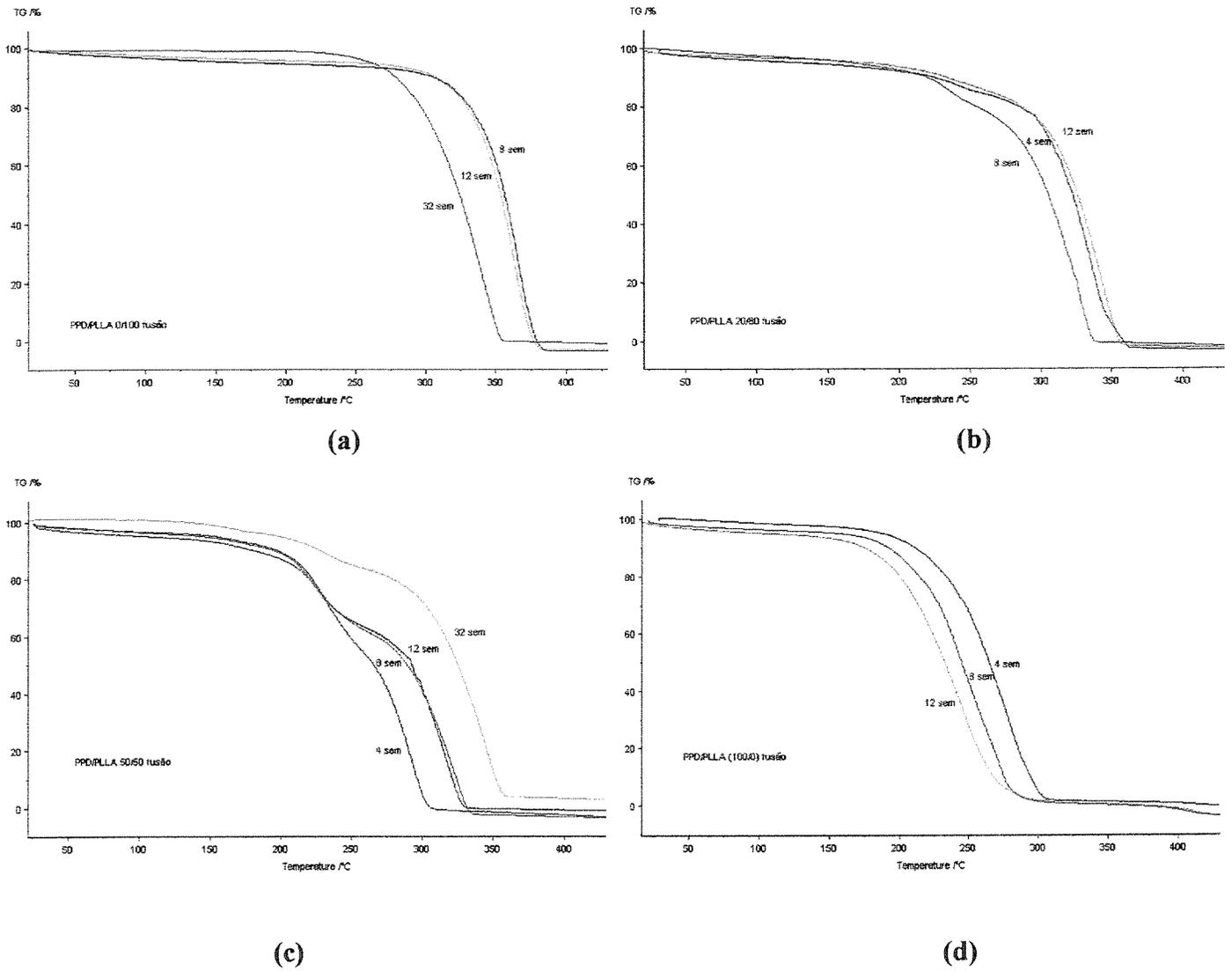


Figura 38. Curvas de TGA das blendas PPD/PLLA (a) 0/100, (b) 20/80, (c) 50/50 e (d) 100/0 obtidas por fusão e degradadas *in vitro*.

Tabela 18. Dados obtidos por TGA para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão.

PPD/PLLA (0/100)	Ti PPD (°C)	Ti PLLA (°C)	Td PPD (°C)	Td PLLA (°C)
8 semanas	---	340	---	366
12 semanas	---	336	---	363
32 semanas	---	297	---	341
PPD/PLLA (20/80)				
4 semanas	224	310	241	339
8 semanas	211	300	236	328
12 semanas	---	314	---	344
PPD/PLLA (50/50)				
4 semanas	210	276	228	322
8 semanas	204	295	224	325
12 semanas	206	293	226	322
32 semanas	199	312	233	346
PPD/PLLA (100/0)				
4 semanas	295	---	333	---
8 semanas	207	---	258	---
12 semanas	201	---	247	---

Ti = temperatura onde se inicia o estágio de perda de massa “onset”

Td = temperatura onde a derivada da curva é máxima

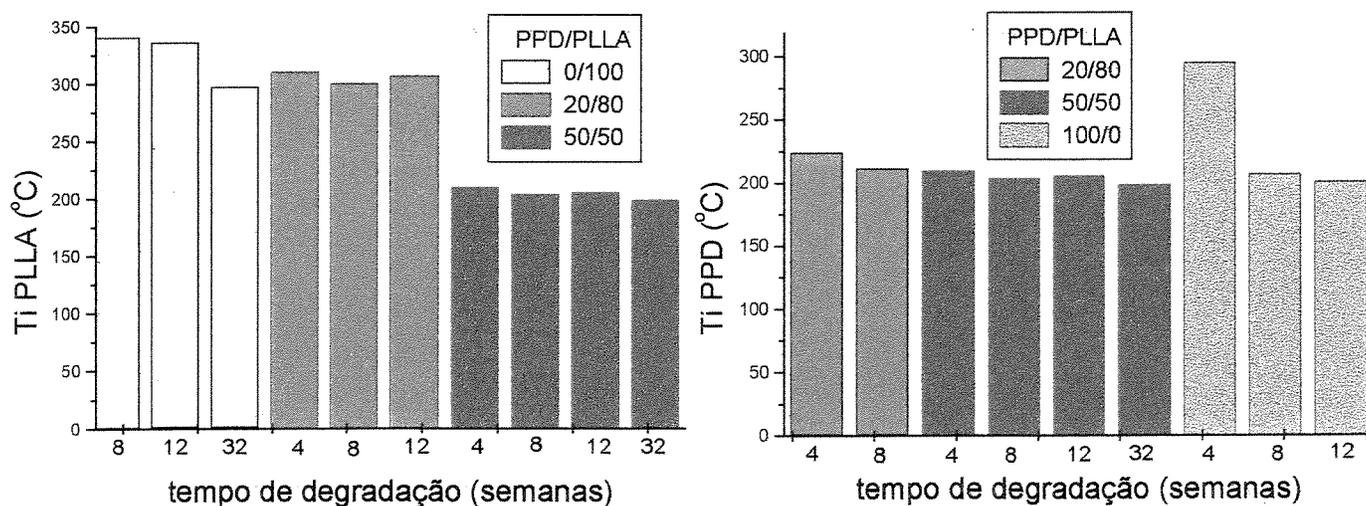


Figura 39. Temperatura do início do estágio de perda de massa (Ti) do PLLA e da PPD nas blendas preparadas por fusão em função do tempo de degradação.

A **Figura 39** mostra que o aumento da concentração de PPD na blenda acelera a degradação do PLLA de maneira significativa. O primeiro gráfico mostra que a Ti do PLLA diminui drasticamente à medida que aumenta o conteúdo de PPD e isto pode sugerir que o acréscimo de PPD à blenda acelera a degradação da mesma.

4.3.2.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras de blendas PPD/PLLA preparadas por fusão no formato de pinos foram degradadas *in vitro*, fraturadas em nitrogênio líquido e observadas ao MEV. As micrografias encontram-se na sessão 4.3.2.4.

Os pinos de PLLA puro não apresentam trincas ou rachaduras até 15 semanas de degradação em solução tampão fosfato. Após 10 semanas observa-se alteração na morfologia e na aparência da amostra. As amostras tornam-se mais embranquiçadas e é nítida a formação de estruturas orientadas radialmente, semelhante a esferulitos, que são mais evidentes após 32 semanas (**Figuras 40a e 40b**). A formação destas estruturas orientadas ocorre devido ao aumento da cristalinidade do material. Após 32 semanas já se observa nítida degradação, aparecimento de rachaduras e fragmentação da amostra (**Figura 40c**).

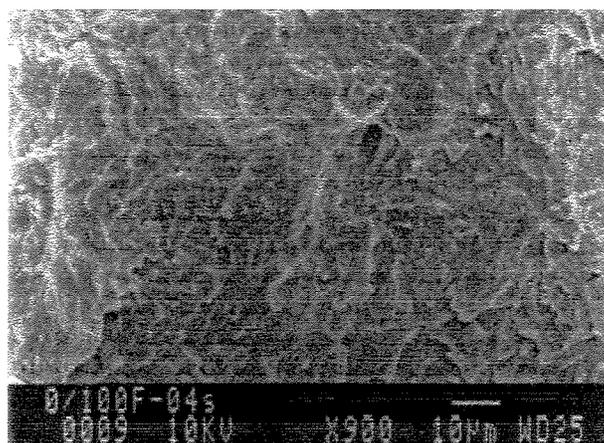
Os pinos de PPD puro, já se apresentam completamente degradados após 8 e 10 semanas de degradação (**Figura 41**), indicando que a taxa de degradação da PPD é muito mais acelerada que do PLLA. Após 10 semanas a amostra torna-se um pó.

Como verificado também para $t=0$, a blenda 20/80 continua apresentando nítida separação entre as fases após 4 semanas. Pequenos glóbulos de PPD ancorados numa matriz de PLLA começam a se "destacar" da matriz (**Figura 42a**). Após 8 e 10 semanas, a blenda apresenta-se porosa, o que indica que a PPD já se degradou, enquanto a matriz de PLLA permanece intacta (**Figura 42b**). O mesmo comportamento de degradação foi observado também para as membranas. O acréscimo de apenas 20% de PPD a blenda acelera bastante a degradação da mesma. Após 12 semanas, observa-se a presença de várias camadas e que a degradação inicia-se da extremidade para o centro, perdendo as camadas

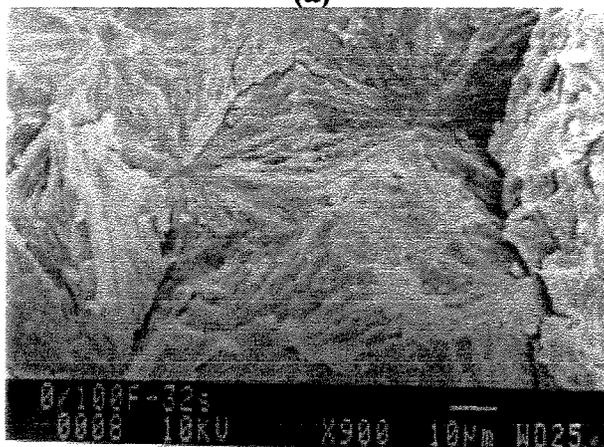
externas (**Figuras 42c e 42d**). Após 32 semanas, observa-se que a parte central dos pinos também se encontram degradadas (**Figura 42e**).

Com 50% de PPD na blenda, a degradação da mesma é ainda mais acelerada. Após 4 semanas, observa-se o aparecimento de rachaduras (**Figura 43a**). Após 10 semanas, pode-se notar alteração na morfologia (**Figura 43b**), formação de estruturas radialmente orientadas, atribuídas ao aumento da cristalinidade do PLLA, devido ao processo de degradação da amostra, como observado também para o PLLA puro. Após 12 semanas é nítida a disposição de camadas nos pinos (**Figura 43c**). Após 15 semanas, observa-se a camada externa sendo desfolhada (**Figura 43d**) e após 32 semanas, além da fragilidade da amostra (**Figura 43e**), nota-se a presença de uma interessante estrutura, cheia de vazios irregulares, referentes à PPD já degradada (**Figura 43f**).

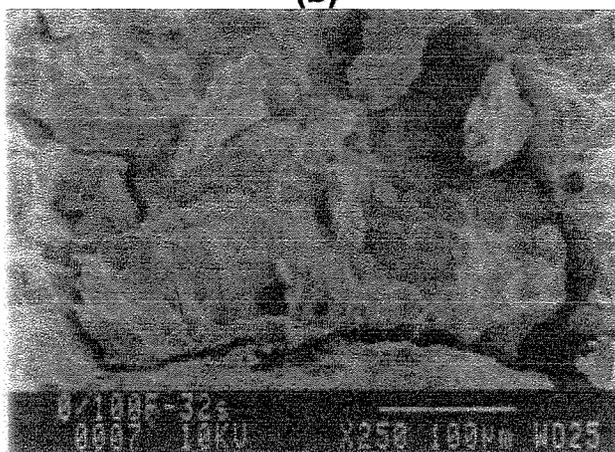
4.3.2.4. Documentação fotográfica das blendas preparadas por fusão - estudo *in vitro*



(a)



(b)

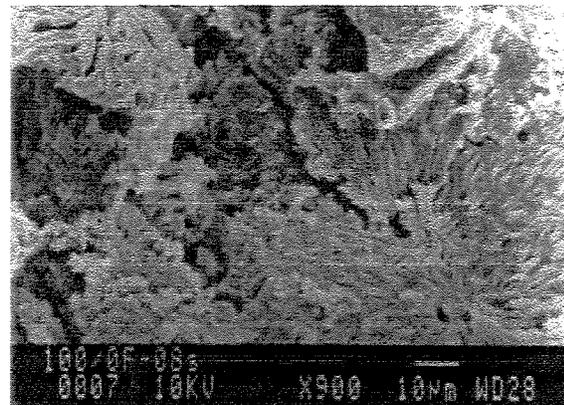


(c)

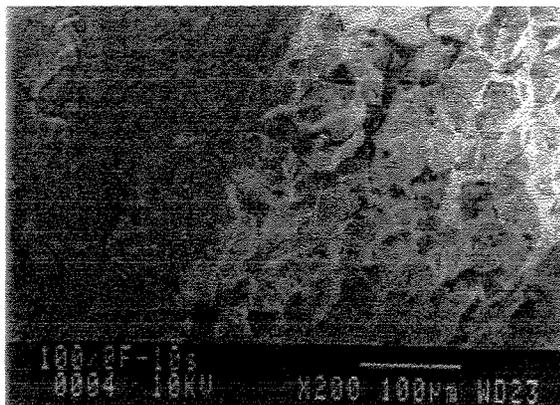
Figura 40. Micrografias de MEV da superfície de fratura da blenda PPD/PLLA 0/100 obtida por fusão e degradadas *in vitro*: a) t = 4 sem, b) t = 32 sem, c) t = 32 sem.



(a)



(b)

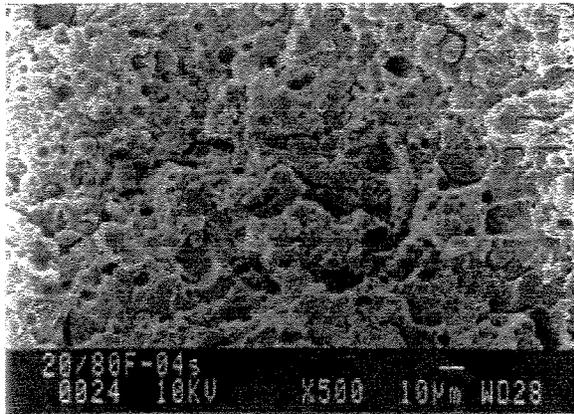


(c)

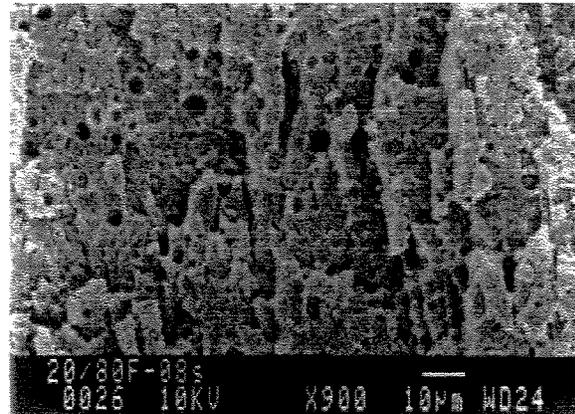


(d)

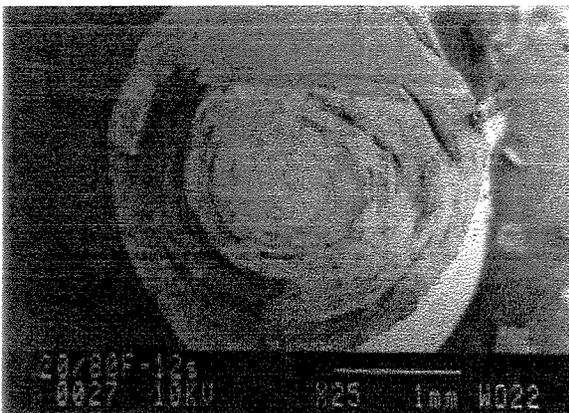
Figura 41. Micrografias de MEV da blenda PPD/PLLA (100/0) obtida por fusão e degradada *in vitro*: **a)** $t = 8$ sem, **b)** $t = 8$ sem, **c)** $t = 10$ sem e **d)** $t = 10$ sem.



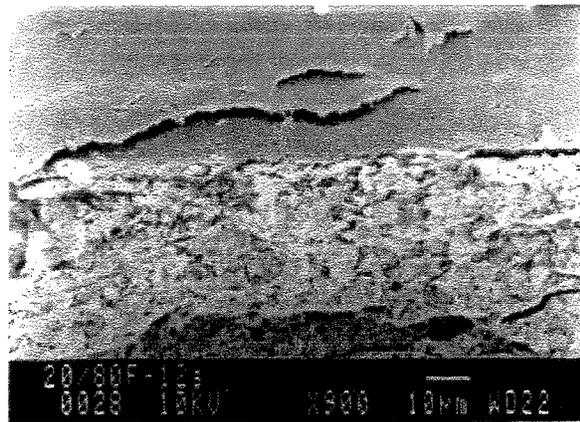
(a)



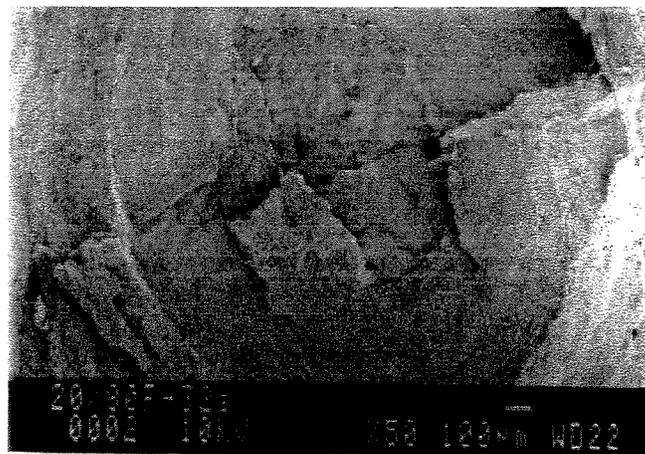
(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 42. Micrografias de MEV da blenda PPD/PLLA (20/80) obtida por fusão e degradada *in vitro*: a) $t = 4$ sem, b) $t = 8$ sem, c) $t = 12$ sem, d) $t = 12$ sem, e) $t = 32$ sem.

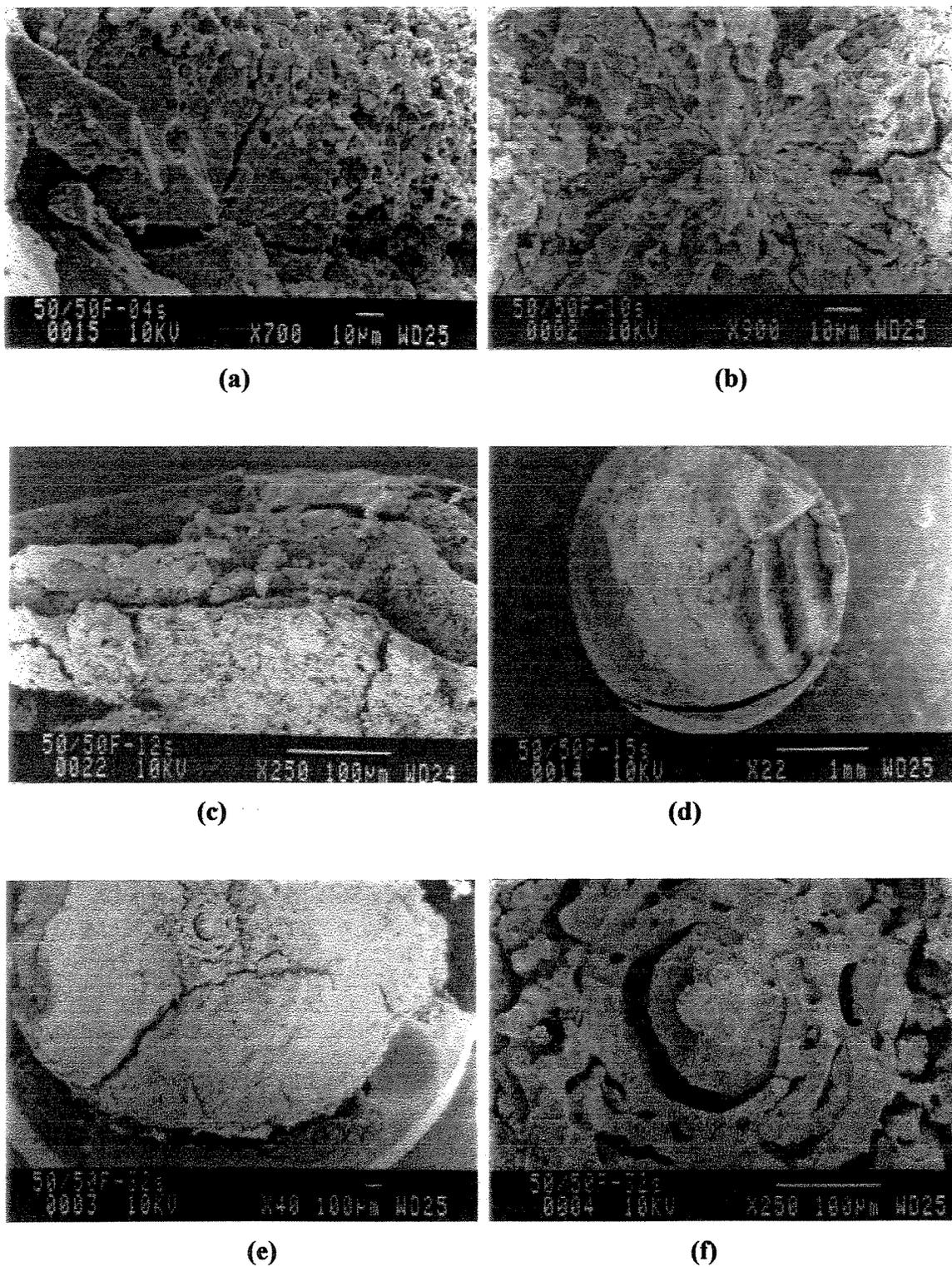


Figura 43. Micrografias de MEV da blenda PPD/PLLA (50/50) obtida por fusão e degradada *in vitro*: **a)** $t = 4$ sem, **b)** $t = 10$ sem, **c)** $t = 12$ sem, **d)** $t = 15$ sem, **e)** $t = 32$ sem, **f)** $t = 32$ sem.

4.4. Estudo *in vivo*

Algumas características fundamentais devem ser atendidas para que o substrato possa ser aplicado como prótese temporária de menisco. Estas características serão discutidas a seguir:

- porosidade
- biocompatibilidade
- resistência mecânica
- flexibilidade
- “design” e tamanho adequado ao menisco de coelho
- substrato para o crescimento de tecido para dentro da mesma

Em primeiro lugar, o substrato deve ser poroso, para permitir a invasão do tecido, pois o crescimento celular ocorre por ancoragem. A interconecção entre os poros e o tamanho destes em função do tamanho de células invasoras também são fatores importantes. Substratos macroporosos têm provado ser muito importantes para a formação de tecido fibrocartilaginoso [de GROOT et al., 1997]. Além disso, deve haver uma boa adesão entre o tecido e o substrato. Outras características importantes são a biocompatibilidade, a taxa de degradação, a resistência mecânica e o “design” apropriado [SOMMERLATH & GILLQUIST, 1992]. A principal dificuldade encontrada quanto a um biomaterial é conciliar suas propriedades físicas, químicas e mecânicas para a funcionalidade do implante com um nível aceitável de reação inflamatória, a qual geralmente é causada por moléculas solúveis ou íons liberados dos materiais utilizados como implantes.

Sabe-se da literatura que o PLLA e a PPD são amplamente utilizados clinicamente em pacientes em uma série de aplicações, sendo considerados biocompatíveis. Estudos pré-clínicos, em animais, mostraram que a sutura flexível de PPD apresenta um período de manutenção da força relativamente longo e previsível. As suturas de PPD exibiram toxicidade mínima, não provocaram tumores, alergias ou pirogenias. Enfim, a performance do PPD após a operação foi considerada excelente, permitindo completa recuperação do ferimento [CHUSAK & DIBBELL, 1983]. Sabe-se também que os polímeros bioreabsorvíveis são excelentes substratos para cultura de células.

O PGA, o PLLA e a blenda PGA/PLLA (90/10) foram investigados quanto à sua afinidade e biocompatibilidade com os condrócitos. Em concentrações acima de 2 mg/mL, o ácido láctico foi considerado menos citotóxico que o ácido glicólico. Pelo equilíbrio do pH, o efeito citotóxico não é devido somente à acidez dos α -hidroxiácidos. De acordo com os produtos de degradação, o ácido glicólico e o L(+) ácido láctico, substratos de PLLA são mais biocompatíveis com os condrócitos humanos que os substratos de PGA [SITTINGER et al., 1996]. Uma morfologia de cartilagem similar foi desenvolvida usando substrato poroso de PGA através de uma cultura *in vitro* de condrócitos bovinos por 12 semanas. As propriedades mecânicas foram similares a cartilagem bovina normal [MA et al., 1995]. O crescimento celular foi aproximadamente duas vezes mais alto inicialmente (menos que dois meses) em matrizes de PGA do que PLLA quando semeadas com condrócitos bovinos, mas após seis meses, a celularidade total foi similar. Inicialmente a diferença foi atribuída ao fato de que o PLLA degrada muito mais devagar e há menos espaço para a proliferação de células [FREED et al., 1993a]. Uma revisão recente mais aprofundada sobre este assunto pode ser encontrada na literatura [TEMENOFF & MIKOS, 2000].

No caso deste estudo, como ambos os polímeros são mecanicamente resistentes, a nossa maior preocupação foi com relação à flexibilidade, à taxa de degradação, aos poros e ao “design”. Como visto nos ensaios mecânicos de tração para os filmes obtidos por evaporação de solvente (Figura 21), a blenda 80/20 foi a que apresentou módulo de rigidez mais baixo, sendo portanto a blenda mais flexível. O estudo *in vitro* indicou que a PPD homopolímero possui uma alta taxa de degradação, sendo inviável colocá-la sozinha na prótese, pois ela seria degradada rápido demais.

Filmes porosos podem ser obtidas por vários métodos, dependendo das características desejadas. Um procedimento comumente utilizado envolve a preparação da solução de polímero com adição de um sal com granulometria controlada. Após a evaporação do solvente e sucessivas lavagens com água para retirada do sal, obtém-se filmes com poros na granulometria especificada pelos grãos de sal [LAM et al., 1994] [BARBANTI, 2001]. No entanto, os filmes obtidos por esta técnica não apresentam regularidade na forma dos poros nem garantem interconecção entre eles, fator importante para a formação de tecidos [MOONEY et al., 1996].

Um estudo recente mostrou que 10 % (m/V) de trietil citrato de sódio (plastificante) adicionado ao PLLA em filmes preparados por evaporação de solvente foi responsável pela promoção de poros interconectados nas mesmas [LUCIANO, 1997]. Por todos estes motivos, foram preparadas três membranas, uma por adição de sal e duas por adição plastificante.

O estudo piloto foi realizado com intuito de definir uma metodologia, como a prótese seria suturada, a dose de anestesia adequada aos coelhos, verificar se a prótese estava sendo invadida pelo tecido fibrocartilaginoso e se o tempo de degradação da prótese estava adequado com o tempo de invasão do tecido, além de estabelecer os tempos mais adequados para o estudo *in vivo* definitivo.

As micrografias do estudo *in vivo* encontram-se na sessão 4.4.4. A Figura 44 apresenta a superfície superior e a superfície de fratura de uma blenda PPD/PLLA 50/50 preparada por adição de sal, com granulometria variando de 180 a 250 μm , enquanto que a Figura 45 ilustra a superfície superior, inferior e a superfície de fratura da blenda PPD/PLLA (80/20) 10% (m/V) 3% de plastificante. Observa-se que a superfície superior é densa enquanto que a superfície inferior é porosa. Isso fica mais fácil de observar na superfície de fratura. Esta blenda foi selecionada, pois as outras mostraram-se mais frágeis.

Além da formação de um novo menisco é necessário também proteger a cartilagem do côndilo femoral. O estudo da cartilagem foi realizado, mas é objeto de estudo de outra tese de Doutorado do Dr Túlio Cardoso. A seguir, serão apresentados e discutidos os resultados referentes ao estudo *in vivo*, no que diz respeito às observações dos coelhos após o implante e à interação prótese/tecido e formação de um neomesnisco.

4.4.1. Avaliação dos coelhos após o implante

Os coelhos foram acondicionados em gaiolas individuais e deixados soltos por algum tempo fora das gaiolas de vez em quando para efeito de observação. Nas duas primeiras semanas após o implante, os coelhos não se locomoveram muito nas gaiolas e não se alimentaram normalmente. Após duas semanas, observa-se uma diminuição no nível de "stress" dos mesmos, seguido de melhora no hábito de se alimentar e na locomoção. Um dos coelhos (macho), com um implante de três semanas, copulou

normalmente com uma fêmea, que veio a engravidar logo depois. Outro coelho, com um implante de 6 semanas, quando fora da gaiola, mostrou um padrão de locomoção idêntico a um coelho normal.

4.4.2. Microscopia óptica (MO)

As **Figuras 46 e 47** mostram que o menisco apresenta fibrocondrócitos alinhados e imersos em uma matriz extracelular com predominância de fibras de colágeno orientadas do tipo I. Este procedimento foi realizado para futura comparação com o neomenisco.

A análise morfológica da prótese após 3 semanas de implante, mostrou invasão de tecido conjuntivo subdividindo a mesma em unidades menores, como mostra a **Figura 48**. Foi observada já a partir de 3 semanas a presença de células gigantes de corpo estranho (macrófagos). A região branca observada na **Figura 49** refere-se à blenda ainda não degradada. Essas regiões birrefringentes compõem os esferulitos da prótese, circundados por fibras de colágeno (coloração laranja-avermelhada). Os esferulitos são observados somente com incidência da luz polarizada, devido à diferença de índice de refração das regiões cristalina e amorfa. Não foram observadas ainda células típicas do menisco normal.

Após 6 semanas verifica-se uma intensa degradação do material e conseqüentemente uma maior invasão tecidual comparado com 3 semanas (**Figura 50**). Ainda não foi possível observar fibrocondrócitos. Com a luz polarizada, observa-se fragmentos da prótese mais dispersos, representado pelas regiões brilhantes na foto (**Figura 51**).

Após 12 semanas ainda se verifica a presença da prótese em algumas lâminas, **Figura 52**. Além disso, ainda observamos a presença de células gigantes de corpo estranho. Por outro lado, nota-se alguns fragmentos da prótese, como pode ser visualizado pela **Figura 53**, com luz polarizada. Em outras lâminas não foi possível encontrar a prótese, mas somente fibrocartilagem, porém, com as fibras colágenas pouco orientadas (**Figuras 54**). A **Figura 55** mostra um detalhe da figura anterior, onde é possível observar que os fibrocondrócitos não estão orientados.

Após 14 semanas foi possível observar fibrocartilagem com as fibras orientadas ao longo dos fibrocondrócitos, **Figura 56**, onde se verifica que a prótese está praticamente degradada. Entretanto ainda foi possível observar pequenos fragmentos brilhantes atribuídos aos esferulitos da prótese. É importante observar a similaridade do padrão de orientação das fibras com o menisco normal (**Figura 47**). A **Figura 57** mostra a presença de fibrocartilagem após 14 semanas com as fibras orientadas ao longo dos fibrocondrócitos.

Dados da literatura comprovam que nem sempre um polímero bioreabsorvível poroso promove a formação de fibrocartilagem. Uma prótese de copolímero de poli(L- ácido láctico) e poli(ϵ -caprolactona) (50/50) foi preparada com diferenças na porosidade e no módulo de compressão. A série I possui 96 % de porosidade, sendo 75 % de microporosidade ($< 50 \mu\text{m}$) e 25 % de macroporosidade (200-400 μm), com módulo de compressão de 40 kPa, enquanto que o copolímero da série II é menos poroso (90%), possui menor microporosidade ($< 50 \mu\text{m}$), maior macroporosidade (200-400 μm) e maior módulo de compressão (100 kPa) [de GROOT et al., 1997]. A série I mostrou um crescimento de tecido fibroso mais rápido para dentro da prótese. Depois de 12 semanas, este crescimento estava completo, enquanto que a série II o crescimento de tecido fibroso se completou após 20 semanas. Embora a série I tenha apresentado um crescimento de tecido fibroso mais rápido, a formação de fibrocartilagem nestes implantes nunca foi observada. Na série II, fibrocartilagem foi observada após 12 semanas. Os autores atribuem a não formação da fibrocartilagem da série I à alta porosidade e ao baixo módulo de compressão.

A literatura descreve vários fatores que afetam a diferenciação. A formação *in vitro* de condrócitos, foi determinada por células mesenquimais [BENJAMIN & EVANS, 1990] [CAPLAN, 1984]. Estas células podem se diferenciar em condrócitos sob certas circunstâncias. A diferenciação foi controlada por densidade celular. Com alta densidade a maioria das células se diferenciaram para condrócitos, com densidade intermediária apenas alguns condrócitos se desenvolveram e com baixa densidade nenhum desenvolvimento foi observado. Foi mostrado também que quando expostas a forças compressivas intermitentes, as culturas de condrócitos de alta densidade mostraram um aumento na produção de fibrocartilagem [VELDHUIZEN et al., 1979] [KIM et al., 1995]. Em adição a isso, condrócitos podem crescer em uma matriz tridimensional de agarose [ARCHER et al., 1990], colágeno [KIMURA et al., 1986] ou scaffold de polímero poroso [FREED et al., 1994], mas se eles crescem em

uma monocamada eles se diferenciam em células com aparência de fibroblastos. Pode ser possível que o implante estimule a condrogênese a partir de células precursoras por alteração local da densidade celular, oferecendo uma matriz tridimensional para crescer e adicionando forças compressivas às células. Quando o defeito não é preenchido com o implante, o tecido reparado apresenta tecido fibroso inferior.

Com o intuito de induzir o crescimento de tecido fibrocartilaginoso e reconstruir o menisco lesado, foi desenvolvida uma prótese porosa de poliuretano linear alifática e implantada em cães [de GROOT et al., 1996]. O autor salienta a importância de se utilizar um material com poros interconectados, para acelerar o crescimento do tecido. Após 18 semanas a prótese continha apenas fibrocartilagem. A degeneração da cartilagem articular diminuiu comparada à meniscectomia, mas ainda foi observada. Além disso, a prótese tinha um módulo de compressão muito baixo e pode produzir 4,4'-diaminodifenilmetano, que é uma substância mutagênica, carcinogênica e muito tóxica. Em um trabalho mais recente o poliuretano-amida e poliuretano-urea foram produzidas sem o uso de solventes orgânicos, com porosidade controlada e boas propriedades mecânicas [SPAANS et al., 2000]. Outros materiais também foram testados para a mesma aplicação, envolvendo copolímeros de ϵ -caprolactona e L-lactídeo, exibindo boas propriedades mecânicas resultantes das sequências de poli(L-ácido láctico) [de GROOT et al., 1997].

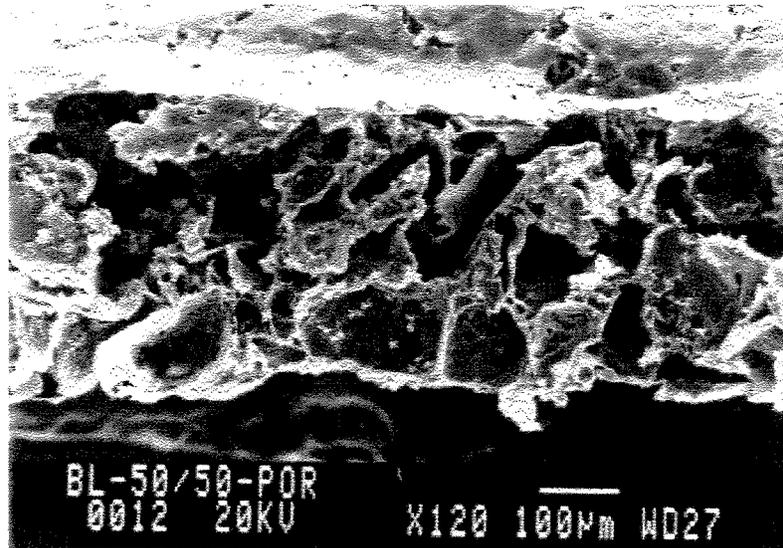
Utilizando um compósito bioreabsorvível à base de colágeno e polidioxanona foi observado um neomenisco após 1 ano em ovelhas [METAK et al., 1997]. Entretanto, as ovelhas não foram sacrificadas antes de 1 ano. Embora já tenha sido observada a formação de um neomenisco, o trabalho não apresenta dados histológicos e o neomenisco formado apresentou propriedades mecânicas inferiores comparado ao menisco normal.

4.4.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

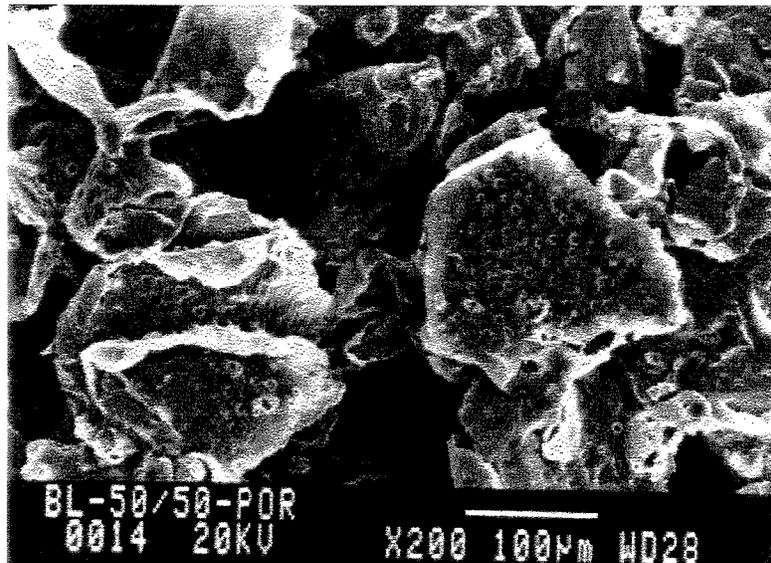
Conforme vimos no estudo *in vitro*, a PPD começa a se degradar mais rápido que o PLLA. Na **Figura 58**, após 3 semanas de implante, observa-se o início do processo de degradação, onde alguns glóbulos da prótese começam a se “destacar” com o aumento da invasão de tecido conjuntivo. Na **Figura 59**, após 6 semanas de implante, observa-se maior invasão do tecido conjuntivo e uma boa

interação tecido/prótese. Com base no estudo *in vitro*, pode-se dizer que na **Figura 60**, a PPD já se degradou e que o tecido ocupou todo o espaço deixado pela mesma. Nota-se a presença de fibras colágenas, já bastante alinhadas e bem interagidas com a prótese. Observa-se que alguns glóbulos aparentemente não sofreram degradação, sendo portanto atribuídos ao PLLA.

4.4.4. Documentação fotográfica do estudo *in vivo*

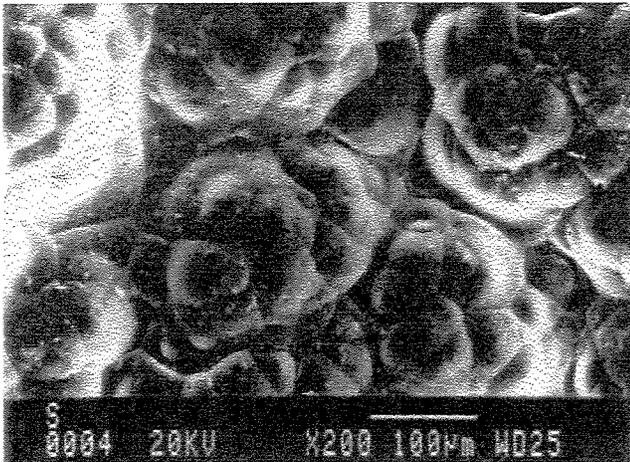


(a)

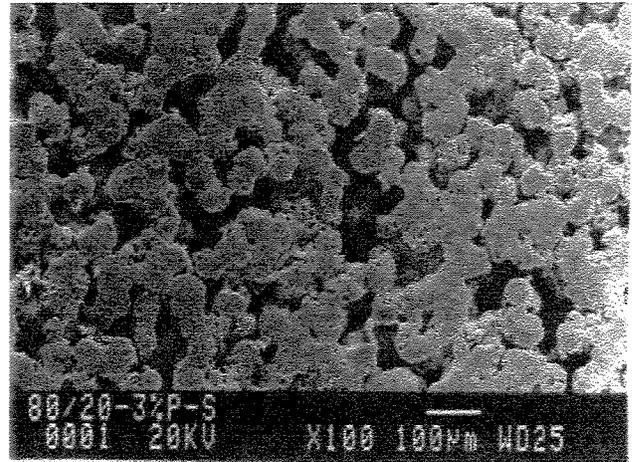


(b)

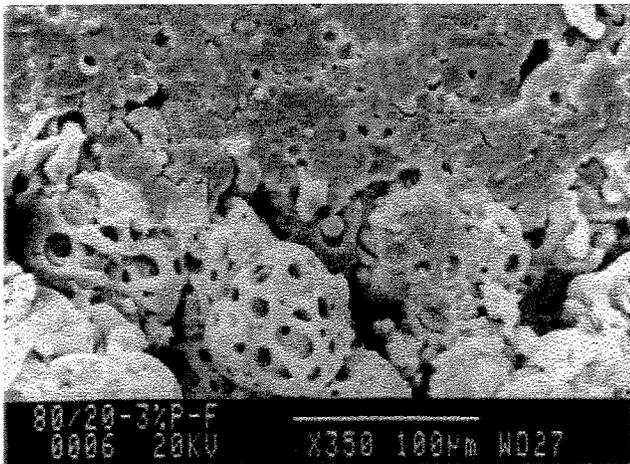
Figura 44. Micrografias de MEV da blenda PPD/PLLA 50/50 preparada com adição de sal com granulometria variando de 180 a 250 µm. **a)** superfície, **b)** superfície de fratura.



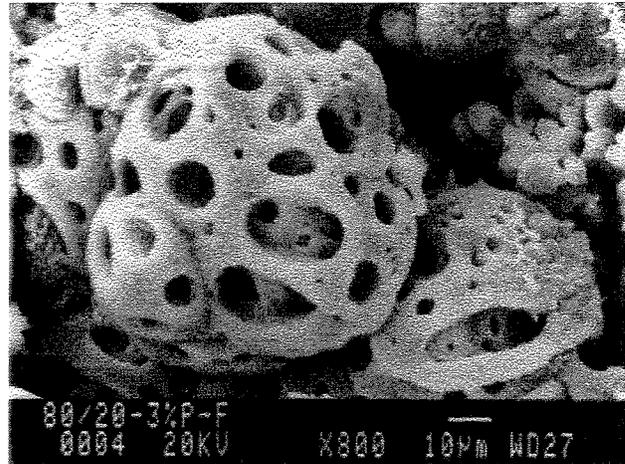
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 45. Micrografias de MEV da blenda PPD/PLLA (80/20) 10 % (m/V) com 3 % de plastificante. a) superfície superior, b) superfície inferior, c) superfície de fratura d) superfície de fratura ampliada da parte porosa.

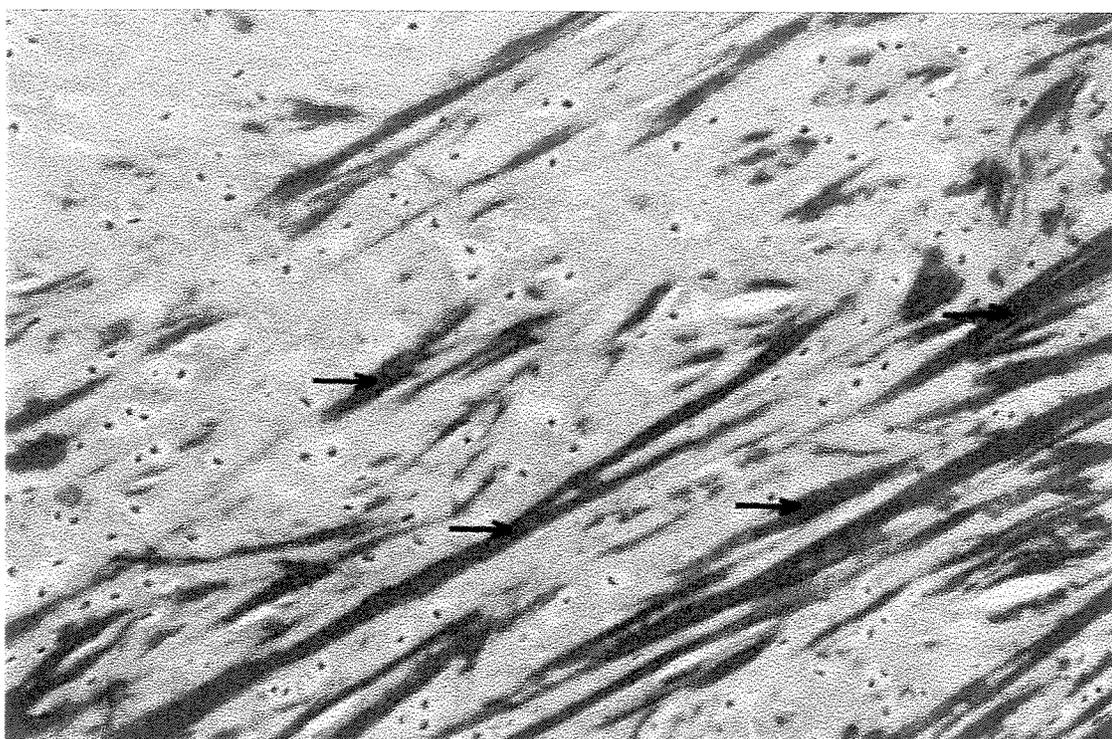
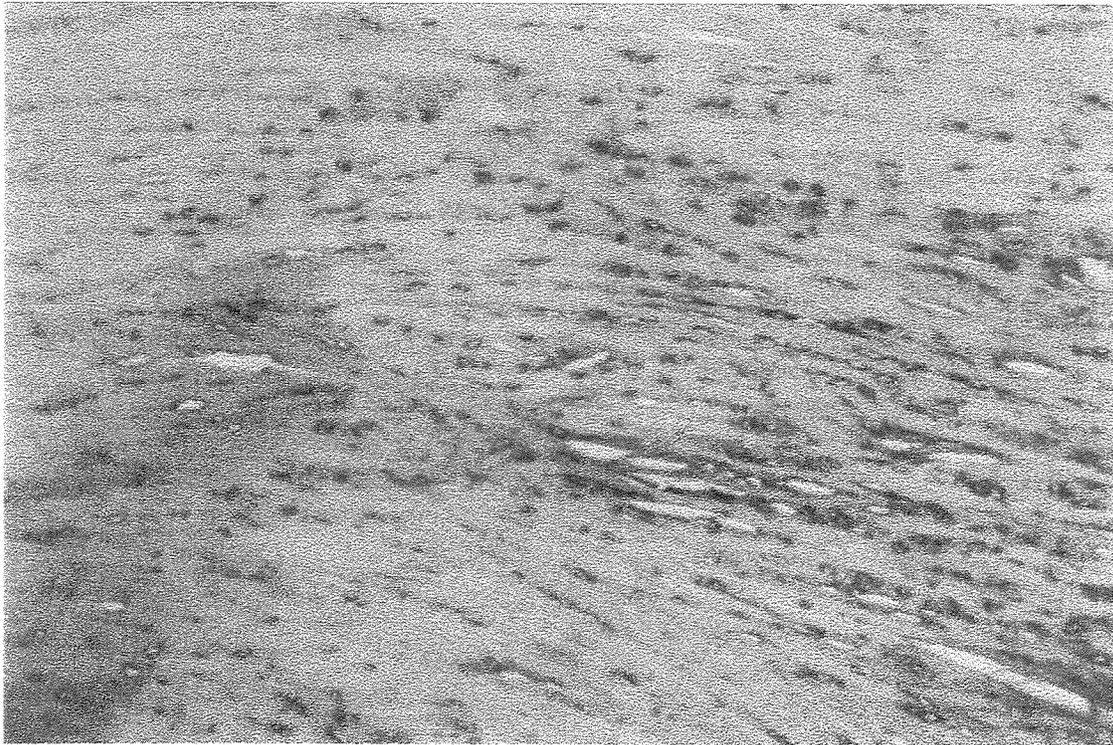


Figura 46. Micrografia de um corte transversal de menisco de coelho, mostrando os fibrocondrócitos, dispersos em uma matriz extracelular e o padrão de orientação das fibras de colágeno (setas). Tricrômico de Masson. 200 x.



(a)



(b)

Figura 47. Micrografias de um corte transversal de menisco de coelho, mostrando o padrão de orientação das fibras de colágeno. **a)** sem polarização, **b)** com polarização. Picrosírius. 100 x.

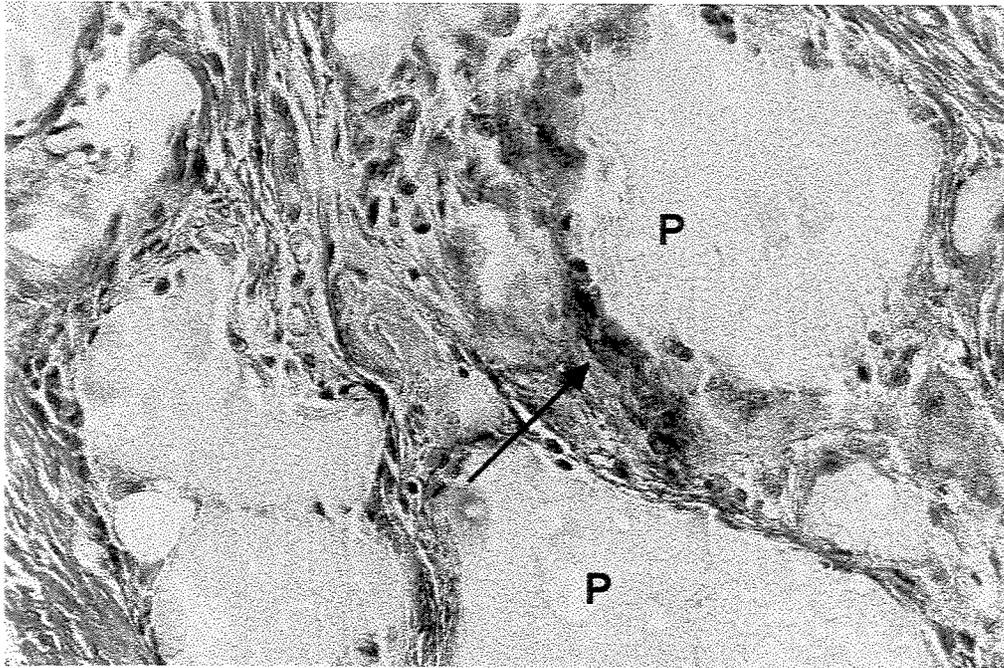


Figura 48. Micrografia de um corte transversal da prótese (P) 3 semanas após o implante. Início do processo de degradação da prótese e invasão do tecido. Notar a presença de célula gigante de corpo estranho (seta). Tricrômico de Masson. 170 x.

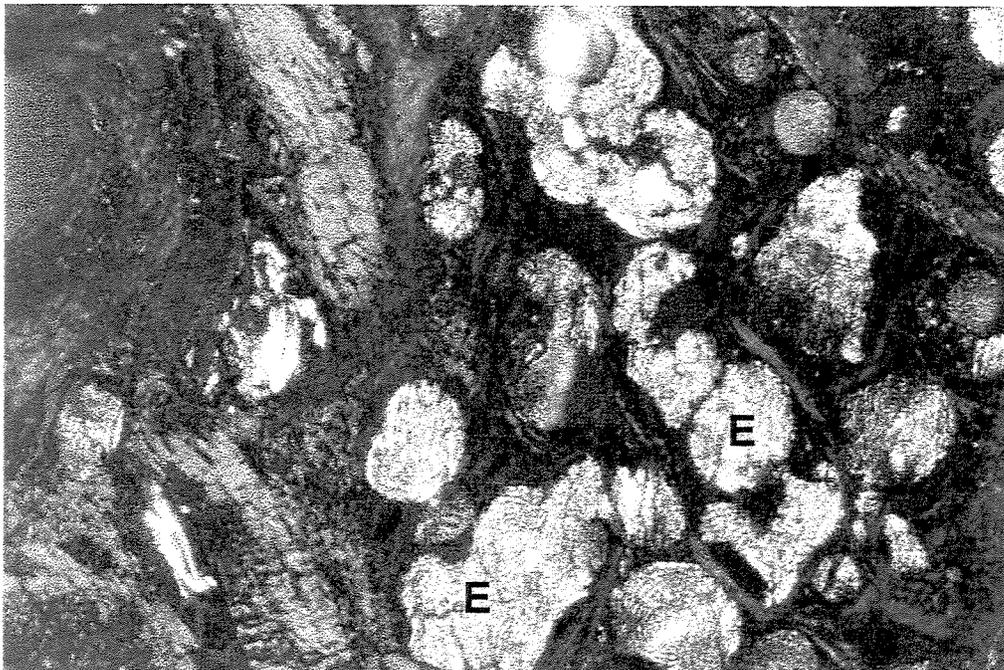


Figura 49. Micrografia de um corte transversal da prótese 3 semanas após o implante. Observar a presença de esferulitos (E) referentes ao polímero degradado e fibras colágenas (laranja avermelhado). Com polarização. Picosírius. 170 x.

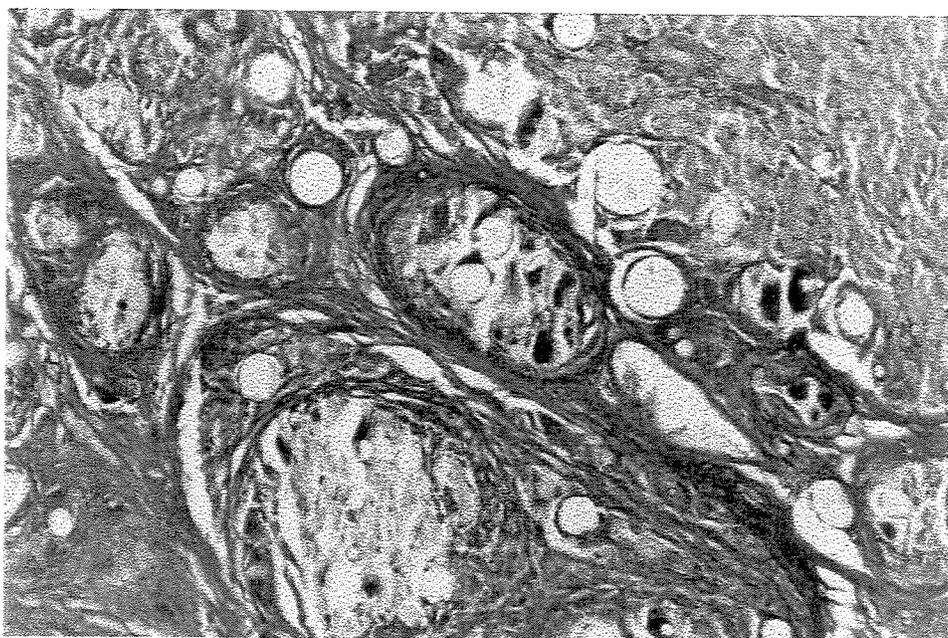


Figura 50. Micrografia de um corte transversal da prótese após 6 semanas. Observa-se intensa degradação do material e uma maior invasão tecidual. Tricrômico de Masson. 170 x.

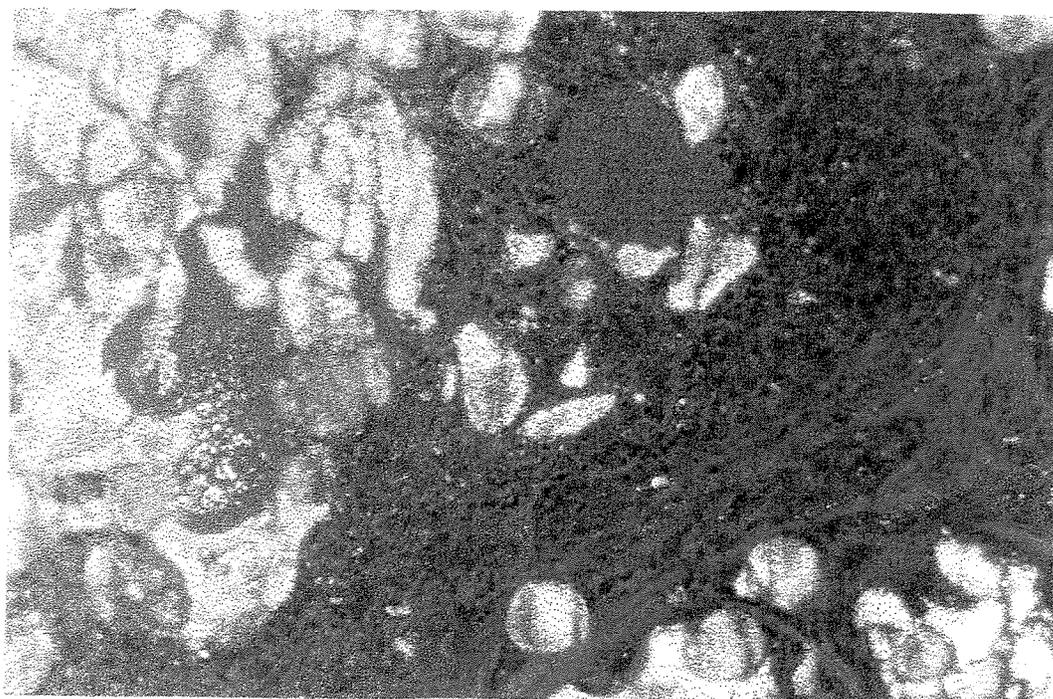


Figura 51. Micrografia de um corte transversal da prótese após 6 semanas. Observa-se fragmentos do polímero mais dispersos, representado pelas regiões brilhantes na foto. Com polarização. Picrosírius. 170 x.

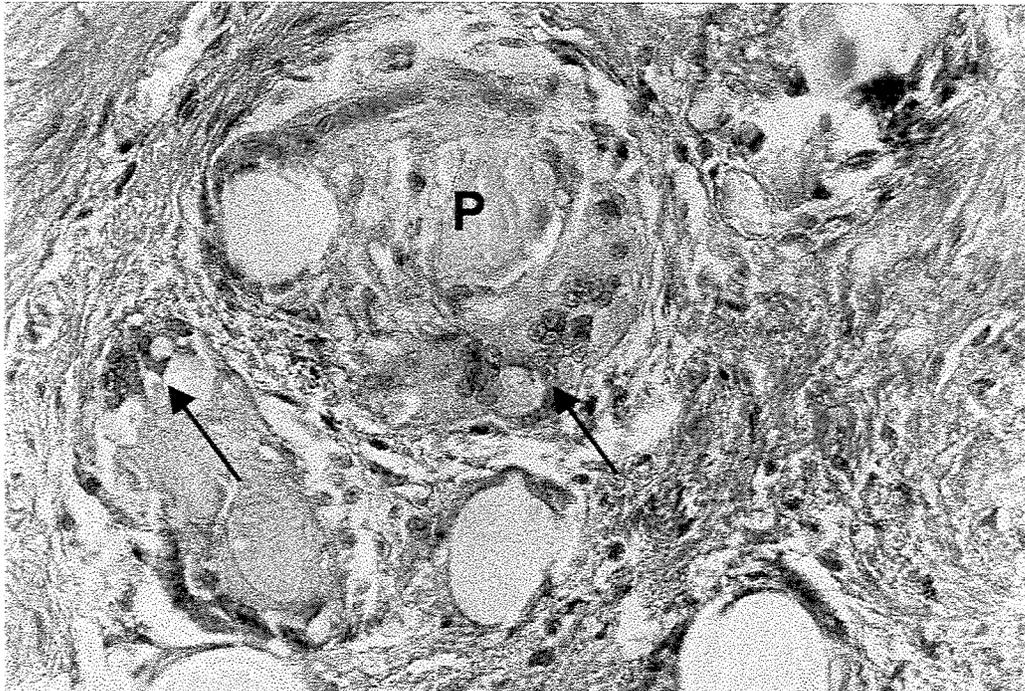


Figura 52. Micrografia de um corte transversal da prótese (P) totalmente invadida por tecido conjuntivo após 12 semanas. Podemos verificar a presença de células gigantes de corpo estranho (setas). Tricrômico de Masson. 425 x.

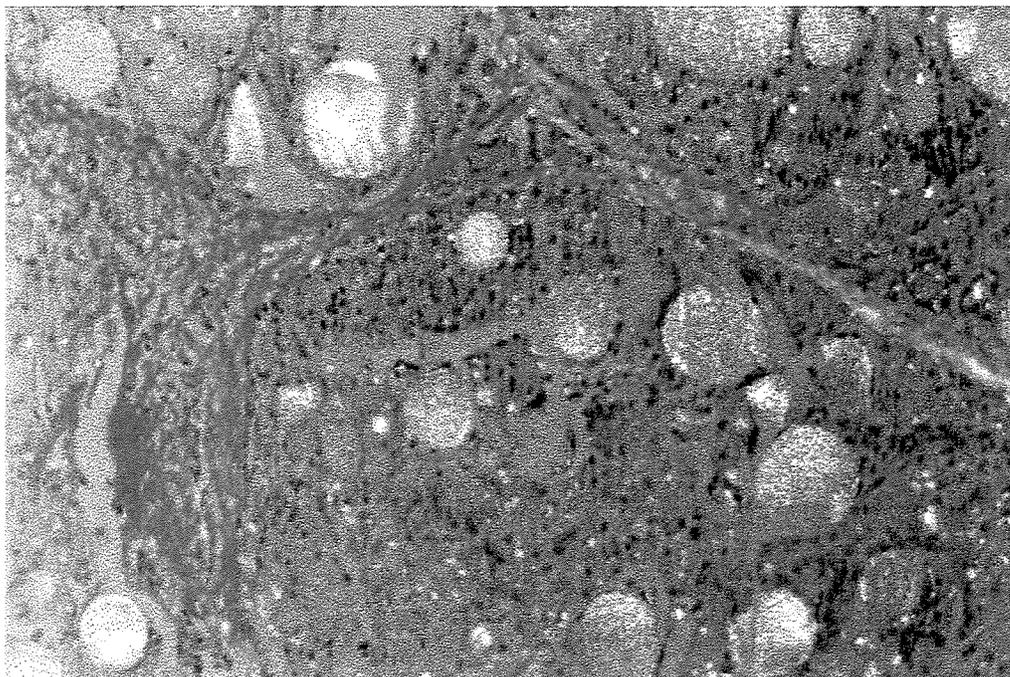


Figura 53. Micrografia de um corte transversal da prótese após 12 semanas. Podemos verificar a presença de pequenos fragmentos do polímero. Com polarização. Picrosírius. 170 x.

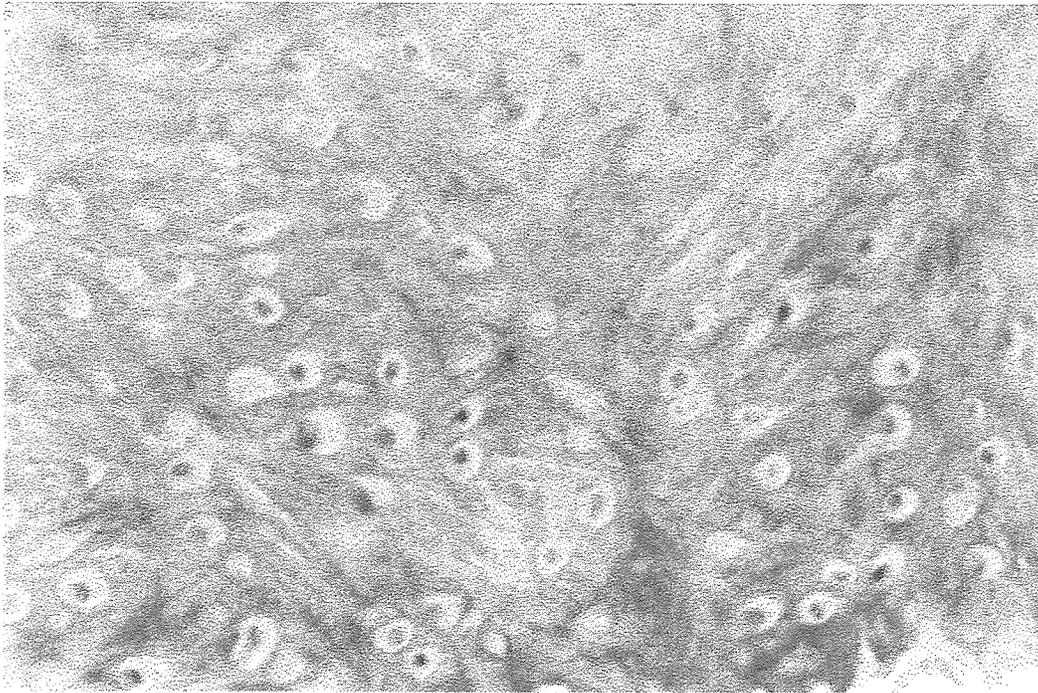


Figura 54. Fotomicrografia de um corte transversal após 12 semanas onde se observa apenas a presença de fibrocartilagem. Tricrômico de Masson. 290 x.

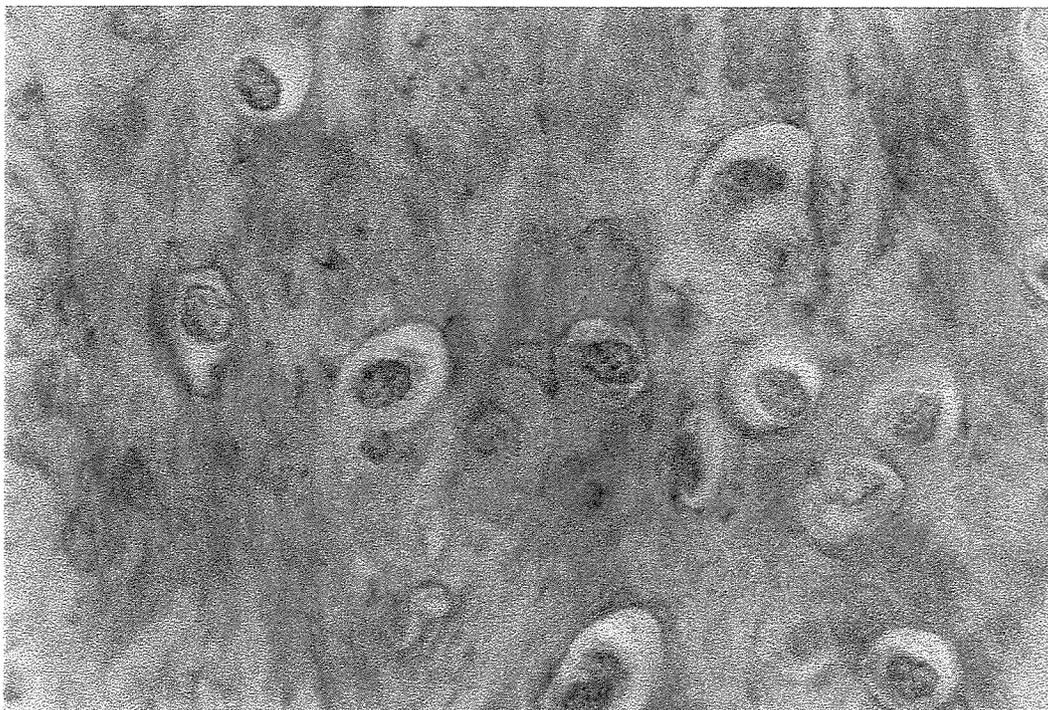


Figura 55. Detalhe da figura anterior mostrando os fibrocondrócitos e as fibras colágenas coradas em azul, dispostas entre os mesmos. Notar que os fibrocondrócitos ainda não estão alinhados. 850 x.

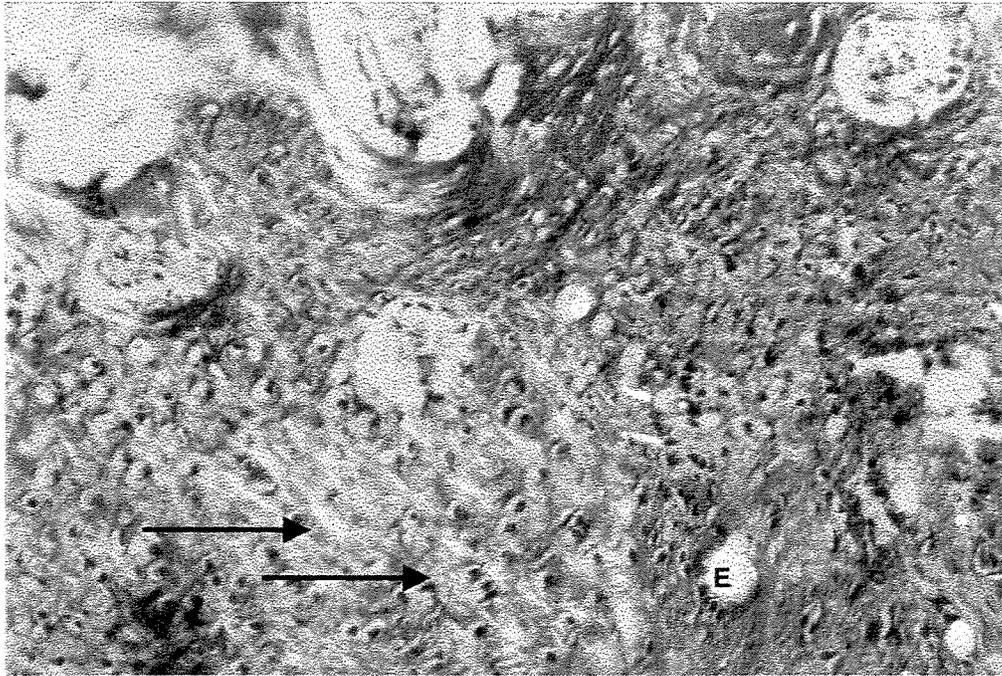


Figura 56. Micrografia de um corte transversal após 14 semanas, mostrando fibrocartilagem com as fibras orientadas ao longo dos fibrocondrócitos (setas). Notar a existência já de poucos fragmentos brilhantes dos esferulitos da prótese (E). Tricrômico de Masson. 170 x.



Figura 57. Micrografia de um corte transversal após 14 semanas, mostrando fibrocartilagem com as fibras orientadas ao longo dos fibrocondrócitos. Picrosirius com polarização. 845 x.

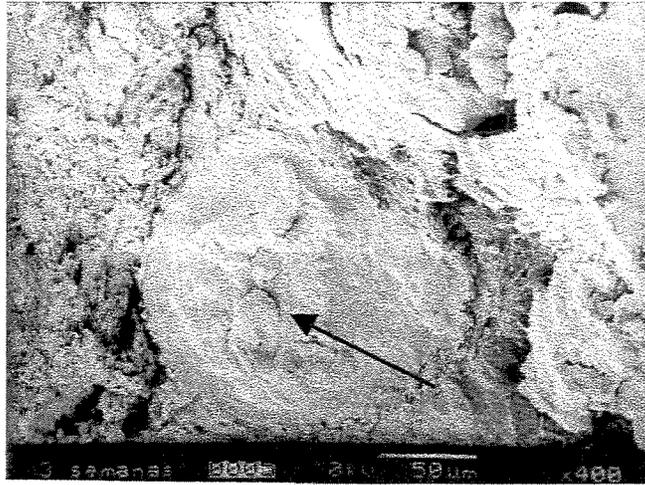


Figura 58. Micrografia de MEV da prótese após 3 semanas de implante, mostrando o início do processo de degradação do polímero (seta).

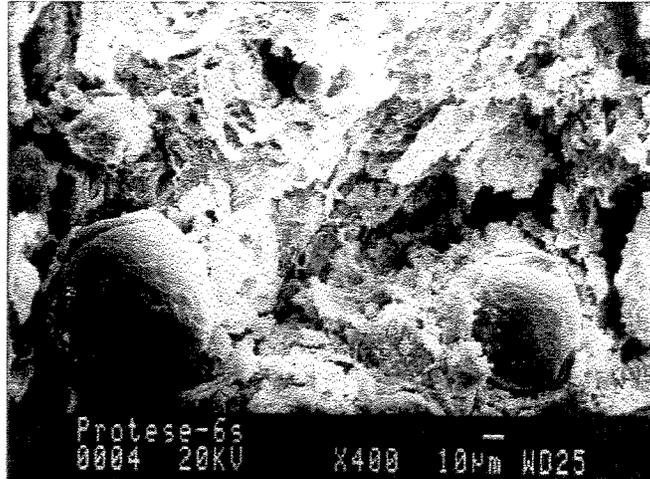


Figura 59. Micrografia de MEV da prótese após 6 semanas de implante. Observa-se maior invasão de tecido.

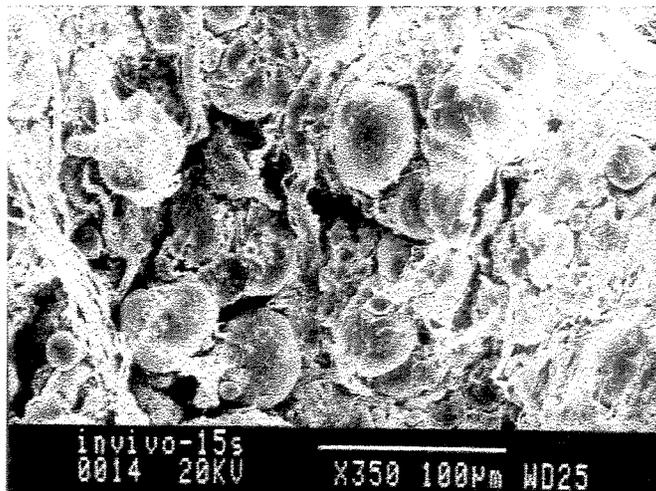


Figura 60. Micrografia de MEV da prótese após 15 semanas, mostrando o tecido conjuntivo ocupando todo o espaço deixado pela prótese já degradada.

Capítulo 5

Conclusões

A caracterização das blendas nos permite concluir que as técnicas de MDSC, DSC e DMA revelam a presença de duas temperaturas de transição vítrea similares aos homopolímeros em todas as composições e valores constantes de T_m , o que indicam que tanto as blendas preparadas por evaporação de solvente quanto as preparadas por fusão são imiscíveis. Esta imiscibilidade foi confirmada pelas técnicas de caracterização morfológicas, MO com luz polarizada e MEV. No entanto, a separação de fases é mais nítida nas blendas PPD/PLLA de composições 40/60, 50/50 e 60/40, e menos intensa nas composições 20/80 e 80/20.

Quanto ao estudo *in vitro*, as técnicas de DSC e TGA indicam que, tanto para o PLLA, quanto para a PPD, a degradação é mais rápida no início do processo e que a PPD degrada muito mais rápido que o PLLA. Pode-se concluir que o aumento da concentração de PPD acelera a degradação da blenda, sendo possível controlar a taxa de degradação variando-se a composição da mesma.

O estudo *in vivo* mostrou a presença de fibrocartilagem com as fibras orientadas ao longo dos fibrocondrócitos após 14 semanas, indicando que a prótese implantada apresenta grande potencial para ser utilizada para a aplicação em questão, já que o material parece induzir a formação de um neomenisco.

Capítulo 6

Referências Bibliográficas

- Abdon, P., Turner, M.S., Petterson, H., Lindstand, A. and Sendstrom, A. A long-term follow-up study of total meniscectomy in children. *Clin. Orthop. Rel. Res.*, v.257, p.166-170, 1990.
- Archer, C.W., Mcdowell, J., Bayliss, M.T., Stephens, M.D. and Bentley, G. Phenotypic modulation in sub-populations of human articular chondrocytes *in vitro*. *J. Cell. Sci.*, v.97, p.361-371, 1990.
- Assis, P.R.V., Pezzin, A.P.T., Zavaglia, C.A.C. and Duek, E.A.R. Synthesis and characterization of polydioxanone membranes synthesized by casting and phase separation. In: VI Simposio Latino Americano de Polímeros (SLAP VI), IV Congresso Ibero Americano de Polímeros (CIP IV) and IV Simposio Chileno de Química Y Físico Química de Polímeros (CHIPOL IV), 10, 1998, Viña del Mar, Chile.
- Barbanti, S. M. Morfologia de polímeros bioreabsorvíveis como suporte para cultura de osteoblastos, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia Mecânica, Unicamp, Campinas, São Paulo, 2001.

Benjamin, M. and Evans, E.J. Fibrocartilage research review. *J. Anat.*, v.171, p.1-15, 1990.

Blümm, E. and Owen, A.J. Miscibility, crystallization and melting of poly(3-hydroxybutyrate)/poly(L-lactide) blends. *Polymer*, v.36, n.21, p.4077-4081, 1995.

Böstman, O.M. Current concepts review absorbable implants for the fixation fractures. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, v.73-A, p.148-153, 1991.

Caplan, A.I. Cartilage. *Scient. Am.*, v.4, p.82-90, 1984.

Carl Toldt, M.D.; Atlas of Human Anatomy, 1919.

Cha, Y. and Pitt, C.G. The biodegradability of polyesters blends. *Biomaterials*, v.11, p.108-112, march 1990.

Chu, C.C. The *in vitro* degradation of poly(glycolic acid) sutures - effect of pH. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.15, p.795, 1981.

Chu, C.C. and Campbell, N.D. Scanning electron microscopic study of the hydrolytic degradation of poly(glycolic acid) suture. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.16, p.417, 1982.

Chu, C.C. and Browning, A. The study of thermal and gross morphologic properties of polyglycolic acid upon annealing and degradation treatments. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.22, p.699-712, 1988.

Chusak, R.B. and Dibbell, D.G. Clinical experience with polydioxanone monofilament absorbable sutures in plastic surgery. *Plastic and Reconstructive Surgery*, v.72, n.2, p.217-221, 1983.

Dave, P.B., Parikh, M., Reeve, M., Gross, R.A. and McCarthy, S.P. *Polym. Mater. Sci. Eng.*, v.63, p.726-731, 1990.

- de Groot, J.H., Vrijer, R., Pennings, A.J., Klompmaker, J., Veth, R.P.H. and Jansen, H.W.B. Use of porous polyurethanes for meniscal reconstruction and meniscal prosthesis. *Biomaterials*, v.17, p.163-173, 1996.
- de Groot, J.H., Zijlstra, F.M., Kuijpers, H.W. et al. Meniscal tissue regeneration in porous 50/50 copoly(L-lactide/ε-caprolactone) implants. *Biomaterials*, v.18, p.613-622, 1997.
- de Santis, P. and Kovacs, A.J. Molecular conformation of poly(S-lactic acid). *Biopolymers*, v.6, n.3, p.299-306, 1968.
- Dijkstra, P.J., Bulte, A. and Feijen, J. *Proceedings of the 17th Annual Meeting of the Society for Biomaterials*. Scottsdale, AZ, Society for Biomaterials, Algonquin, IL, May 1-5, p.184, 1991.
- Doddi, N., Versfelt, C.C. and Wasserman, D. Ethycon, Inc.; Somerville, N.J.; Synthetic absorbable surgical devices of poly-dioxanone, United States Patent n.4,052,988. oct.11, 1977.
- Domb, A.J. Degradable polymer blends. I. Screening of miscible polymers. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, v.31, p.1973, 1993.
- Duek, E.A.R., Zavaglia, C.A C and Belangero, W.D. *In vitro* study of poly(lactic acid) pin degradation. *Polymer*, v.40, p.6465-6473, 1999.
- Dumitriu, S. *Polymeric Biomaterials*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996, p.402.
- Elema, H., Groot, E.G., de Groot, J.H., Nijenhuis, A.J. et al. Use of biodegradable polymer implants in meniscus reconstruction. 2) Biological evaluation of porous biodegradable implants in menisci. *Colloid Polym. Sci.*, v.268, p.1082-1088, 1990.
- Fairbank, T.J. Knee joint changes after meniscectomy. *J. Bone Joint Surg.*, v.30B, p.664-670, 1948.

- Ferreira, B.M.P., Zavaglia, C.A.C. and Duek, E.A.R. Filmes of poly(L-lactic acid)/poly(hydroxybutyrate-co-valerate) blends: *In vitro* degradation. *Materials Research*, v.4, n.1, p.34-42, 2001.
- Fisher, E.W., Sterzel, H.J. and Wegner, G. Investigation of the structure of solution grown crystals of lactide copolymers by means of chemical reactions. *Kolloid-ZZ. Polimere*, v.251, p.980-990, 1973.
- Fithian, D.C., Kelly, M.A. and Mow, V.C. Material properties and structure-function relationships in the menisci. *Clin. Orthop. Rel. Res.*, n.252, 1990.
- Frazza, E.J. and Schmitt, E.E. A new absorbable suture. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.5, n.2, p.43-58, 1971.
- Freed, L.E., Marquis, J.C., Nohria, A., Emmanuel, J., Mikos, A.G. and Langer, R. Neocartilage formation *in vitro* and *in vivo* using cells cultured on synthetic biodegradable polymers. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.27, p.11-23, 1993a.
- Freed, L.E., Vunjak-Novakovic, G. and Langer, R. Cultivation of cell-polymer cartilage implants in bioreactors. *J. Cell Biochem.*, v.51, p.257-264, 1993b.
- Freed, L.E., Vunjak-Novakovic, G., Marquis, J.C. and Langer, R. Kinetics of chondrocytes growth in cell-copolymer implants. *Biotechnology and Bioengineering*, v.43, p.594-604, 1994.
- Fukabayashi, T. and Kurosawa, H. The contact area and pressure distribution pattern of the knee. A study of normal and osteoarthritic joints. *Acta Orthop. Scand.*, v.51, p.871-879, 1980.
- Gassner, F. and Owen, A.J. Physical properties of poly(β -hydroxybutyrate)-poly(ϵ -caprolactone) blends. *Polymer*, v.35, p.2233-2236, 1994.

- Gajria, A.M., Davé, V., Gross, R.A. and McCarthy, S.P. Miscibility and degradability of blends of poly(lactic acid) and poly(vinyl acetate). *Polymer*, v.37, n.3, p. 437-444, 1996.
- Ghosh, P., Taylor, T.K.F., Pettit, G.D., Horsburgh, B.A. and Bellenger, C.R. Effect of postoperative immobilisation on the regrowth of the knee joint semilunar cartilage: A experimental study. *J. Orthopaedic Research*, v.1, p.153-164, 1983.
- Gilding, D.K. and Reed, A.M. *Polymer*, v.20, p.1459, 1979.
- Grijpma, D.W. High Impact strength poly(lactide). Tough biodegradable materials. PhD Thesys, Rijksuniversiteit Groningen, Groningen, The Netherlands, 1993.
- Hage, E. Apostila: *Compósitos e Blendas Poliméricas*, 1989.
- Heatley, F.W. The meniscus - Can it be repaired ? An experimental investigation in rabbits. *J. Bone Joint Surgery*, v.62B, p.397-402, 1980.
- Holland, S.J. and Yasin, M. Polymers for biodegradable medical devices. 1. The potential of polyesters as controlled macromolecular release systems. *J.Controlled Rel.*, v.4, p.155-180, 1986.
- Hollinger, J.O and Battistone, G.C. Biodegradable bone repair materials – synthetic polymers and ceramics. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, n.207, p.291-305, june 1986.
- Hoshikawa, Y., Kurosawa, H., Fukubayashi, T., Nakajima, H. and Watarai, K. The prognosis of meniscectomy in athletes. The simple meniscus lesions without ligamentous instabilities. *Am. J. Sports Med.*, v.11, n.01, p.8-13, 1983.
- Iannace, S., Ambrosio, L., Huang, S.J. and Nicolais, L. Poly(3-hydroxybutyrate)-co-(3-hydroxyvalerate)/Poly-L-lactide blends: thermal and mechanical properties. *J. Appl. Polym. Sci.*, v.54, p.1525-1535, 1994.

- Ibarra, C., Jannetta, C., Vacanti, C.A., Cao, Y., Kim, T.H., Upton, J. and Vacanti, J.P. Tissue engineered meniscus: a potential new alternative to allogeneic meniscus transplantation. *Transplantation Proceedings*, v.29, p.986-988, 1997.
- Ikada, Y., Jamshidi, K., Tsuji, H. and Hyon, S.H. Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactides). *Macromolecules*, v.20, n.04, p.904-906, 1987.
- Jackson, J.P. Degenerative changes in the knee after meniscectomy. *Br. Med. J.*, v.2, p.525-527, 1968.
- Jin, H.J., Chin, I.J., Kim, M.N., Kim, S.H. and Yoon, J.S. Blending of poly(L-lactic acid) with poly(cis-1,4-isoprene). *European Polymer Journal*, v.36, p.165-169, 2000.
- Kim, Y.J., Bonassar, L.J. and Grodzinsky, A.J. The role of cartilage streaming potential, fluid flow and pressure in the stimulation of chondrocyte biosynthesis during dynamic compression. *J. Biomech.*, v.28, p.1055-1066, 1995.
- Kimura, T., Osawa, S. Ochi, T., Nakashima, H. and Ono, K. Chondrocytes embedded in collagen gels maintain cartilage phenotype during long terms cultures. *Clin. Orthop. Rel. Res.*, v.186, p.231-239, 1986.
- King, D. The healing of the semilunar cartilages. *J. Bone Joint Surgery*, v.18, p.333-42, 1936.
- Kissel. Parenteral depot-systems on the basis of biodegradable polyesters. *J. Controlled Rel.*, v.16, n.27, 1991.
- Kohn, D. and Wirth, C.J. Meniscus replacement using a fat pad autograft. An experimental study in the sheep model. *Am. J. Sports Med.*, v.17, p.724, 1989.
- Kohn, D., Plitz, W., Reiss, G. and Wirth, C.J. Medial meniscus replacement by a tendon autograft. Experiments in sheep. *J. Bone Joint Surg.*, v.74B, p.910-917, 1992.

- Kopecek, J. and Ulbrich, K. Biodegradation on biomedical polymers. *Prog. Polym. Sci.*, v.9, p.1-58, 1983.
- Kulkarni, R.K., Moore, E.G., Hegyeli, A.F. and Leonard, F. Biodegradable poly(lactic acid) polymers. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.5, n.03, p.169-181, 1971.
- Kumagai, Y. and Doi, Y. Enzymatic degradation and morphologies of binary blends of microbial poly(3-hydroxybutyrate) with poly(ϵ -caprolactone), poly(1,4-butylene adipate) and poly(vinyl acetate). *Polym. Degrad. Stab.*, v.36, p.241-248, 1992.
- Kurosawa, H., Fukubayashi, T. and Nakajima, H. Load bearing of the knee joint. *Clin. Orthop. Rel. Res.*, v.149, p.283-290, 1980.
- Lam, K.H., Nieuwenhuis, P., Molenaar, I., Esselbrugge, H., Feijen, J., Dijkstra, P. J. and Schakeraad, J.M. Biodegradation of porous versus non porous poly(L-lactic acid) films. *J. of Mater. Sci.: Mater. in Med.*, v.5, p.181-189, 1994.
- Leenslag, J.W., Pennings, A.J., Bos, R.R.M., Rozema, F.R., Boering, G. Resorbable materials of poly(L-lactide). VIII. *In vivo e in vivo* degradation. *Biomaterials*, v.8, p.311-314, 1987.
- Lewis, D.H. Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymers in *Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems* (M. Chasin and R. Langer, eds.), Marcel Decker, New York, Chapter 1, 1990.
- Li, S.M., Gerreau, H. and Vert, M. Structure-property relationships in the case of the degradation of massive poly(α -hydroxy acids) in aqueous media. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, v.1, p.198-206, 1990.
- Lin, H.L., Chu, C.C. and Grubb, D. Hydrolytic degradation and morphologic study of poly-*p*-dioxanone. *J. Biomedical Mater. Res.*, v.27, p.153-66, 1993.

Lindhardt, R. *Biodegradable Polymers for Controlled Release of Drugs*, Springer-Verlag, New York, Chapter 2, 1988.

Luciano, R.M. Síntese, caracterização e degradação de membranas de poli(ácido-lático), um polímero bioabsorvível, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia Mecânica, Unicamp, Campinas, São Paulo, 1997.

Ma, P.X., Schloo, B., Mooney, D. and Langer, R. Development of biomechanical properties and morphogenesis of *in vitro* tissue engineered cartilage. *J. Biomed.Mater. Res.*, v.29, p.1587-1595, 1995.

Manson, J.A. and Sperling, L.H. *Polymers Blends and Composites*, Plenum Press, New York, 1976.

McDevitt, C.A. and Webber, R.J. The ultrastructure and biochemistry of meniscal cartilage. *Clin. Orthop. Rel. Res.*, n.252, p.8-18, march 1990.

Medlar, R.C., Mandiberg, J.J. and Lyne, E.D. Meniscectomies in children. Report of long-term results (mean 8.3 years) of 26 children. *Am. J. Sports. Med.*, v.8, p.87-92, 1980.

Messner, K. Review: The concept of a permanent synthetic meniscus prosthesis: a critical discussion after 5 years of experimental investigations using dacron and teflon implants. *Biomaterials*, v.15, n.4, 1994.

Metak, G., Heitland, A., Nickisch, F., Stephan, C., Milachowski, K.A. and Scherer, M.A.. Kollagen-Polydioxanon-composite graft als meniskusersatz- eine experimentelle studie am schaf. *Langenbecks Arch. Chir*, v.1, p.505-509, 1997.

Migliaresi, C., Fambri, L. and Cohn, D. A study on the *in vitro* degradation of poly(lactic acid). *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, v.5, n.06, p.591-606, 1994.

Milachany, J. Técnica histológica em Anatomia Patológica, Editora EPU, 1980.

- Milachowski, K.A., Weismeier, K. and Wirth, C.J. Homologous meniscus transplantation. Experimental and clinical results. *Int Orthop*, v.13, p.1-11, 1989.
- Mooney, D.J., Baldwin, D.F., Suh, P.S., Vacanti, J.P. and Langer R. Novel approach to fabricate porous sponges of poly(D,L-lactide-co-glycolic acid) without the use of organic solvents. *Biomaterials*, v.17, p.1417-1422, 1996.
- Nijenhuis, A.J., Grijpma, D.W. and Pennings, A.J. Highly crystalline as-polymerized poly(L-lactide). *Polymer Bulletin*, v.26, p.71-77, 1991.
- Okihara, T., Tsuji, M., Kawaguchi, A., Katayama, K. Tsuji, H., Hyon, S.H., Ikada, Y., *J. Macromol. Sci-Phys*, v.25, p.4114, 1991.
- Organ, S.J. Phase separation in blends of poly (hydroxybutyrate) with poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate): variation with blend components. *Polymer*, v.35, n.1, p.86-92, 1994.
- Paul, D.R. and Newman, S. *Polymer Blends*, Orlando: Academic Press, Inc., 1978.
- Paul, D.R., Barlow, J.W. and Keskkula, H. Polymer Blends in *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, 2nd ed., A. Wiley - Interscience Publication, John Wiley & Sons, New York, v.12, p.399-461, 1989.
- Pezzin, A.P.T., Alberda van Ekenstein, G.O.R. and Duek, E.A.R. Melt behaviour, crystallinity and morphology of poly(*p*-dioxanone) (PPD). *Polymer Communication*, no prelo, 2001.
- Pistner, H., Bendix, D.R., Muhling, J. and Reuther, J.F.O., Poly(L-Lactide) - A long-term degradation study *in vivo* .3. Analytical characterization. *Biomaterials*, v.14, n.04, p.291-298, 1993.
- Pitt, C.G. and Schindler, A. The design of controlled drug delivery systems based on biodegradable polymers. In: E.S.e. Hafez (Ed.), *Progress in Contraceptive Delivery Systems*, M.T.P. Publishers, Lancaster, p.17-46, 1980.

- Pitt, C.G. and Schindler. Biodegradation of Polymers in controlled drug delivery, (S.D. Bruck,ed.), CRC Press, Boca Raton, v.1, p.53-80, 1983.
- Proctor, C.S., Schmidt, M.B., Whipple, R.R., Kelly, M.A. and Mow, V.C. Material properties of the normal medial bovine meniscus. *J. Orthop. Res.*, v.7, p.771-782, 1989.
- Radin, E.L., de Lemotte, R. and Maquet, P. Role of menisci in the distribution of stress in the knee. *Clin. Orthop.*, v.185, p.290-293, 1984.
- Ray, J.A., Doddi, N., Regula, D., Williams, J.A. and Melveger, A. Polydioxanone (PDS), a novel monofilament synthetic absorbable suture. *Surgery, Gynecology & Obstetrics*, v.153, p.497-507, 1981.
- Reading, M. Luget, A. and Wilson, R. *Thermochim. Acta*, v.238, p. 295, 1994.
- Sabino, M.A., González, S., Márquez, L. and Feijoo, J.L. Study of the hydrolytic degradation of polydioxanone PPDx. *Polymer Degradation and Stability*, v.69, p.209-216, 2000.
- Satoh, H., Yoshie, N. and Inoue, Y. Hydrolytic degradation of blends of poly(3-hydroxybutyrate) with poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). *Polymer*, v.35, n.01, p.286-290, 1994.
- Scandola, M., Focarete, M.L., Adamus, G., Sikorska, W., Baranowska, I., Swierczek, S., Gnatowski, M., Kowalczyk, M. and Jedlinski, Z. *Macromolecules*, v.30, p.2568-2574, 1997.
- Schneider, A.K.; U.S. Patent 3.636.956, 1975.
- Schoemaker, S.C. and Markolf, K.L. The role of meniscus in the anteroposterior stability of the loaded anterior cruciate-deficient knee. Effects of partial versus total excision. *J. Bone Joint Surg.*, v.68A, p.71-79, 1986.

Sittinger, M., Reitzel, D., Dauner, M., Hierlemann, H., Hammer, C., Kastenbauer, E., Planck, H., Burmester, G.R. and Bujia, J. Resorbable polyesters in cartilage engineering: affinity and biocompatibility of polymer fiber structures to chondrocytes. *J. Biom. Mat. Res.*, v.33, n.2, p.57-63, 1996.

Shalaby, S.W. *Biomedical Polymers: Designed-to-Degrade Systems*, Hanser Publishers, 1994.

Schmitt, E.E. and Polistina, R.A.; U.S. Patent 3.297.033, 1967.

Sommerlath, K., Gallino, M. and Gillquist, J. Biomechanical characteristics of different artificial substitutes for rabbit medial meniscus and effect of prosthesis sization knee cartilage. *Clin. Biomech.*, v.7, p.97-103, 1992.

Sommerlath, K. and Gillquist, J. The effect of a meniscal prosthesis on knee biomechanics and cartilage - An experimental study in rabbits. *The American Journal of Sports Medicine*, v.20, n.1, p.73-81, 1992.

Sommerlath, K. and Gillquist, J. The effect of cruciate ligament of a meniscus prosthesis on knee joint mechanics and cartilage. *Clin. Orthop.*, v.289, p.267-275, 1993a.

Sommerlath, K. and Gillquist, J. The effect of a meniscus prosthesis in a knee joint with resected anterior cruciate ligament. *Clin. Orthop.*, v.289, p.276-284, 1993b.

Spaans, C.J., Belgraver, V.W., Rienstra, O., de Groot, J.H., Veth, R.P.H. and Pennings, A.J. Solvent-free fabrication of micro-porous polyurethane amide and polyurethane-urea scaffolds for repair and replacement of the knee-joint meniscus. *Biomaterials*, v.21, p.2453-2460, 2000.

Stone, K.R., Rodkey, W.G., Webber, R., Mckinney, L. and Steadman, R. Meniscal regeneration with copolymeric collagen scaffolds. *The American Journal of Sports Medicine*, v.20, n.02, p.104 -111, 1992.

- Temenoff, J.S. and Mikos, A.G. Review: Tissue engineering for regeneration of articular cartilage, *Biomaterials*, v.21, p.431-440, 2000.
- Thomson, R.C., Wake, M.C., Yaszemski, M.J. and Mikos, A.G. Biodegradable polymer scaffolds to regenerate organs. *Adv. Polym. Sci.*, v.122, p.245-274, 1995.
- Toyonaga, T., Uezaki, N. and Chikama, H. Substitute meniscus of teflon-net for the knee joint of dogs. *Clin. Orthop. Rel. Res.*, n.179, p.291-297, October 1983.
- Trofimoff, L., Aida, T. and Inoue, S. Formation of poly(lactide) with controlled molecular weight polymerization of lactide by aluminum porphyrin. *Chemistry Letters*, p.991-994, 1987.
- Tsuji, H., Horii, F., Hyon, S.H. and Ikada, Y. Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactic acid)s. 2. Stereocomplex formation in concentrated solutions. *Macromolecules*, v.24, n.10, p.2719-2724, 1991.
- Tsuji, H.S., Hyon, S.H. and Ikada, Y. Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactic acid)s. 3. Calorimetric studies on blend films cast from dilute solution. *Macromolecules*, v.24, n.20, p.5651-5656, 1991a.
- Tsuji, H., Hyon, S.H. and Ikada, Y. Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactic acid)s. 4. Differential scanning calorimetric studies on precipitates from mixed solutions of poly(D-lactic acid) and poly(L-lactic acid). *Macromolecules*, v.24, n.20, p.5657-5662, 1991b.
- Tsuji, H., Hyon, S.H. and Ikada, Y. Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactic acid)s. 5. Calorimetric and morphological studies on the stereocomplex formed in acetonitrile solution. *Macromolecules*, v.25, n.11, p.2940-2946, 1992.
- Tsuji, H. and Ikada, Y. Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactic acid)s. 6. Binary blends from copolymers. *Macromolecules*, v.25, n.21, p.5719-5723, 1992a.

- Tsuji, H., Horii, F., Naragawa, M., Ikada, Y., Odani, H. and Kitamaru, R. Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactic acid)s. 7. Phase structure of the stereocomplex crystallized from a dilute acetonitrile solution as studied by high-resolution solid-state. *Macromolecules*, v.25, n.16, p.4114-4118, 1992b.
- Tsuji, H., Ikada, Y., Hyon, S.H., Kimura, Y. and Kitao, T. Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactic acid). 8. Complex fibers spun from mixed solution of poly(D-lactic acid) and poly(L-lactioc acid). *J. Applied Polym. Sci*, v.51, p.337-344, 1994.
- Tsuji, H. and Ikada, Y. Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactic acid)s. 9. Stereocomplexation from the melt. *Macromolecules*, v.26, n.25, p.6918-6926, 1993.
- Tsuji, H. and Ikada, Y. Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactic acid)s. 10. Binary blends from poly(D-lactide-co-glycolide) and poly(L-lactide-co-glycolide). *J. Applied Polym. Sci*, v.53, n.8, p.1061-1071, 1994.
- Tsuji, H. and Ikada, Y. Blends of isotactic and atactic poly(lactide). 1. Effects of mixing ratio of isomers on crystallization of blends from melt. *J. Applied Polym. Sci*, v.58, p.1793-1802, 1995.
- Tsuji, H. and Ikada, Y. Blends of aliphatic polyesters. 1. Physical properties and morphologies of solution-cast blends from poly(DL-lactide) and poly(ϵ -caprolactone). *J. Applied Polym. Sci.*, v.60, 2367-2375, 1996a.
- Tsuji, H. and Ikada, Y. Blends of isotactic and atactic poly(lactide)s: 2. Molecular-weight effects of atactic component on crystallization and morphology of equimolar blends from the melt. *Polymer*, v.37, n.04, p.595-602, 1996b.
- Tsuji, H. and Ikada, Y. Blends of crystalline and amorphous poly(lactide). 3. Hydrolysis of solution-cast blend films. *J. Applied Polym. Sci.*, v.63, p.855-863, 1997.

- Tsuji, H. and Ikada, Y. Stereocomplex formation between poly(lactic acid)s. XI. Mechanical properties and morphology of solution-cast films. *Polymer*, v.40, p.6699-6708, 1999.
- Tsuji, H. and Ikada, Y. Properties and morphology of poly(L-lactide). 4. Effects of structural parameters on long-term hydrolysis of poly(L-lactide) in phosphate-buffered solution. *Polymer Degradation and Stability*, v.67, p.179-189, 2000.
- Utracki, L.A. *Polymer Alloys and Blends*, Thermodynamics and Rheology, Hanser Publishers, New York, 1990.
- Veldhuizen, J.P., Bourret, L.A. and Rodan, G.A. *In vitro* studies of the effect of intermittent compressive forces on cartilage cell proliferation. *J. Cell Physiol.*, v.98, p.299-306, 1979.
- Vert, M., Li, S. and Garreau, H. More about degradation of LA/GA-derived matrices in aqueous media. *J. Controlled Release*, v.16, p.15-25, 1991.
- Vert, M., Li, S.M., Spenlehauer, G. and Guerin, P. Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters. *J. Mater. Sci., Mater. Med.*, v.3, p.432-446, 1992.
- Veth, R.P.H. Clinical significance of knee joint changes after meniscectomy. *Clin. Orthop. Rel. Res.*, v.198, p.56-60, 1985.
- Yasin, M. and Tighe, B. *J. Plast. Rubber Compos. Process Appl.*, v.19, p.15, 1993 *ibid* Blümm, E. and Owen, A.J. Miscibility, crystallization and melting of poly(3-hydroxybutyrate)/poly(L-lactide) blends. *Polymer*, v.36, n.21, p.4077-4081, 1995.
- Yasui, N., Osawa, S., Ochi, T., Nakashima, H. and Ono, K. Primary culture of chondrocytes in collagen gels. *Expl. Cell. Biol.*, v.50, p.92-100, 1982.
- Wasserman, D. U.S. patent 1.375.008, 1971.

- Willians, D.F. (ed), *Definitions in Biomaterials - Progress in Biomedical Engineering*, Elsevier, v.4, Cap.1, 1987.
- Wise, D.L., Fellmann, T.D., Danderson, J.E. and Wenworth, R.L. In: *Drug Carriers in Biology and Medicine*, G. Gregoriadis, Ed., Academic Press, London, p.237, 1979.
- Wood, D.J., Minns, R.J. and Strover, A. Replacement of the rabbit medial meniscus with a polyester-carbon fibre bioprosthesis. *Biomaterials*, v.11, p.13-16, 1990.
- Woodward, S.C., Brewer, P.S., Moatamed, F. The intracellular degradation of poly(ϵ -caprolactone). *J. Biomed. Mater. Res.*, v.19, p.437-444, 1985.
- Zhang, L., Xiong, C. and Deng, X.. Biodegradable polyesters blends for biomedical application. *J. Applied Polym. Sci.*, v.56, p.103-112, 1995.
- Zhang, L., Xiong, C. and Deng, X. Miscibility, crystallization and morphology of poly(β -hydroxybutyrate)/poly(DL-lactide) blends. *Polymer*, v.37, n.2, p.235-241, 1996.
- Zukor, D.J., Cameron, J.C., Brooks, P.J., Oakeshott, R.D., Farine, L., Rudan, J.F. and Gross, A.E. The fate of Human Meniscal Allografts. *Presented at the 55th Annual Meeting of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. Atlanta, GA, February 4, 1990.

ANEXO I – Tabelas de DSC para as blends PPD/PLLA obtidas por evaporação de solvente

Tabela 7. Temperaturas de cristalização (Tc) e de fusão (Tm), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para os filmes de PPD/PLLA (0/100) preparados por evaporação de solvente.

DSC membranas PPD/PLLA 0/100	Aquec.		Tc (°C)		ΔH_c (J/g)		Tm (°C)		ΔH_m (J/g)	
	1°	2°	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA
0 sem	1°	-	-	-	-	-	178	-	-	37
	2°	-	101	20	-	177	-	-	-	43
1 sem	1°	-	160*	4*	-	-	178	-	-	45
	2°	-	98	19	-	177	-	-	-	49
2 sem	1°	-	160*	9*	-	-	177	-	-	40
	2°	-	96	12	-	177	-	-	-	44
4 sem	1°	-	161*	7*	-	-	175	-	-	53
	2°	-	-	-	-	175	-	-	-	53
6 sem	1°	-	-	-	-	174	-	-	-	53
	2°	-	-	-	-	174	-	-	-	54
8 sem	1°	-	-	-	-	170	-	-	-	59
	2°	-	-	-	-	170	-	-	-	59
10 sem	1°	-	-	-	-	169	-	-	-	62
	2°	-	-	-	-	168	-	-	-	65

* cristalização pré-fusão

Tabela 8. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para os filmes de PPD/PLLA 20/80 preparados por evaporação de solvente.

DSC membranas		T_c (°C)			ΔH_c (J/g)			T_m (°C)			ΔH_m (J/g)		
PPD/PLLA	Aquec.	PPD	PLLA	PPD	PPD	PLLA	PPD	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA
20/80													
0 sem	1°	-	-	-	-	-	-	103	177	4	35	4	35
	2°	-	95	-	11	-	106	176	25	25	38	25	38
			159*		5*								
1 sem	1°	-	-	-	-	-	97	176	59	18	58	59	58
	2°	-	79	-	4	-	97	173	18	18	52	18	52
			152*		4*								
2 sem	1°	-	-	-	-	-	107	175	86	86	48	86	48
	2°	26	90	18	15	-	107	175	93	93	52	93	52
			151*		4*								
4 sem	1°	-	-	-	-	-	107	174	74	74	46	74	46
	2°	31	88	17	9	-	107	174	92	92	52	92	52
			151*		5*								
6 sem	1°	-	-	-	-	-	107	173	93	93	57	93	57
	2°	33	87	10	8	-	107	173	100	100	66	100	66
							94	168	53	53	59	53	59
8 sem	1°	-	-	-	-	-	-	168	-	-	49	-	49
	2°	-	-	-	-	-	95	170	46	46	61	46	61
10 sem	1°	-	-	-	-	-	-	167	-	-	47	-	47
	2°	-	-	-	-	-	95	167	53	53	68	53	68
12 sem	1°	-	-	-	-	-	-	164	-	-	52	-	52
	2°	-	-	-	-	-	103	165	79	79	51	79	51
15 sem	1°	-	-	-	-	-	-	159	-	-	40	-	40
	2°	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* cristalização pré fusão

Tabela 9. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para os filmes de PPD/PLLA 50/50 preparados por evaporação de solvente.

DSC membranas		T_c (°C)		ΔH_c (J/g)		T_m (°C)		ΔH_m (J/g)	
PPD/PLLA	Aquec.	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA
50/50									
0 sem	1°	-	-	-	-	104	178	70	29
	2°	-	84	-	2	107	176	47	37
			159*		3*				
1 sem	1°	-	-	-	-	109	176	77	48
	2°	25	86	8	24	106	173	66	44
			154*		6*				
2 sem	1°	-	-	-	-	109	177	62	42
	2°	26	87	7	18	107	174	53	38
			152*		5*				
6 sem	1°	-	-	-	-	93	175	84	36
	2°	32	84	25	19	105	171	45	50
			151*		7*				

* cristalização pré fusão

Tabela 10. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para os filmes de PPD/PLLA 80/20 preparados por evaporação de solvente.

DSC membranas		T_c (°C)		ΔH_c (J/g)		T_m (°C)		ΔH_m (J/g)	
PPD/PLLA	Aquec.	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA
80/20									
0 sem	1°	-	-	-	-	107	177	74	55
	2°	26	83	5	38	107	176	47	60
			159*		5*				
1 sem	1°	-	-	-	-	96, 108	177	57	80
	2°	25	80	6	6	107	172	47	74
			151*		13*				
2 sem	1°	-	-	-	-	96, 108	177	59	86
	2°	25	77	10	38	107	173	47	79
			155*		3*				
4 sem	1°	-	-	-	-	97, 110	175	58	75
	2°	26	88	10	40	106	171	40	78
			143*		11*				
6 sem	1°	-	-	-	-	97, 109	175	62	97
	2°	31	85	1	47	106	171	39	81
			152*		22*				
8 sem	1°	-	-	-	-	94, 108	171	79	75
	2°	27	63	30	55	98	164	48	75
						95, 109	173	71	86
10 sem	1°	-	-	-	-	95, 109	173	71	86
	2°	34	72	27	22	103	170	40	75

* cristalização pré fusão

Tabela 11. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para os filmes de PPD/PLLA 80/20 3%*op* preparados por evaporação de solvente.

DSC membranas		T_c (°C)		ΔH_c (J/g)		T_m (°C)		ΔH_m (J/g)	
PPD/PLLA	Aquec.	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA
80/20 3% <i>op</i>									
0 sem	1°	-	-	-	-	89, 103	145	55	29
	2°	-	-	-	-	89, 103	145	56	31
1 sem	1°	-	-	-	-	94, 110	173	77	58
	2°	18	76	2	44	106	168	66	54
2 sem	1°	-	-	-	-	97, 110	173	69	59
	2°	19	79	10	38	107	171	55	52
4 sem	1°	-	-	-	-	95, 110	173	91	44
	2°	27	75	28	52	106	170	66	40
6 sem	1°	-	-	-	-	87, 110	171	97	49
	2°	25	67	38	32	101	164	70	43
8 sem	1°	-	-	-	-	93, 109	169	92	40
	2°	22	57	35	6	95	155	58	40
10 sem	1°	-	-	-	-	92, 107	167	86	56
	2°	38	71	28	24	101	165	37	46

ANEXO II – Tabelas de DSC para as blendas PPD/PLLA obtidas por fusão

Tabela 14. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para as blendas de PPD/PLLA (0/100) preparadas por fusão.

DSC membranas PPD/PLLA	T_c (°C)		ΔH_c (J/g)		T_m (°C)		ΔH_m (J/g)		
	Aquec.	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA
0 sem	1°	-	-	-	-	178	-	-	42
	2°	-	101, 159*	-	25, 6*	177	-	-	44
2 sem	1°	-	-	-	-	176	-	-	55
	2°	-	163*	-	1*	176	-	-	55
4 sem	1°	-	-	-	-	175	-	-	44
	2°	-	94, 160*	-	11, 2*	175	-	-	48
8 sem	1°	-	-	-	-	176	-	-	46
	2°	-	-	-	-	163	-	-	43
10 sem	1°	-	-	-	-	172	-	-	53
	2°	-	-	-	-	163	-	-	52
12 sem	1°	-	-	-	-	172	-	-	50
	2°	-	93	-	7	163	-	-	50
15 sem	1°	-	-	-	-	171	-	-	56
	2°	-	87	-	4	162	-	-	45
32 sem	1°	-	-	-	-	167	-	-	61
	2°	-	86	-	19	154	-	-	44
						163			

Tabela 15. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para as blendas de PPD/PLLA na composição 20/80 preparadas por fusão.

DSC membrana*	T_c (°C)		ΔH_c (J/g)		T_m (°C)		ΔH_m (J/g)	
	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA
20/80								
0 sem	1 ^o	-	-	-	105	173	77	43
	2 ^o	90	-	14	106	176	44	48
		156*	-	6*	-	-	-	-
2 sem	1 ^o	-	-	-	104	173	68	44
	2 ^o	82	-	4	100	172	22	44
		151*	-	3*	-	-	-	-
4 sem	1 ^o	-	-	-	95	173	44	44
	2 ^o	75	-	2	92	171	9	50
		143*	-	1*	-	-	-	-
8 sem	1 ^o	-	-	-	95	171	64	45
	2 ^o	140*	-	3*	74	170	15	50
10 sem	1 ^o	-	-	-	95	174	48	57
	2 ^o	154*	-	3*	-	173	-	56
12 sem	1 ^o	-	-	-	94	174	41	49
	2 ^o	150*	-	2*	-	172	-	50
15 sem	1 ^o	-	-	-	92	171	38	44
	2 ^o	-	-	-	-	170	-	46
32 sem	1 ^o	-	-	-	99	170	30	64
	2 ^o	-	-	-	-	157	-	52
						169		

Tabela 16. Temperaturas de cristalização (T_c) e de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para as blendas de PPD/PLLA na composição 50/50 preparadas por fusão.

DSC membranas PPD/PLLA 50/50	T_c (°C)		ΔH_c (J/g)				T_m (°C)				ΔH_m (J/g)				
	Aquec.	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA
0 sem	1°	-	-	-	-	-	-	105	177	64	45	-	-	-	-
	2°	39	83	60	9	108	177	72	43	-	-	-	-	-	-
2 sem	1°	-	162*	-	8*	-	-	106	173	72	55	-	-	-	-
	2°	28	83	30	8	103	172	47	60	-	-	-	-	-	-
4 sem	1°	-	151*	-	5*	-	-	102	170	63	47	-	-	-	-
	2°	32	77	16	21	97	170	16	54	-	-	-	-	-	-
8 sem	1°	-	-	-	-	-	-	82	163	68	61	-	-	-	-
	2°	-	-	-	-	-	-	80	153	5	58	-	-	-	-
10 sem	1°	-	-	-	-	-	-	84	166	78	50	-	-	-	-
	2°	34	-	8	-	94	171	13	49	-	-	-	-	-	-
15 sem	1°	-	-	-	-	-	-	95	163	70	58	-	-	-	-
	2°	42	-	3	-	80	151	3	54	-	-	-	-	-	-
32 sem	1°	-	-	-	-	-	-	97	170	29	84	-	-	-	-
	2°	-	63	-	4	-	160	-	65	-	-	-	-	-	-

Tabela 17. Temperaturas de cristalização (Tc) e de fusão (Tm), entalpia de cristalização (ΔH_c) e de fusão (ΔH_m) obtidos por DSC, para as blendas de PPD/PLLA na composição 100/0 preparadas por fusão.

DSC membranas		Tc (°C)		ΔH_c (J/g)		Tm (°C)		ΔH_m (J/g)	
PPD/PLLA	Aquec.	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA	PPD	PLLA
100/0									
0 sem	1°	-	-	-	-	109	-	58	-
	2°	37	-	39	-	108	-	61	-
		82*	-	7*	-	-	-	-	-
2 sem	1°	-	-	-	-	109	-	63	-
	2°	22	-	11	-	102	-	53	-
		65*	-	5*	-	-	-	-	-
4 sem	1°	-	-	-	-	103	-	69	-
	2°	44	-	3	-	84	-	46	-
8 sem	1°	-	-	-	-	89	-	83	-
	2°	43	-	3	-	88	-	44	-
10 sem	1°	-	-	-	-	76	-	98	-
	2°	33	-	1	-	53	-	36	-
12 sem	1°	-	-	-	-	76	-	-	-
	2°	-	-	-	-	97	-	95	-
		-	-	-	-	84**	-	15	-
15 sem	1°	-	-	-	-	103	-	7	-
	2°	37	-	3	-	96	-	106	-
32 sem	1°	-	-	-	-	80	-	34	-
	2°	-	-	-	-	103	-	59	-
		-	-	-	-	82	-	8	-

** ocorreu a separação dos picos de fusão