



**AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO**

**ESTUDO DA ENXERTIA E HEPARINIZAÇÃO SIMULTÂNEAS
DO POLI (CLORETO DE VINILA), VIA RADIAÇÃO GAMA**

LUZ CONSUELO GONZALEZ ALONSO PANZARINI

**Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Doutor em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear - Aplicações.**

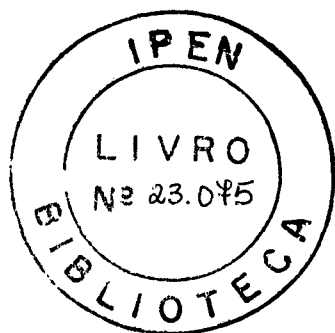
**Orientadora:
Dra. Selma Matheus L. Guedes**

**São Paulo
2003**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**ESTUDO DA ENXERTIA E HEPARINIZAÇÃO SIMULTÂNEAS DO
POLI(CLORETO DE VINILA), VIA RADIAÇÃO GAMA**

LUZ CONSUELO GONZALEZ ALONSO PANZARINI



Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear-Aplicações.

Orientadora:

Dra. Selma Matheus L. Guedes

SÃO PAULO
2003

A meu marido marcelo, cujo apoio e incentivo foram fundamentais na conclusão deste trabalho.

A vinicius e beatriz, pela paciência e compreensão e cujas existências são a razão de tudo o que faço.

A meus pais, por toda a dedicação e apoio incondicional.

Dedico.

*"Duvidar de tudo ou crer em tudo são duas soluções igualmente
cômodas, que nos dispensam ambas de refletir"*

Henri Poincaré

AGRADECIMENTOS

- Dra. Selma Matheus Loureiro Guedes, pela orientação, pelo estímulo e pela confiança durante todo o desenvolvimento deste trabalho.
- À Dra. Olga Zazuco Higa, pela orientação no início deste doutorado, por permitir a utilização das instalações e equipamentos do TBR e pelo auxílio na realização e interpretação dos ensaios de adesão de plaquetas.
- Ao Dr. João Osso Júnior pela orientação temporária, durante parte do desenvolvimento deste doutorado.
- Ao bolsista de iniciação científica e amigo Paulo Guilherme de Souza Campos, pelo auxílio experimental na primeira fase deste trabalho.
- À OPP-TRIKEN, pela formulação e doação da resina de PVC.
- Ao Prof. Dr. Yoshio Kawano pela obtenção dos espectros FTIR-PAS da Heparina no Departamento de Química Fundamental do IQUSP.
- À Dra. Rita de Cássia Lazzarini Dutra, pela obtenção dos espectros FTIR, realizados no Centro Tecnológico Aeroespacial - CTA.
- À Dra. Rita Aparecida Zoppi, pela obtenção das micrografias (MEV) no Instituto de Química da Unicamp.
- À Dra. Maria Tereza Lamy Freund, pela permissão de uso do espectrômetro de ressonância paramagnética eletrônica do Departamento de Física Geral do IFUSP.

- Aos engenheiros Carlos Gaia da Silveira e Elizabeth S. Ribeiro Somessari, pela irradiação das amostras.
- Ao CNPq pela concessão de bolsa de estudo.

- MSc. Wilson Calvo, gerente do CTR, por permitir que o trabalho fosse desenvolvido neste centro.

- Ao Ipen pela oportunidade de realizar este trabalho.

- Aos amigos do CTR pela paciência e companheirismo.
-
-
-

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
Lista de tabelas	9
Lista de Figuras	11
Resumo.....	15
Abstract.....	17
1 Introdução	19
1.1 Objetivo e originalidade.....	20
2 Noções Gerais.....	21
2.1 Materiais.....	21
2.1.1 Poli(cloreto de vinila) - PVC.....	21
2.1.2 N,N-dimetilaminoetil metacrilato (DMAEMA).....	24
2.1.3 Heparina.....	26
2.2 Química das radiações.....	28
2.3 Radiólise de polímeros.....	42
2.3.1 Espécies radiolíticas.....	43
2.3.2 Cisão	45
2.3.3 Reticulação.....	46
2.3.4 Oxidação radiolítica.....	47
2.4 Biomateriais.....	49
2.5 Enxertia	50
2.5.1 Radiólise da água.....	55
2.5.2 Inibidores de homopolimerização.....	56
2.6 Métodos de imobilização.....	57
2.6.1 Aprisionamento	57
2.6.2 Adsorção	57

2.6.3	Ligações covalentes.....	58
2.7	Mecanismos da coagulação sangüínea [27]	60
2.7.1	Ativação plaquetária.....	61
2.7.2	Ativação dos fatores de coagulação.....	62
2.7.3	Ativação do sistema fibrinolítico	64
3	Procedimento Experimental	66
3.1	Materiais.....	66
3.2	Preparação dos filmes de PVC	67
3.3	Irradiação das amostras	68
3.4	Enxertia	68
3.4.1	Preparação das amostras	69
3.4.2	Extração	70
3.4.3	Determinação do grau de enxertia	70
3.5	Caracterização físico-química	71
3.5.1	Ressonância paramagnética eletrônica (RPE).....	71
3.5.2	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	72
3.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	74
3.6.1	Análise morfológica superficial	74
4	RESULTADOS E DISCUSsão	76
4.1	Determinação dos parâmetros de enxertia	76
4.1.1	Intumescimento	76
4.1.2	Inibidor de homopolimerização.....	89
4.1.3	Efeito da adição de heparina na enxertia	96
4.2	Ressonância paramagnética eletrônica (RPE).....	98
4.2.1	PVC	99
4.2.2	DMAEMA.....	104
4.2.3	Heparina.....	108
4.3	PVC-co-DMAEMA-co-heparina	113
4.4	Caracterização por espectroscopia na região do infravermelho (IR).....	114

4.4.1	Caracterização dos materiais	115
4.4.2	Caracterização dos copolímeros de enxerto	123
4.5	Avaliação das alterações morfológicas por (MEV)	129
4.5.1	Rugosidade superficial	129
4.5.2	Adesão de plaquetas.....	127
5	CONCLUSÕES	131
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	132

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Isótopos usados como fontes de radiação [41]	32
Tabela 2.	Fatores de coagulação	61
Tabela 3.	Materiais e reagentes	66
Tabela 4.	Amostras usadas para os ensaios por RPE	72
Tabela 5.	Amostras utilizadas para a obtenção dos espectros FTIR	73
Tabela 6.	Amostras usadas nos ensaios de MEV	74
Tabela 7.	Amostras usadas para os testes de adesão de plaquetas	75
Tabela 8.	Intumescimento (%Int) de Filmes de PVC em água	65
Tabela 9.	Intumescimento (%Int) de filmes de PVC em soluções aquosas de DMAEMA em diferentes proporções	79
Tabela 10.	Variação da %E _n em função da concentração de isopropanol e da dose de irradiação no sistema contendo 30% de DMAEMA	90
Tabela 11.	Variação da %E _n em função da concentração de isopropanol e da dose de irradiação no sistema contendo 45% de DMAEMA	92
Tabela 12.	Variação da %E _n em função da concentração de CuSO ₄ e da dose de irradiação no sistema contendo 30% de DMAEMA	93
Tabela 13.	Variação da %E _n em função da concentração de CuSO ₄ e da dose de irradiação no sistema contendo 45% de DMAEMA	95
Tabela 14.	Variação na %E _n para amostras irradiadas na presença e na ausência de heparina	96
Tabela 15.	Atribuição das principais bandas de absorção no espectro FTIR-ATR da amostra de PVC comercial	118

Tabela 16.	Atribuição das principais bandas de absorção FTIR do espectro de transmissão da amostra de DMAEMA.....	119
Tabela 17.	Atribuição das principais bandas de absorção FTIR-PAS da amostra de Heparina.....	122
Tabela 18.	Atribuição das principais bandas de absorção FTIR-PAS para a amostra de PVC-co-DMAEMA (30%), após tratamento com éter.	124
Tabela 19.	Atribuição das principais bandas de absorção FTIR-PAS para a amostra de PVC-co-DMAEMA (45%), após tratamento com éter.	124
Tabela 20.	Atribuição das principais bandas de absorção FTIR-PAS de PVC-co-DMAEMA-co-heparina.(30%)	128
Tabela 21.	Atribuição das principais bandas de absorção FTIR-PAS de PVC-co-DMAEMA-co-heparina.(45%)	129

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura sindiotática do PVC.....	22
Figura 2.	Estrutura do N,N-dimetilaminoetil metacrilato.....	25
Figura 3.	Unidades dissacarídicas constituintes da heparina: a) unidade de repetição principal; b) unidade de repetição secundária.....	26
Figura 4.	Seqüência pentassacarídica da heparina que se liga à antitrombina.....	27
Figura 5.	Efeito fotoelétrico em um átomo hipotético, onde N representa um núcleo.....	37
Figura 6.	Espalhamento Compton em um átomo hipotético.....	39
Figura 7.	Produção de pares em um átomo hipotético, onde N representa um núcleo.....	41
Figura 8.	Preparação de heparina-poli(álcool vinílico), HEP-PVA, usando glutaraldeído e $MgCl_2$ como catalisadores.....	59
Figura 9.	Mecanismo da Cascata de coagulação sangüinea.....	63
Figura 10.	Esquema da ativação do mecanismo de coagulação devido à interação do sangue com a superfície estranha [69].....	65
Figura 11.	Porcentagem de intumescimento de filmes de PVC imersos em soluções aquosas, contendo concentrações distintas de DMAEMA, em função do tempo (h).....	88
Figura 12.	Efeito da concentração de isopropanol na enxertia de filmes de PVC, irradiados com doses diferentes, em soluções contendo 30% de DMAEMA.....	91
Figura 13.	Efeito da concentração de isopropanol na enxertia de filmes de PVC, irradiados em doses diferentes, em soluções contendo 45% de DMAEMA.....	92
Figura 14.	Efeito da concentração $CuSO_4$ na enxertia de filmes de PVC, irradiados com doses diferentes, em soluções contendo 30% de DMAEMA.....	94
Figura 15.	Efeito da concentração de $CuSO_4$ na enxertia de filmes de PVC irradiados em soluções contendo 45% de DMAEMA.....	95

- Figura 16.** Variações nas dimensões em função do grau de enxertia: a) Filme de PVC; b) PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%); c) PVC-co-DMAEMA-co-heparina (45%)..... 97
- Figura 17.** Efeito térmico no decaimento dos radicais formados pela irradiação do PVC (Dose = 7,3 kGy; TD = 6,3 kGy h⁻¹): a) irradiado e medido a 77; b) irradiado a 77K e medido à temperatura ambiente. 100
- Figura 18.** Efeito térmico sobre os radicais formados pela irradiação do PVC a 77K (Dose = 7,3 kGy; TD = 6,3 kGy h⁻¹): a) sobreposição dos espectros, sem exposição aquecimento (—) e à temperatura ambiente (—); b) resultado da subtração dos espectros em (a). 101
- Figura 19.** Espectros RPE de amostras de DMAEMA irradiadas com raios gama (dose de 7,3kGy e TD de 6,7 kGy h⁻¹) e medidas a 77K: a) após a irradiação; b) após 20 segundos de exposição da amostra à temperatura ambiente; c) após 40 segundos de exposição da amostra à temperatura ambiente..... 105
- Figura 20.** Espectros RPE do DMAEMA irradiado e medido a 77K: a) Sobreposição dos espectros imediatamente após a irradiação(—) e após a exposição do tubo à temperatura ambiente por 20 segundos (—); b) Espectro resultante da subtração dos espectros em (a). 108
- Figura 21.** Unidade de repetição constitucional da heparina e da celulose. 109
- Figura 22.** Comparação entre os espectros RPE da heparina: a) irradiada e medida a 77K; b) irradiada a 77K e medida após exposição à 293K por períodos cronometrados e crescentes (5+10+15+15+30+60 segundos)..... 111
- Figura 23.** Efeito da temperatura sobre os radicais formados pela irradiação da heparina: a) sobreposição dos espectros da heparina irradiada e medida a 77K (—) e após exposição da amostra à temperatura ambiente por intervalos de tempo cronometrados e crescentes (—); b) espectro resultante da subtração dos espectros em a). 112
- Figura 24.** Espectro da heparina irradiada a 77K e medida à temperatura ambiente. 113

- Figura 25.** Sobreposição dos espectros RPE das amostras irradiadas e medidas a 77K de: DMAEMA (—), após a exposição à temperatura ambiente por 20 + 40 segundos, e do sistema de enxertia (PVC-DMAEMA-heparina-água-isopropanol) (—), logo após a irradiação. (Dose = 7,3kGy; TD = 6,3 kGy h⁻¹). 114
- Figura 26.** Comparação entre os espectros FTIR-ATR de: a) Filme de PVC não irradiado; b) Filme de PVC irradiado (Dose = 16kGy; TD = 0,8kGy h⁻¹). 116
- Figura 27.** Espectros FTIR-ATR de: a) Parte solúvel em éter da amostra de PVC-co-DMAEMA (30%). b) Parte solúvel em éter da amostra de PVC-co-DMAEMA (45%)..... 117
- Figura 28.** Comparação entre os espectros FTIR: a)DMAEMA não irradiado; b) DMAEMA irradiado (Dose = 3 kGy). 120
- Figura 29.** Comparação entre os espectros FTIR-PAS de amostras de heparina (pó): a) amostras de heparina: a) não irradiada; b) irradiada (Dose = 7,3 kGy; TD = 6,3 kGy h⁻¹) 121
- Figura 30.** Espectros FTIR-PAS, após extração em éter: a) Filme de PVC; b) Filme de PVC-co-DMAEMA (30%); c) Filme de PVC-co-DMAEMA (45%); d) DMAEMA. 126
- Figura 31.** Espectros FTIR-PAS: a) PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%); b) PVC-co-DMAEMA-co-heparina (45%)..... 127
- Figura 32.** a)Comparação das Micrografias (MEV) em função da concentração de DMAEMA (Dose: 1,5KGy; heparina: 0,25%): a) PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%); b) PVC-co-DMAEMA-co-heparina(45%)..... 130
- Figura 33.** Comparação entre as fotomicrografias (MEV) dos copolímeros de enxerto não heparinizados e heparinizados: a) PVC-co-DMAEMA; b) PVC-co-DMAEMA-co-heparina; c) PVC-co-DMAEMA; d) PVC-co-DMAEMA-co-heparina; 126
- Figura 34.** Comparação entre as fotomicrografias (MEV), após o contato com sangue total, das superfícies poliméricas não heparinizadas: a) PVC; b) PVC-co-DMAEMA (30%); c) PVC-co-DMAEMA(45%)..... 128

Figura 35. Comparação entre as fotomicrografias (MEV), após contato com sangue total, dos copolímeros de enxerto heparinizados: (a) PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%); (b) PVC-co-DMAEMA-co-heparina(45%).. 129

ESTUDO DA ENXERTIA E HEPARINIZAÇÃO SIMULTÂNEAS DO POLI(CLORETO DE VINILA, VIA RADIAÇÃO IONIZANTE

LUZ CONSUELO GONZALEZ ALONSO PANZARINI

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo a obtenção do copolímero de enxerto PVC-co-DMAEMA-co-heparina por meio do processo de irradiação simultânea utilizando radiação gama proveniente de uma fonte de ^{60}Co com taxa de dose variando entre 0,5 e 0,8 kGy h^{-1} . Os fatores de enxertia foram avaliados em função do tempo de intumescimento dos filmes de PVC antes da irradiação, da concentração do monômero hidrofílico N,N-dimetilaminoetil metacrilato (DMAEMA), da dose de irradiação que variou entre zero e 7,0kGy e da concentração de isopropanol e de CuSO_4 como inibidores de homopolimerização, variando de 0,02 mol L^{-1} a 1,00 mol L^{-1} . Estudos preliminares permitiram fixar a concentração de DMAEMA em 30 e 45%. Nas duas concentrações de DMAEMA estudadas, os níveis mais altos de enxertia foram observados quando se utilizaram concentrações de 0,02 mol L^{-1} do inibidor de homopolimerização. Um estudo em função da dose de radiação mostrou uma interdependência entre a dose de radiação e a concentração de DMAEMA, observando-se os níveis mais altos de enxertia em doses de 2,5kGy e 5,0kGy para os sistemas contendo 45% e 30% de DMAEMA, respectivamente. A caracterização do copolímero de enxerto, realizada por espectroscopia de absorção fotoacústica na região do infravermelho com transformada de Fourier, FTIR-PAS, evidenciou os maiores níveis de enxertia para as amostras irradiadas com 45% de DMAEMA, entretanto a presença de heparina somente foi evidente nas amostras irradiadas com 30% de DMAEMA. A análise morfológica superficial, realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), permitiu observar que a adição de heparina no meio reacional, (0,25% m/v) levou à obtenção de superfícies menos

rugosas que aquelas observadas na ausência de heparina, sugerindo uma distribuição mais homogênea das cadeias enxertadas. A avaliação das propriedades antitrombogênicas dos copolímeros de enxerto, realizada "in vitro" pelo estudo da adesão de plaquetas, mostrou que o aumento da rugosidade superficial afeta os mecanismos de ativação plaquetária, levando a uma superfície mais trombogênica. A análise por espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) mostrou que o decaimento cinético dos radicais do PVC-co-DMAEMA-co-heparina é fortemente induzido pelos radicais formados na radiólise do DMAEMA e do PVC. O copolímero de enxerto PVC-co-DMAEMA-co-heparina que apresentou superfície menos trombogênica foi obtido por meio da irradiação simultânea, com dose de 5,0kGy, de filmes de PVC, imersos em soluções aquosas contendo DMAEMA (30%), heparina sódica (0,25% m/v) e isopropanol ($0,02 \text{ mol L}^{-1}$).

STUDY OF THE SIMULTANEOUS GRAFTING AND HEPARINIZATION OF POLY(VINYL CHLORIDE), BY GAMMA RADIATION

LUZ CONSUELO GONZALEZ ALONSO PANZARINI

ABSTRACT

This work had the objective of obtaining the PVC-co-DMAEMA-co-Heparin graft copolymer through process of simultaneous irradiation by γ -radiation coming from a ^{60}Co source with dose rate ranging between 0,5 and 0,8 kGy h^{-1} . Grafting parameters were evaluated in function of PVC film swelling time before irradiation, concentration of hydrophilic N,N-dimethylaminoethyl metacrylate (DMAEMA) monomer, radiation doses ranging between zero and 7,0kGy, concentration of isopropyl alcohol and CuSO_4 as homopolymerization inhibitors varying from 0,02 mol L^{-1} to 1,0 mol L^{-1} . Preliminary studies allowed us to establish the concentration of DMAEMA at 30 and 45%. At these two studied concentrations, were observed the highest grafting levels when was utilized 0,02 mol L^{-1} concentrations of homopolymerization inhibitor. A study of grafting as a function of the dose showed an interdependence between the dose and DMAEMA concentration, where was achieved the highest grafting level at doses of 2,5kGy and 5,0kGy for the systems containing 45% and 30% of DMAEMA, respectively. Graft copolymer characterization, accomplished by Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy (FTIR-PAS) evidenced the largest grafting levels for the irradiated samples with 45% of DMAEMA, however heparin presence was only evident on irradiated samples with 30% of DMAEMA.

Surface morphological analysis, carried out by scanning electronic microscopy, permitted us to notice that addition of heparin to the reaction medium (0.25% w/v) led to obtaining surfaces less rough than those ones observed in heparin absence, suggesting then a more homogeneous distribution of the graft chains. Evaluation of antithrombogenic properties of the graft copolymers, accomplished "in

vitro" through platelets adhesion test, showed that the increase of surface roughness affects the blood platelet activation mechanisms, leading consequently to a more thrombogenic surface. Analysis by means of electron paramagnetic resonance spectroscopy showed that the kinetical decay of radicals of PVC-co-DMAEMA-co-heparin is strongly induced by radicals formed throughout the radiolysis of DMAEMA and PVC. The PVC-co-DMAEMA-co-heparin graft copolymer that presented less thrombogenic surfaces was obtained by means of a simultaneous radiation beam dose of 5,0KGy on PVC films immersed in aqueous solutions containing DMAEMA (30%), heparin sodium salt (0,25%w/v) and isopropanol (0,02 mol L⁻¹).

1 INTRODUÇÃO

A modificação de materiais poliméricos para aplicações biomédicas vem sendo cada vez mais estudada, pois os sistemas poliméricos vêm substituindo com vantagens outros materiais devido às suas propriedades físicas e mecânicas associadas às características como disponibilidade e variedade de composições e formas [1].

Nos últimos anos vem sendo observado um aumento no estudo de métodos alternativos que levem à obtenção de materiais poliméricos com propriedades hidrofílicas, com o intuito de conferir características mais deslizantes e lubrificantes às superfícies de artefatos médicos como cateteres, sondas para alimentação e drenos, reduzindo desta forma traumas físicos e possíveis infecções aos pacientes [2].

As modificações em superfícies poliméricas podem ser físicas, químicas ou biológicas. Estas alterações têm sido conseguidas por meio de métodos que variam desde a aplicação de géis e óleos de silicone, até o recobrimento da superfície polimérica com monômeros hidrofílicos como poli(vinilpirrolidona), poli(álcool vinílico) e hidroxietilmetacrilato por meio da imersão do artefato polimérico nestes monômeros [2]. A introdução de grupos funcionais específicos, como SO_3 , $\text{C}=\text{O}$ e COOH , leva a modificações físicas e químicas, aumentando a hidrofiliabilidade do material, bem como promovendo alterações tanto nas propriedades mecânicas como nas propriedades térmicas [3]. Por outro lado, a imobilização da heparina, ou enzimas fibrinolíticas, como a albumina, melhoram as características biocompatíveis do material [4].

Um método bastante eficiente para se obter superfícies mais deslizantes permanentemente, consiste na copolimerização por enxertia de monômeros solúveis em água sobre matrizes poliméricas, gerando assim ligações covalentes entre as moléculas do monômero e a cadeia polimérica [2].

A técnica de enxertia, induzida pela radiação ionizante, é um método alternativo para a modificação de materiais poliméricos [5, 6, 7].

A obtenção de um copolímero de enxerto pode ocorrer por três técnicas principais: pré-irradiação, na qual ocorre a ativação da matriz polimérica para imersão posterior na solução monomérica; peroxidação onde a matriz polimérica é irradiada na presença de oxigênio, formando grupos hidroperóxidos que se decompõe após exposição à temperatura ambiente; e irradiação simultânea, na qual a matriz polimérica é imersa em solução monomérica e ambos são irradiados [8, 9].

De acordo com informações do INCOR*, as mangueiras nacionais dos equipamentos de hemodiálise, que são de poli(cloreto de vinila) (PVC) foram substituídas por mangueiras importadas, devido à baixa qualidade que apresentaram quanto às suas propriedades hemocompatíveis.

Com base nestas informações e no interesse demonstrado pelo INCOR em solucionar este problema, decidiu-se estudar neste trabalho a enxertia e heparinização simultâneas do PVC nacional, via radiação gama.

O uso da radiação ionizante como um processo alternativo para a enxertia e heparinização do PVC comercial, traz a vantagem de poder realizar-se em uma única etapa, além de ser um processo limpo, livre de catalisadores e outros agentes químicos que comprometam a sua utilização para fins médicos [10].

1.1 Objetivo e originalidade

Este trabalho estuda a viabilidade de heparinização e enxertia do PVC nacional pelo processo simultâneo, que é realizado em uma única etapa, usando-se o monômero hidrofílico N,N-dimetilaminoetil metacrilato, DMAEMA, por meio da irradiação com raios gama. A originalidade deste trabalho encontra-se justamente no processo de irradiação simultânea do sistema PVC-DMAEMA-heparina em meio aquoso eliminando-se as etapas correspondentes à pré-irradiação e posterior imobilização da heparina, como também a necessidade de

* Reunião realizada no Departamento de Bioengenharia do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas de São Paulo (INCOR).

tratamentos químicos como a quaternização do grupo amina por meio da adição de sais de amônio.

2 NOÇÕES GERAIS

Nesta seção serão abordadas algumas noções gerais sobre o PVC, o DMAEMA e a heparina além de processos envolvidos para a obtenção do copolímero de enxerto, utilizando-se a radiação ionizante.

2.1 Materiais

2.1.1 Poli(cloreto de vinila) - PVC

O PVC é um dos membros da família dos polímeros termoplásticos conhecidos como “vinílicos” como o polietileno, polipropileno, entre outros [11].

É uma resina sintética obtida pela polimerização do cloreto de vinila, que consiste na união de vários meros, formando longas cadeias. Desta forma, é possível com a variação das condições de polimerização, a obtenção de resinas com determinadas características para aplicações diversas.

O cloreto de vinila é um gás com ponto de ebulição igual a -14°C , produzido pela desidrocloração do dicloroetileno. Quase todo o cloreto de vinila produzido é utilizado em polimerização, tomando-se muito cuidado devido à natureza carcinogênica do monômero [11, 12]. Mais de 80% de todo o PVC é produzido pelo processo de polimerização por suspensão, tal processo emprega água como fase contínua, e o monômero é disperso por meio de agentes de suspensão. O tamanho das partículas varia entre 50 e 250μ .

Como iniciadores para o processo de polimerização, utilizam-se peróxidos orgânicos solúveis no monômero [12, 13]. A seleção correta dos mesmos permite ajustar a temperatura de forma a obter uma massa molar adequada.

A conformação mais estável do PVC é aquela que apresenta uma cadeia planar em “zigue-zague” na configuração sindiotática, Figura 1, com uma distância repetitiva correspondente a uma cadeia de quatro átomos de carbono

[4]. Esta estrutura é a responsável pela fração cristalina do PVC comercial, em torno de 5-10% [11, 12].

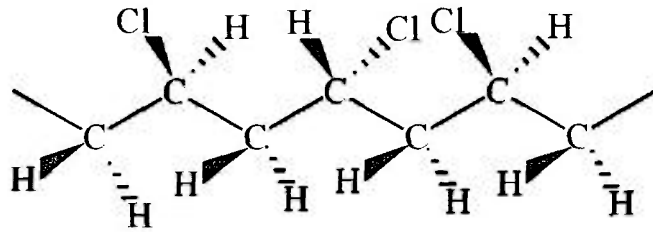


Figura 1. Estrutura sindiotática do PVC.

O PVC é rígido, devido as fortes interações decorrentes das ligações entre os hidrogênios dos grupos metilênicos de uma cadeia e átomos de cloro de outra. Esta rigidez é diminuída a partir da destruição ou enfraquecimento destas interações [11, 12].

Durante o processamento podem ser adicionados aditivos, necessários na fabricação de artefatos flexíveis [14]. O termo aditivo é empregado para designar as substâncias que, aplicadas em pequenas concentrações, melhoram algumas propriedades físicas, químicas ou elétricas do produto final [15].

Os principais aditivos são:

- Plastificantes
- Estabilizantes
- Cargas
- Lubrificantes
- Corantes
- Retardadores de Chama
- Agentes de Expansão
- Anti-Estáticos

Os plastificantes são aditivos que podem ser definidos como solventes não voláteis que, adicionados ao PVC reduzem as forças intermoleculares próprias das cadeias poliméricas. O PVC sem plastificantes é duro, rígido e degrada-se facilmente sob a ação do calor durante o processamento. A plastificação é adotada, normalmente, para polímeros que apresentam forte atração intermolecular, como o PVC [13, 14, 16].

As principais funções de um plastificante são:

- Abaixar a temperatura de processamento do polímero;
- Modificar as propriedades do produto final;
- Aumentar a resistência ao impacto;
- Diminuir a rigidez;
- Diminuir a dureza;
- Diminuir a resistência à tração e compressão, entre outras;

Os estabilizantes são adicionados com a finalidade de evitar ou minimizar a degradação de materiais plásticos, como o PVC, durante o processamento e durante a aplicação do produto final [14].

Entende-se por degradação a ruptura total ou parcial das cadeias poliméricas provocadas pela ação de agentes físicos e químicos [6, 15].

As cargas são adicionadas com a principal finalidade de reduzir os custos das composições. Entretanto, muitas delas servem como materiais de reforço, melhorando as propriedades físicas dos produtos acabados. Podem ser classificadas em orgânicas e inorgânicas, sendo que as cargas inorgânicas têm certas vantagens sobre as orgânicas, como a melhoria da resistência térmica, à umidade e à eletricidade [14].

Os lubrificantes são adicionados aos materiais plásticos principalmente para facilitar o processamento, impedindo a aderência do material nas diversas partes do equipamento [12].

Os aditivos empregados na coloração dos materiais plásticos podem ser divididos em 2 grupos: pigmentos e anilinas [17].

Os retardadores de chama têm como função melhorar as características de resistência do material à chama. Estes aditivos podem ser classificados de acordo com a sua natureza química em orgânicos, tais como ésteres do ácido fosfórico e parafinas cloradas e, inorgânicos como é o caso dos compostos de antimônio [14, 16].

Os agentes de expansão são compostos orgânicos ou inorgânicos, capazes de liberar substâncias gasosas por meio de reações químicas. São

usados para diminuir a densidade, modificando as propriedades mecânicas dos materiais [14].

Os antiestáticos são usados na forma de películas do agente aditivo ou de lubrificantes, em filmes e laminados para diminuir o atrito durante o processamento, transferindo a carga estática para a umidade do ar [14, 16].

Cerca de 55% do PVC é usado para a obtenção de materiais rígidos, o restante é usado na forma de composições plastificadas [16, 18].

O PVC plastificado também é muito usado na fabricação de suprimentos médicos, tais como bolsas de sangue, tubos cirúrgicos, conjuntos para diálise e conjuntos para infusão [19, 20].

Durante os últimos anos, o PVC tem encontrado restrições quanto à sua utilização para fins biomédicos, pois alguns estudos mostraram que constituintes de massas molares baixas, no PVC aditivado, podem ser liberados quando o polímero é colocado em contato com os componentes do sangue ou com fluidos fisiológicos de organismos vivos, levando a alterações nas propriedades do material, bem como efeitos tóxicos e biológicos ao paciente [21].

Uma das alternativas para este problema é a modificação do PVC por meio da enxertia de monômeros, que devido às estruturas cruzadas diminuem o processo de extração do plastificante, confirmando ao polímero as propriedades desejadas para sua utilização como biomaterial [22].

A eficiência da enxertia induzida pela radiação ionizante depende do rendimento radiolítico de radicais livres (G_R) da matriz polimérica e do monômero utilizado. O valor de G_R é definido como o número de radicais livres formados por 100eV de energia absorvida por grama de material [6, 23]. O PVC é um dos polímeros mais suscetíveis à enxertia via radiação ionizante pelo método direto, devido o seu valor de G_R alto.

2.1.2 N,N-dimetilaminoetil metacrilato (DMAEMA)

O DMAEMA vem sendo instrumento de uma série de estudos [24, 25, 26], que avaliam a modificação de polímeros como as siliconas, poliuretanas, polifosfazanas, politetrafluoroetilenos e borrachas naturais, por meio

da enxertia destes monômeros às estruturas poliméricas. A presença do grupo acrilato e do grupo amina em sua estrutura química, Figura 2, confere aos copolímeros de enxerto características hidrofílicas, sem prejuízo de suas propriedades mecânicas [25].

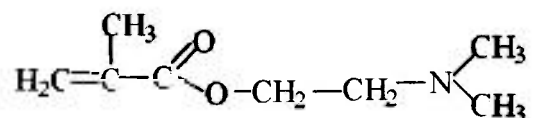


Figura 2. Estrutura do N,N-dimetilaminoetil metacrilato

Copolímeros de enxerto de DMAEMA são chamados de hidrogéis, pois apresentam como característica o fato de intumescerem em água sem serem dissolvidos [27, 28]. Estes hidrogéis têm sido muito utilizados como substratos para a imobilização de substâncias com propriedades anticoagulantes reconhecidas, como a heparina e albumina [29, 30, 31]. A quaternização do grupo amina leva a uma imobilização iônica destas substâncias anticoagulantes formando os correspondentes sais de amônio quaternário [27, 28].

Os copolímeros de enxerto, obtidos pela irradiação de polifosfazanas e DMAEMA com radiação gama, apresentaram propriedades mecânicas satisfatórias, e melhoria das características hidrofílicas [28]. Entretanto, a imobilização iônica da heparina resultou em diminuição da biocompatibilidade do material, comparada à da amostra não heparinizada [1].

Estudos realizados pelas indústrias Toray no Japão [28], com cateteres revestidos por copolímeros de enxerto de DMAEMA e metoxipolietilenoglicol monometacrilato (MPEG) heparinizados, obtidos por processos químicos e fotoquímicos com radiação ultravioleta (UV), confirmaram a natureza antitrombogênica destes materiais por meio de testes “in-vivo” e “ex-vivo”.

Neste trabalho optou-se pela utilização do DMAEMA devido às suas características hidrofílicas e à eficiência antitrombogênica comprovada dos copolímeros de enxerto obtidos.

2.1.3 Heparina

A heparina é um mucopolissacarídeo aniônico de ação anticoagulante bastante conhecida. Possui uma massa molecular que varia de 5.000 a 20.000 Daltons, sendo que a massa molecular média é de 15.000 Daltons [24].

A heparina foi descoberta em 1916 e tem sido usada clinicamente como um anticoagulante desde 1935 [27], sendo que sua utilização como agente terapêutico natural ocupa o segundo lugar, ficando atrás apenas da insulina. É preparada a partir de mucosas de pulmão bovino e de intestino suíno, sendo esta última a que apresenta um melhor efeito anticoagulante (antifator Xa) [24, 32, 33]. Sua atividade biológica da heparina resulta de sua interação com uma proteína natural do plasma, e o complexo formado inativa os fatores responsáveis pela cascata de coagulação[32], item 2.6.2.

A estrutura da heparina ainda não é bem conhecida. Conhecem-se apenas as estruturas dissacarídicas, presentes na cadeia polissacarídica [34]. Por isso, a pureza da heparina é determinada em função da preparação a partir de oligossacarídeos ou polissacarídeos compostos de unidades dissacarídicas de ácido urônico-(1,4)-D-glucosamina, Figura 3 [34].

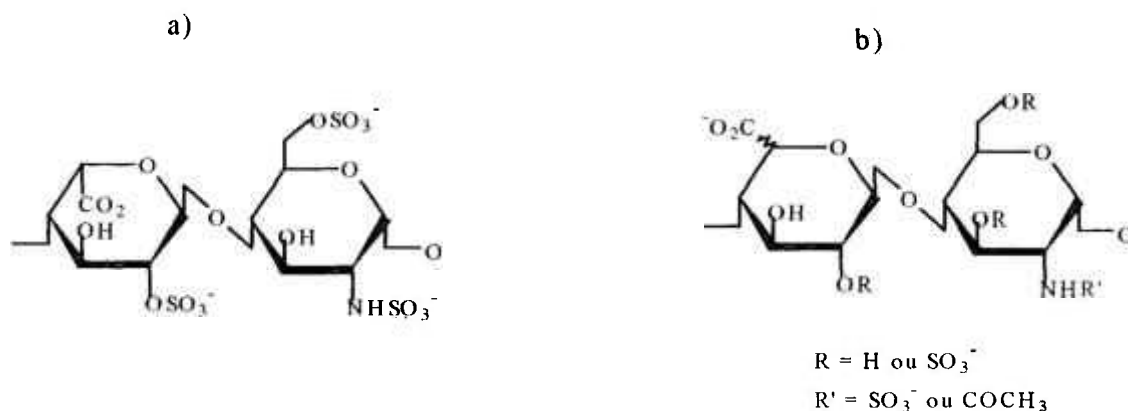


Figura 3. Unidades dissacarídicas constituintes da heparina: a) unidade de repetição principal; b) unidade de repetição secundária.

A descoberta de que apenas um terço das cadeias polissacarídicas na preparação da heparina, tem atividade anticoagulante, e que esta atividade reside em uma única seqüência pentassacarídica, Figura 4, com a propriedade de ligar-se á antitrombina, tem despertado um interesse muito grande na caracterização detalhada dos níveis de interações moleculares da heparina com proteínas e peptídeos [32, 33].

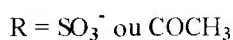
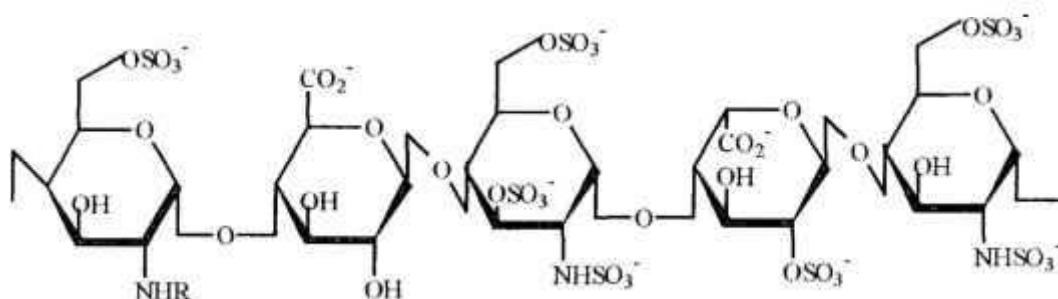


Figura 4. Seqüência pentassacarídica da heparina que se liga à antitrombina.

A irradiação de soluções aquosas de heparina com radiação gama leva principalmente à formação de produtos ácidos e reduzidos, como resultado do ataque pelos radicais $\text{OH}\bullet$ [35, 36, 37]. Também ocorre a despolimerização resultando em dextrinas menores, porém sem perda de grupos sulfatos o que resultaria em diminuição na capacidade do poliânion de se ligar [1, 35].

Por outro lado o oxigênio exerce um efeito protetor que pode ser atribuído à inibição do elétron solvatado, Equação 1 [34, 35].



Chawla e Hayward [36] verificaram que a irradiação de soluções aquosas de heparina com radiação gama em doses de 4,6 a 9,2 kGy provoca uma diminuição na massa molar média da heparina entre 8 e 10%, observando-

se uma dependência entre a massa molar média e a atividade anticoagulante da heparina [37].

Frações de heparina de massa molar média menor, entretanto, têm apresentado maior atividade anticoagulante, sendo que as frações de baixa massa molar, obtidas por meio de irradiação com radiação gama não apresentaram perda significativa das propriedades anticoagulantes [34, 35, 38]. As frações de massa molar média mais baixas, de 4.000 a 7.600 apresentam um efeito anticoagulante maior [36, 37, 38].

2.2 Química das radiações

A química das radiações estuda os efeitos químicos da radiação ionizante de alta energia provocados na matéria [15].

Os tipos de radiação mais comuns são aqueles produzidos pelo decaimento de núcleos radioativos e incluem as radiações eletromagnéticas (radiação gama) e a emissão de partículas (α , β , elétrons, prótons, nêutrons e fragmentos de fissão).

Os raios X são produzidos pela interação de um feixe de elétrons com a eletrosfera do átomo [39].

Na radiólise, as alterações químicas induzidas por radiação são provocadas por uma mistura de espécies primárias e intermediárias reativas, que incluem íons, moléculas excitadas e radicais livres [40].

A principal característica da radiação de alta energia, radiação ionizante, encontra-se no fato de provocar ionização em todos os materiais. Apenas parte da energia da radiação pode ser transferida em uma única interação e o processo não é seletivo.

A energia depositada é suficiente para quebrar ligações químicas, responsáveis pela característica molecular das substâncias, as quais podem se rearranjar num curto intervalo de tempo. Esta é a base físico-química do uso da radiação ionizante em processos industriais e nas pesquisas com polímeros [15].

O fóton ionizante ou partícula e o elétron secundário são capazes de produzir ionização, por isso um único fóton incidente pode afetar milhares de moléculas [40].

A química das radiações teve origem com a descoberta dos raios X por Roentgen em 1895 e da radioatividade por Becquerel em 1896. Estas descobertas ocorreram a partir de observações de que tubos de descarga e sais de urânio emitem raios penetrantes, que podem passar pelos materiais opacos, provocando o escurecimento de emulsões fotográficas.

Em seguida, os estudos de comparação da radiação ionizante, produzida por vários minerais e sais de urânio, levaram à descoberta e isolamento do polônio e do rádio por Pierre e Marie Curie, em 1898 [41]. A descoberta desses elementos e o isolamento de quantidades apreciáveis de rádio foram importantes para iniciar o estudo da química das radiações porque tornaram possível obter fontes de radiação. Nos anos seguintes, os efeitos químicos da radiação foram investigados com muito interesse [41].

Marie Curie e Debiere, 1901, estudaram a decomposição da água contendo sais de rádio, com a formação contínua de gás [41].

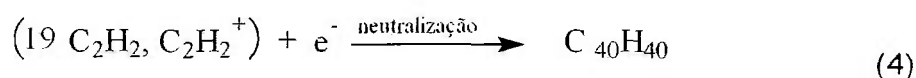
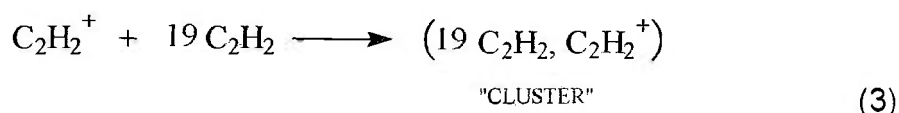
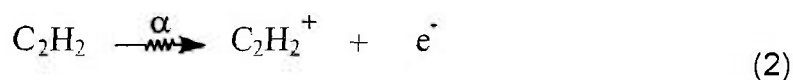
Em 1902, Geisel observou a formação de gás em soluções aquosas de RaBr. No ano seguinte, 1903, Ramsay e Soddy mostraram que o gás formado corresponde a uma mistura de H₂ e O₂ [41].

Em 1907 Bragg usou esses resultados e fez a primeira relação entre o efeito químico e ionizante das partículas alfa (α), calculando o número de moléculas de água decompostas e o número de íons que poderiam ser produzidos no ar, verificando a igualdade [41].

Em 1910, Marie Curie propôs que o efeito primário da radiação ionizante em qualquer substância é a formação de íons, os quais são os precursores da ação química. Essa relação foi colocada em bases firmes quando Lind, 1912, mediu pela primeira vez o rendimento radiolítico (M/N), por meio da determinação de formação de O₃ a partir da irradiação do ar com partículas α , sendo que $M/N = 0,5$ moles de O₃ / pares iônicos formados [41].

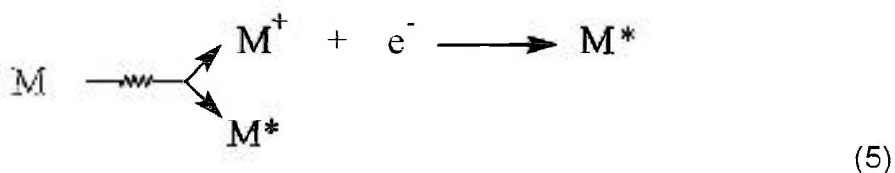
Entre 1928 e 1934 Lind e Mund propõem a teoria do aglomerado (clusters) para explicar porque $M/N > 1$, enquanto que o rendimento quântico observado em fotoquímica era $M/N = 1$.

Um exemplo, onde a teoria do aglomerado explica estes fenômenos, é a irradiação do etino (C_2H_2) com partículas α , produzindo o cupreno ($C_{40}H_{40}$), onde $M/N = 20$, Equações 2 a 4.



A teoria do aglomerado foi questionada por Eyring, Hirschfelder e Taylor, os quais demonstraram matematicamente que aglomerados grandes são impossíveis de se formarem e voltaram a atenção para o fato de que $W > PI$, onde W é a energia necessária para formar um par iônico e PI é o potencial de ionização. As partículas e as radiações não produzem ionização em cada impacto. Se a energia for insuficiente produz excitação:

Os cálculos experimentais mostravam que $PI \cong 9-15\text{eV}$ e $W \cong 25-35\text{eV}$, medidos por campo elétrico. Como $W \cong PI$ metade da energia absorvida ioniza a matéria e a outra metade excita, Equação 5. Portanto, $W - PI = E^*$, onde E^* é a energia de excitação.



Como o primeiro estado de excitação é $\frac{3}{4}$ do PI , formam-se mais moléculas excitadas do que íons (1,3 vez). Por isso, as moléculas excitadas não

podem ser desprezadas. Tanto os íons excitados como as moléculas excitadas produzem radicais livres.

Entre 1938 e 1958, Essex e colaboradores estudaram as reações na fase gasosa promovidas por radiação na presença e na ausência de campo elétrico, verificando que mesmo que a neutralização iônica não ocorra, o rendimento químico não é afetado significativamente, demonstrando que as espécies excitadas também eram precursoras de produtos [41]. Durante a segunda guerra mundial, foi desenvolvido o primeiro reator nuclear, como parte do projeto **Manhattam**, dando início a uma nova era em química das radiações.

A viabilidade de isótopos radioativos, provenientes de reatores nucleares, a construção de aceleradores de partículas e a necessidade do desenvolvimento da energia atômica, visando a utilização de refrigerantes e moderadores para os reatores nucleares e o reprocessamento de elementos combustíveis, resultaram em uma vasta investigação da química das radiações. Um dos benefícios da química das radiações tem sido o aumento na disponibilidade de isótopos radioativos artificiais como ^{60}Co e o ^{137}Cs , que proporcionam fontes de radiação intensas e relativamente baratas [42].

A técnica de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) foi desenvolvida neste período e permitiu investigar a presença e o comportamento dos radicais livres formados durante a radiólise de compostos químicos. Deste modo, a química das radiações desenvolveu a química dos radicais. Por outro lado, a espectrometria de massa permitiu mostrar as reações íons-moléculas, enquanto que a existência do elétron solvatado pôde ser demonstrada por meio da técnica de radiólise por pulso.

A partir de 1960 os efeitos das radiações em sistemas diferentes estavam bem estabelecidos e os mecanismos de reações bem claros.

Na década de 70 a radiação passou a ser usada mundialmente na radioesterilização de suprimentos médicos, bem como na reticulação de fios e cabos para a indústria.

As fontes de radiação, Tabela 1, usadas nos estudos da química das radiações e nos processos de aplicações da radiação, podem ser divididas em dois grupos, aquelas que utilizam isótopos radioativos naturais ou artificiais e os que empregam máquinas para acelerar partículas [41].

Tabela 1. Isótopos usados como fontes de radiação [41]

Isótopos radioativos	Meia vida	Tipo de radiação	Energia (MeV)
Isótopos Naturais			
^{210}Po	138 dias	α	5,304 (99,99%)
		γ	0,8 (0,0012%)
^{226}Ra	1620 anos	α	4,777 (94,3%)
		α	4,589 (5,7 %)
		γ	0,188 (~4 %)
^{222}Rn	3,83 dias	α	5,49 (100%)
Isótopos Artificiais			
^{137}Cs	30 anos	β	1,18 (max.) (8%)
		β	0,52 (max.) (92%)
		γ	0,6616 (82%).
^{60}Co	5,27 anos	β	0,314 (max.)
		γ	1,323
		γ	1,173
^3H	12,26 anos	β	0,018 (max.)
^{32}P	14,22 dias	β	1,710 (max.)
^{90}Sr	28 anos	β	0,544 (max.)
^{192}Ir	64 horas	β	2,25 (max.)
^{19}F	87,2 dias	β	0,167 (max.)

Os tipos de radiações ionizantes serão discutidos separadamente, para que se possa ter uma melhor compreensão dos processos pelos quais a radiação interage com a matéria, promovendo as alterações químicas decorrentes da absorção da radiação pelo material.

Partículas alfa (α) [41]

As partículas α possuem carga e massa, sendo consideradas pesadas. Estas partículas são núcleos de hélio, ${}^4_2\text{He}^{2+}$, emitidos por núcleos radioativos com energias discretas, que são características do decaimento de radioisótopos. O ${}^{210}\text{Po}$, por exemplo, emite partículas α com energia de 5,304MeV.

As partículas α perdem energia rapidamente ao atravessarem materiais líquidos ou sólidos e têm um alcance muito limitado em sistemas condensados. Nos gases, a penetração é maior, porém à pressão atmosférica esta penetração ainda é limitada a alguns centímetros. O alcance da partícula é dependente da densidade do meio e da pressão do gás e é definido como a média do comprimento da trajetória, percorrida por uma grande população de partículas idênticas, até que estas entrem em repouso.

A perda de energia ocorre principalmente por meio de colisões com elétrons que se encontram no caminho das partículas α , as quais têm uma massa muito maior que a do elétron. Estas colisões provocam a perda de uma pequena fração de sua energia, fazendo com que as partículas sejam gradativamente freadas, sem que haja alteração de suas trajetórias.

As alterações químicas nas amostras expostas à radiação ionizante são o resultado da transferência de energia da radiação para a amostra (LET), que é a energia perdida por unidade de comprimento percorrido e da radiação. A LET média pode ser obtida dividindo-se a energia inicial de uma partícula por seu alcance médio. As aplicações desse tipo de radiação ionizante são raras hoje em dia.

Radiação beta (β) [41].

A radiação β é uma radiação ionizante que também possui carga e massa e é considerada leve, pois consiste em elétrons rápidos, emitidos por um núcleo radioativo, com energias diferentes que variam de zero até um valor máximo (E_β) que é característico do elemento. A energia máxima das partículas β , E_β , determina o maior alcance que a partícula β terá no material.

A radiação β perde energia ao passar através da matéria, devido às colisões inelásticas com elétrons. Entretanto, como as partículas β têm a mesma massa dos elétrons, perdem mais da metade da sua energia em uma única colisão e podem ser defletidas em grandes ângulos. A deflexão também pode ocorrer quando a partícula passa próxima a um núcleo atômico, devido à diferença de cargas. A radiação β não tem um alcance fixo nos materiais, mas tem uma distância máxima de penetração ou alcance máximo. Este alcance é determinado, geralmente, usando-se absorvedores de alumínio [42].

Feixes de elétrons [41].

Os feixes de elétrons apresentam as mesmas características que a radiação β , exceto pelo fato de serem originados na eletrosfera do átomo. São acelerados em máquinas, chamadas de aceleradores de elétrons, que operam pela aplicação de grandes diferenças de potenciais, gerando elétrons monoenergéticos, mas com energias variáveis e bem maiores que aquelas observadas para as radiações β . Encontram muitas aplicações na indústria (reticulação de cabos e fios), no meio ambiente (tratamento de efluentes e gases) e na saúde (radioesterilização).

Raios X [41].

Os raios X são radiações eletromagnéticas, sem carga e sem massa, oriundas da eletrosfera do átomo como consequência da interação de elétrons de alta energia com os elétrons dos átomos do absorvedor. Têm alto poder de penetração e sua aplicação, consagrada na medicina, surgiu logo após sua descoberta e hoje é conhecida como radiologia sendo fortemente associada à odontologia e à ortopedia.

Radiação gama [41].

A radiação gama também é uma radiação eletromagnética sem carga e sem massa, mas de origem nuclear, com comprimentos de onda na região entre $3 \times 10^{-11}\text{m}$ a $3 \times 10^{-13}\text{m}$. A relação entre o comprimento de onda e a energia é dada por:

$$E = \frac{hc}{\lambda} \quad (6)$$

onde, h é a constante de Planck, c é a velocidade da luz e λ é o comprimento de onda. Substituindo os valores das constantes na Equação 6, tem-se a Equação 7:

$$E(\text{eV}) = \frac{1,24 \times 10^{-6}}{\lambda(\text{m})} \quad (7)$$

Para os comprimentos de onda entre $3 \times 10^{-11}\text{m}$ e $3 \times 10^{-13}\text{m}$ tem-se energias entre 40keV e 4MeV. A radiação gama emitida por isótopos radioativos é monoenergética ou tem um pequeno número de energias discretas. O ^{60}Co , por exemplo, fornece fótons de energia igual a 1,332 e 1,173MeV, considerando-se 1,25MeV como a energia média. O ^{60}Co e o ^{137}Cs são dois radioisótopos artificiais, utilizados atualmente como fontes de radiação gama [43].

Ambos são relativamente baratos. O ^{60}Co fornece radiação gama de alta energia, que é mais penetrante, enquanto que o ^{137}Cs tem a vantagem de ter uma meia-vida cerca de seis vezes maior e, conseqüentemente, uma menor frequência de reposição da fonte. Entretanto, o ^{60}Co é produzido pela irradiação do ^{59}Co em aceleradores de partículas, na forma de óxido de cobalto, enquanto que o ^{137}Cs é um subproduto do processo de fissão em reatores nucleares, o que torna o uso de ^{60}Co , preferencial em relação ao ^{137}Cs .

Ao contrário das partículas α e β que perdem energia, por meio de pequenas transferências de energia, os fótons γ tendem a perder a maior parte de sua energia por meio de interações únicas. O resultado é que, enquanto as partículas α e os elétrons são freados por absorvedores finos, uma fração dos fótons gama, na mesma situação, é completamente absorvida, mas os restantes

são transmitidos com sua energia inicial total. O número de fótons transmitidos (N) através de uma lâmina de material absorvedor é dado por:

$$N = N_i e^{-\mu \cdot \ell} \quad (8)$$

onde, N_i é o número de fótons incidentes, ℓ é a espessura do absorvedor e μ é o coeficiente de atenuação que depende do absorvedor e da energia dos fótons [42]. Como as radiações gama não têm um alcance definido na matéria, usa-se o termo “espessura média” para relatar o número de fótons transmitidos sem perda de energia para a espessura do material absorvedor. A espessura média é a espessura do absorvedor que é necessária para reduzir a intensidade da radiação gama pela metade, e pode ser calculada pela Equação 8. Se μ for conhecido, o valor da espessura média é igual a $0,6931 \mu^{-1}$.

O efeito do material absorvedor é o de reduzir o número de fótons transmitidos e a intensidade da radiação. A intensidade da radiação é definida como a energia da radiação (produto do número de fótons pela energia média) passando através de uma esfera de área seccional unitária em um tempo unitário em um ponto de interesse ($J m^{-2} s^{-1}$).

A redução na intensidade da radiação (d_{Int}), ao passar por uma espessura pequena (d_{esp}) do material, é dada pela Equação 9, onde I_i é a intensidade da radiação incidente e μ é o coeficiente de atenuação linear total do material, em m^{-1} ou cm^{-1} .

$$d_{Int} = -I_i \mu d_{esp} \quad (9)$$

O coeficiente de atenuação linear total é a fração do feixe incidente, desviado por unidade de espessura do absorvedor, que é constante para um dado material e uma radiação de determinada energia, mas que varia de material para material e para fótons de energias diferentes. A Equação 9 pode ser aplicada somente quando d_{Int} e d_{Esp} são muito pequenos, mas a integração desta equação fornece uma expressão que não se restringe a estes fatos, Equação 10, onde, I é a intensidade da radiação transmitida através da espessura (esp) do absorvedor.

$$I = I_i e^{-\mu_{esp}} \quad (10)$$

Dividindo o coeficiente de atenuação linear pela densidade (ρ) do material absorvedor, Equação 11, obtém-se o coeficiente de atenuação de massa (μ/ρ), que independe da densidade e do estado físico do material.

$$\frac{\mu(\text{m}^{-1})}{\rho(\text{Kg m}^{-3})} = \frac{\mu}{\rho} (\text{m}^2 \text{Kg}^{-1}) \quad (11)$$

Efeito fotoelétrico [41]

Fótons de baixa energia, da ordem de algumas centenas de Kev, interagem principalmente por meio do efeito fotoelétrico, Figura 5.

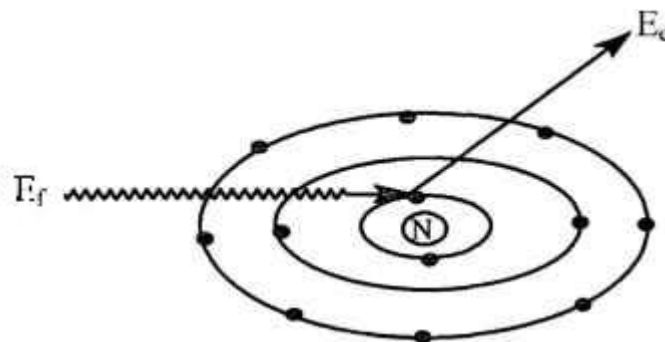


Figura 5. Efeito fotoelétrico em um átomo hipotético, onde N representa um núcleo.

Neste tipo de interação a energia total do fóton (E_f) é transferida para um dos elétrons internos no átomo, o qual é ejetado com uma energia cinética (E_{c_e}) igual à diferença entre a energia do fóton e a energia de ligação do elétron no átomo (E_ℓ), Equação 12.

$$E_{c_e} = E_f - E_\ell \quad (12)$$

A absorção fotoelétrica é possível sempre que $E_f > E_\ell$, sendo que a probabilidade aumenta quando E_f tende a E_ℓ . A direção na qual o elétron é ejetado do átomo depende da energia do fóton. Em energias mais baixas há uma tendência para que os elétrons sejam ejetados perpendicularmente em direção ao

fóton incidente, mas quando a energia do fóton aumenta a distribuição varia enormemente, fazendo com que o elétron possa ser ejetado em qualquer direção.

Quando o fóton incidente tem energia suficiente para remover um elétron, geralmente o elétron ejetado do átomo é da camada K, número quântico principal igual a um ($n = 1$). As interações com elétrons K correspondem a cerca de 80% dos processos fotoelétricos, gerados por fótons com energia maior que a energia de ligação da camada K. As interações restantes ocorrem com elétrons da camada L, número quântico principal igual a dois ($n = 2$). A vacância criada pela perda de um elétron de um orbital interno será ocupada por outro elétron de um orbital menos energético, com a emissão de raios X característicos, ou de elétrons Auger.

Para materiais de baixo número atômico, a energia de ligação dos elétrons internos é relativamente pequena (da ordem de 500eV para a água) e os raios X e os elétrons secundários terão baixas energias e serão absorvidos na vizinhança da interação original. Por outro lado, materiais de alto número atômico podem fornecer radiação secundária, moderadamente energética. Os raios X secundários, para o tungstênio, têm energias acima de 70keV, podendo percorrer uma certa distância, a partir da interação original, antes de serem completamente absorvidos.

As interações fotoelétricas são mais prováveis para materiais de número atômico alto e para fótons de baixa energia. O coeficiente de atenuação eletrônica varia de elemento para elemento, aproximadamente Z^3 , e para um determinado elemento diminui rapidamente com o aumento da energia do fóton [42].

Efeito Compton [41]

O espalhamento Compton ocorre quando um fóton interage com um elétron que pode estar fracamente ligado ou livre, de tal modo que o elétron é acelerado e um novo fóton é criado com energia menor, Figura 6. A energia e o momento do fóton incidente são divididos entre o fóton criado e o elétron ejetado.

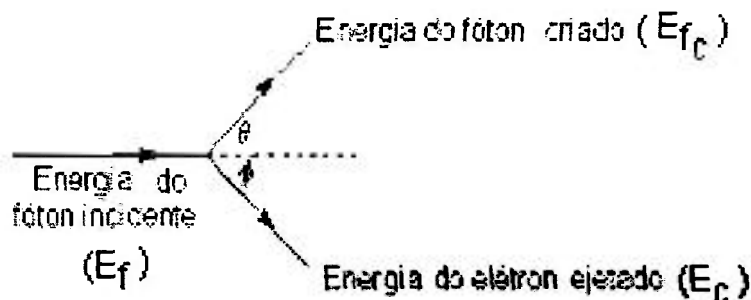


Figura 6. Espalhamento Compton em um átomo hipotético.

O termo espalhamento incoerente pode ser aplicado ao efeito Compton [33]. Das equações de conservação de energia e do momento é possível calcular três das quatro variáveis, que são o ângulo entre a trajetória do fóton criado (θ); o ângulo entre a trajetória do elétron ejetado e a do fóton incidente (ϕ); a energia do elétron ejetado (E_c) e a energia do fóton criado (E_{f_c}), Equação 13, onde, E_f é a energia do fóton incidente e $m_e c^2$ é a massa do elétron em repouso.

$$E_{f_c} = \frac{E_f}{1 + (E_f / m_e c^2) (1 - \cos \theta)} \quad (13)$$

A Equação 13 mostra que quando o ângulo θ é pequeno, o fóton é criado com uma pequena redução na energia e que um desvio grande de θ implica em fótons de baixa energia. A energia do elétron ejetado é igual à diferença entre as energias dos fótons incidentes e criados, Equação 14.

$$E_c = E_f - E_{f_c} \quad (14)$$

O coeficiente de atenuação eletrônica para absorção Compton, ${}_e\sigma$, fornece a fração dos fótons de energia E_f que interagem pelo processo Compton. Uma parte considerável da energia destes fótons é conservada sob a forma de novos fótons criados. A fração de energia do fóton incidente, que os fótons criados mantêm é dada pelo coeficiente de espalhamento Compton, ${}_e\sigma_s$. A fração

da energia do fóton incidente que é transferida para o elétron ejetado é dada pelo coeficiente de absorção Compton ${}_e\sigma_a$, Equação 15.

$${}_e\sigma_a = {}_e\sigma - {}_e\sigma_s \quad (15)$$

As interações Compton predominam para fótons com energias entre 1 e 5MeV, em materiais de número atômico alto e podem ter um intervalo de energia ampliado para materiais de número atômico baixo.

No presente trabalho, predomina o efeito Compton porque a energia média da radiação gama, proveniente do ${}^{60}\text{Co}$, é de 1,25 MeV e as densidades das amostras irradiadas ficaram em torno de 1g cm^{-3} .

Produção de pares [41]

A produção de pares envolve a absorção completa de um fóton com energia maior que a de dois elétrons em repouso ($2 m_e c^2 = 1,022 \text{ MeV}$), convertendo espontaneamente em duas partículas, um elétron e um pósitron, Figura 7.

A energia do fóton (E_f) menos a energia das duas partículas é dividida entre a energia cinética do elétron e do pósitron, Equação 16.

$$E_f = E_{e^-} + E_{e^+} + 2 m_e c^2 \quad (16)$$

A recombinação entre o elétron e o pósitron consiste na emissão de radiação gama de 0,51MeV, em direções opostas e é chamada de radiação de aniquilação.

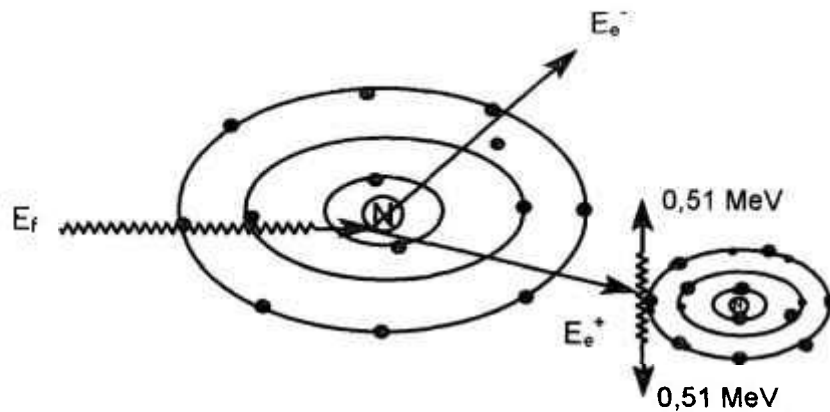


Figura 7. Produção de pares em um átomo hipotético, onde N representa um núcleo.

Também se usa o coeficiente de atenuação atômico (${}_a\mu$) e o coeficiente de atenuação eletrônico (${}_e\mu$), que são os coeficientes de atenuação por átomo e por elétron, respectivamente. Esses coeficientes podem ser calculados pelas Equações 17 e 18, respectivamente, onde, A é a massa atômica do absorvedor, Z é o número atômico do absorvedor e N_A é o número de Avogadro. Os coeficientes atômico e eletrônico têm unidades de área e se referem à secção transversal.

$${}_a\mu = \frac{\mu(\text{cm}^{-1})}{\text{atomos cm}^{-3}} = \frac{\mu_A}{\rho N_A} (\text{barn atom}^{-1}) \quad (17)$$

$${}_e\mu = \frac{\mu(\text{cm}^{-1})}{\text{eletrons cm}^{-3}} = \frac{\mu_A}{\rho N_A Z} (\text{barn eletron}^{-1}) \quad (18)$$

O coeficiente de atenuação total é o produto dos coeficientes parciais que representam vários processos de atenuação, ou seja, o efeito fotoelétrico, o efeito Compton, a produção de pares, o espalhamento coerente e as reações fotonucleares [33]. Os três primeiros processos são os mais importantes, mas a ocorrência de cada um depende da energia do fóton e do número atômico do absorvedor, por isso serão descritos a seguir, separadamente.

As principais aplicações das radiações gama são no tratamento de tumores (radioterapia) e a radioesterilização de produtos médico-hospitalares, que

apresentam a grande vantagem de ser realizada após a embalagem final, impedindo assim, nova contaminação dos produtos, o que pode ocorrer por outros métodos [7].

2.3 Radiólise de polímeros

Os efeitos da radiação em polímeros incluem a formação de produtos gasosos, alterações no número de insaturações, variações de coloração e alterações na distribuição da massa molar. Mas as duas reações que causam as maiores alterações nas propriedades de um polímero são a cisão das ligações na cadeia principal e a formação de ligações químicas entre as moléculas poliméricas diferentes (reticulação) [42], estudadas detalhadamente nas seções 2.3.2 e 2.3.3.

Os polímeros têm sido classificados em dois grupos, de acordo com seu comportamento quando expostos à radiação, aqueles que predominantemente reticulam e aqueles que cindem.

Para polímeros do tipo vinílicos geralmente predomina a cisão, quando há um átomo de carbono tetra-substituído como [6, 15, 43]:



Sendo assim, no poli(metacrilato de metila) e no poli(isobutileno) predominam as reações de cisão, enquanto que no polietileno predominam as de reticulação [6, 39].

O fator fundamental para a determinação do tipo de reação que irá ocorrer é a energia livre de propagação para a reação. Quando ela é baixa, os fatores eletrônicos e estéreos favorecem a cisão. Normalmente a cisão e a reticulação ocorrem simultaneamente. Sua proporção é afetada por variações na temperatura, cristalinidade, estereoregularidade e presença de ar [39].

Os polímeros também apresentam diferenças com relação à sensibilidade radiolítica. Polímeros com grupos aromáticos, contidos ou não na cadeia principal, são mais resistentes à radiação ionizante que os polímeros alifáticos, devido ao fato de parte da energia incidente ficar dispersa por um tempo maior no anel aromático [20].

2.3.1 Espécies radiolíticas

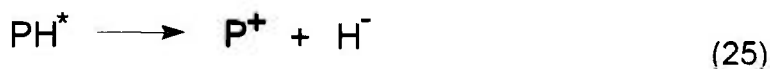
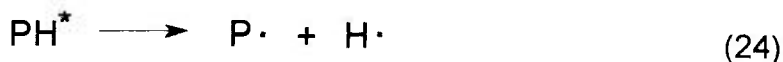
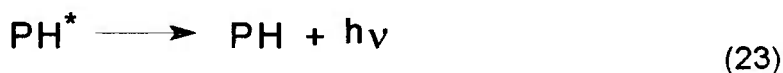
A radiação ionizante pode produzir espécies excitadas na matéria, por interação direta (Equação 19) ou indireta (Equações 20 e 21), por meio da neutralização dos íons formados [40, 43], onde PH representa a molécula de um polímero.



As espécies altamente excitadas (PH^{**}) perdem parte de sua energia rapidamente, por meio de colisões com outras moléculas, atingindo um estado menos excitado (PH^*) [43]. Pode ocorrer ainda, a formação de um ânion quando a captura do elétron é feita por uma molécula neutra (Equação 22) [42, 44].



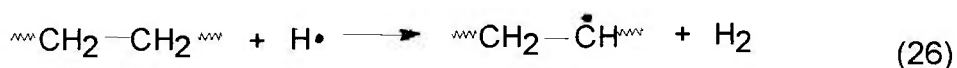
Estas moléculas excitadas podem voltar ao estado fundamental por emissão do excesso de energia, por meio da fosforescência ou fluorescência, sem que ocorra reação (Equação 23), por meio de cisões homolíticas, gerando duas espécies radicalares (Equação 24), ou heterolíticas, gerando um par iônico (Equação 25) [43,44].



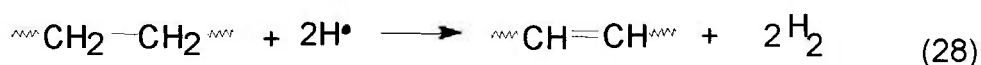
Entretanto, a interação da radiação ionizante com materiais orgânicos promove principalmente a formação de radicais, que podem ser observados por RPE [15].

Durante a irradiação de polímeros podem ocorrer as seguintes reações [20]:

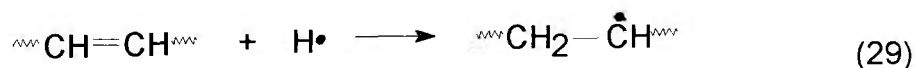
- a) Formação de hidrogênio molecular pela abstração de um átomo de hidrogênio da molécula polimérica (Equação 26) ou por recombinação de dois radicais hidrogênios (Equação 27).



- b) Formação de ligações duplas.



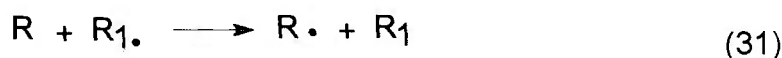
- c) Adição à ligação dupla.



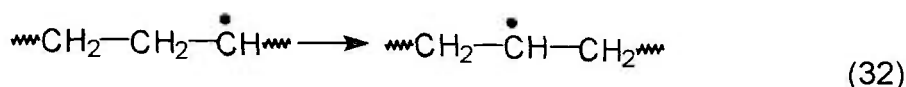
- d) Recombinação dos radicais formados, resultando em aumento da cadeia polimérica (reticulação), ramificações e grupos laterais (enxertia).



- e) Transferência entre cadeias.



- f) Migração do radical pela cadeia principal.



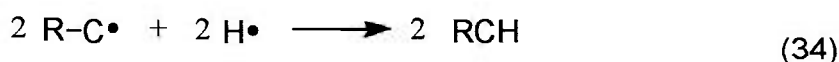
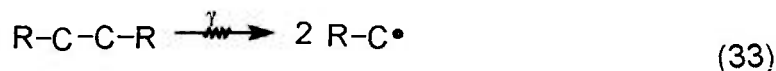
2.3.2 Cisão

Os polímeros 1,1-dissubstituídos, como o poli(metilmetacrilato) e seus derivados, o poli(isobutileno), o poli(α -metilestireno) e também em polímeros que contenham halogênio como o poli(cloreto de vinila), o poli(cloreto de vinilideno) e o poli(tetrafluoroetileno), sofrem principalmente a cisão da cadeia principal, como consequência da interação radiolítica [15].

Os radicais formados pela cisão da cadeia principal tendem a reagir por meio de reações de propagação [43].

A cisão promove a diminuição da massa molar média (\bar{M}) do polímero, pela quebra homolítica aleatória de ligações C-C da cadeia principal, sendo que a \bar{M} é inversamente proporcional à intensidade da radiação recebida [43].

Cada cisão aumenta o número de moléculas poliméricas de uma unidade (Equação 33) [6].



No PVC, o processo b mencionado na seção 2.3.1, aumento do número de insaturações, ocorre principalmente por liberação de cloreto de hidrogênio, decorrente da abstração de um átomo de hidrogênio pelo radical cloro, formado durante a irradiação do polímero [13, 20].

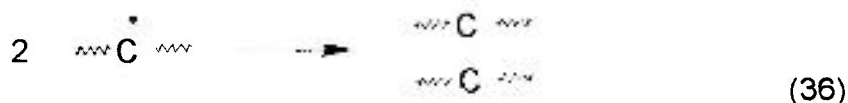
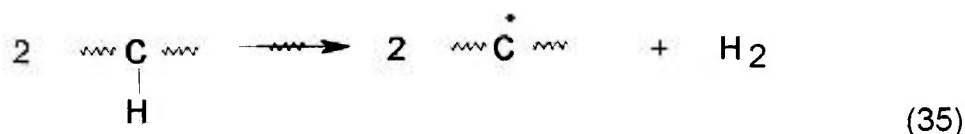
Em polímeros contendo cadeias laterais grandes, como o poli(metacrilato de metila), ocorre uma extensiva quebra destas cadeias laterais com formação de produtos gasosos [13].

A redução da \bar{M} , causada pela cisão da cadeia principal, resulta em modificações nas propriedades mecânicas, térmicas, elétricas, químicas e ópticas do material [13, 15, 20].

2.3.3 Reticulação

A reticulação de cadeias poliméricas consiste de reações bimoleculares dos macrorradicais formados, principalmente por reações de combinação entre cadeias poliméricas adjacentes, mas isto só é possível se as cadeias poliméricas não forem estericamente impedidas [13, 43]. Os principais processos pelos quais as reações de reticulação podem ocorrer são mostrados a seguir [44]:

- a) Quebra de uma ligação C-H de uma cadeia polimérica, gerando um átomo de hidrogênio, seguida pela abstração de um segundo átomo de hidrogênio de uma cadeia polimérica próxima, para produzir hidrogênio molecular, (Equação 35). Os dois radicais poliméricos podem então reagir, devido à proximidade de ambos, reticulando (Equação 36).

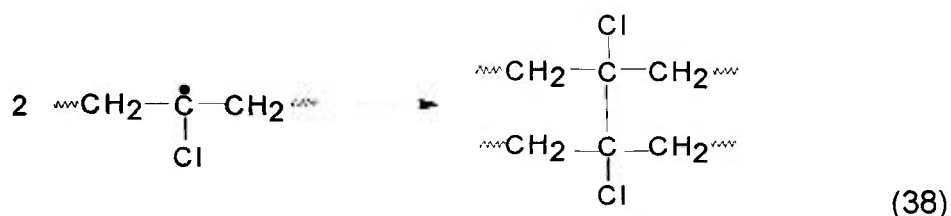
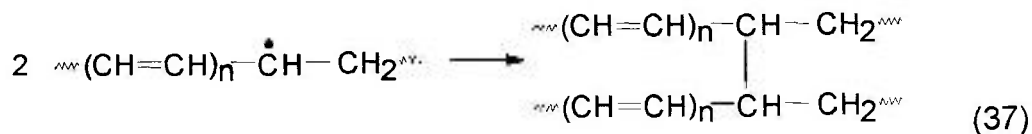


- b) Migração dos sítios radicalares ativos, produzidos pela quebra das ligações C-H, ao longo das cadeias poliméricas até que dois deles se encontrem próximos o suficiente para a reticulação, Equações 32, 35 e 36.
- c) Reações de grupos insaturados com átomos de hidrogênio para formar radicais poliméricos que podem então se combinar, Equação 29.

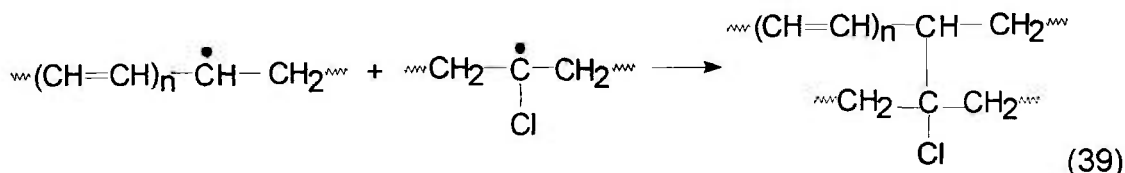
A reticulação das cadeias poliméricas implicam em aumento da \bar{M} e melhora nas propriedades mecânicas, térmicas e químicas do material [45].

No PVC, as reações que levam à reticulação da cadeia polimérica envolvem apenas os macrorradicais cujo tempo de vida seja suficiente para promover estas reações [13, 46]. Por isso, os radicais mais suscetíveis para participar destas reações bimoleculares de terminação são aqueles que não

apresentam um átomo de cloro na posição β , ou seja, os radicais polienil, formados por abstração do átomo de cloro, na etapa de iniciação das reações de desidrocloração (Equação 37) e o radical cloro-alquil, formado pela abstração de um átomo de hidrogênio na etapa de propagação da reação de desidrocloração (Equação 38) [13, 25, 45]. O mecanismo de desidrocloração do PVC será apresentado no item 4.2.1.



A reação entre os radicais polienil e cloro-alquil também pode resultar em reticulação (Equação 39) [25,46].

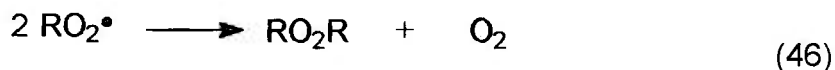
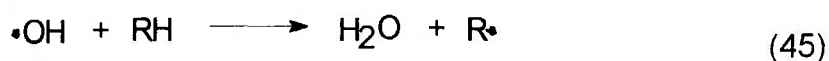
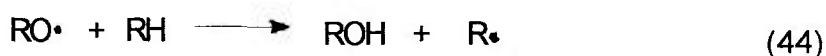
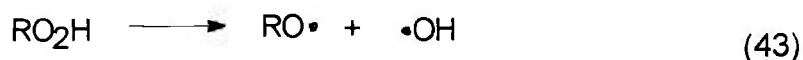
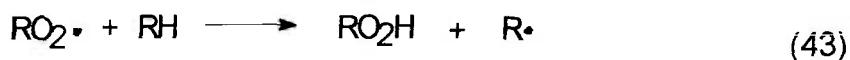


2.3.4 Oxidação radiolítica

Em certas condições, o oxigênio tem forte participação na degradação química. As propriedades do material resultante podem ser bem diferentes daquelas obtidas em atmosfera inerte. Para muitos polímeros, a irradiação na presença de ar favorece a cisão da cadeia principal. Por isso, materiais que normalmente reticulam em atmosfera inerte, sofrem predominantemente cisão da cadeia principal em condições oxidantes. Assim sendo, os danos decorrentes da irradiação, em muitos casos, ocorrem em doses menores que aquelas necessárias para causar alterações significativas na ausência de oxigênio [40].

O oxigênio reage com os radicais livres gerados pela irradiação do material e as reações de cisão são parecidas com aquelas que ocorrem por outros meios como temperaturas elevadas, luz ultravioleta, tensão mecânica, iniciação química envolvendo radicais, entre outros. A seguir serão mostradas as

reações gerais de oxidação, Equações 42-48, induzidas pela radiação ionizante, Equações 40 e 41, [40, 46].



O oxigênio funciona como um capturador de radicais devido à sua alta mobilidade de difusão e à sua afinidade por radicais, impedindo que as reações ocorram por meio dos processos mencionados na ausência de ar e canalizando o curso das reações para caminhos predominantemente oxidativos. Os produtos das reações químicas incluem estruturas oxidadas no polímero como cetonas, ácidos carboxílicos e álcoois, bem como espécies peroxidadas, incluindo produtos gasosos, como CO_2 , CO e H_2O [6, 10, 47].

A decomposição de peróxidos, nas etapas de ramificação da cadeia, favorece a formação de radicais semelhantes àqueles gerados pela irradiação direta do material. Este fato tem duas implicações importantes [10]:

- a) Numerosos peróxidos podem ser formados por meio de passos repetitivos de propagação e cada peróxido pode decompor-se para formar dois novos radicais. Este mecanismo pode levar a um aumento bastante pronunciado no

total de radicais presentes no sistema, comparado com o sistema em atmosfera inerte.

- b) A decomposição de peróxidos é um processo com energia de ativação moderadamente baixa, induzido termicamente, introduzindo uma dependência tempo-temperatura no processo de degradação. Esta dependência pode levar a outros efeitos como taxa de dose (TD), efeitos térmicos e efeitos pós-irradiação.

2.4 Biomateriais

Os biomateriais poliméricos denominados biocompatíveis apresentam-se basicamente de duas formas [48]:

- a) Polímeros compatíveis com o sangue (hemocompatíveis ou antitrombogênicos) e,
- b) Polímeros compatíveis com tecidos (histocompatíveis).

A síntese de materiais, cujas interações com os componentes do sangue são minimizadas, pode levar à obtenção de materiais poliméricos hemocompatíveis [49, 50, 51].

Os biomateriais poliméricos, com propriedades superficiais hemocompatíveis, foram sintetizados por enxertia de monômeros hidrofílicos sobre polímeros comerciais por meio da radiação ionizante [28, 49]. O método da irradiação simultânea mostrou-se bastante efetivo na obtenção de copolímeros de enxerto PVC-co-AA, a partir da enxertia do monômero ácido acrílico (AA) sobre o substrato polimérico PVC [52, 53].

Neste sentido, o tratamento de superfícies poliméricas, como a hidrofilição, tem sido empregado para melhorar a propriedade hemocompatível destes materiais [28, 53], sendo que o uso da técnica de enxertia pode ser um caminho efetivo e conveniente para produzir estas superfícies [29, 53, 54].

Alguns autores mostraram que a imobilização da heparina e de enzimas fibrinolíticas previne a formação de coágulos [15, 55, 56].

Vários estudos têm sido realizados de modo a obter-se biomateriais heparinizados por meio de ligações covalentes, entretanto a atividade anticoagulante da heparina tem se apresentado menor que a da forma livre [29, 57, 58].

2.5 Enxertia

O sucesso de muitos dispositivos médicos de uso intra-arterial depende da biocompatibilidade da superfície em contato com o sangue [51, 59]. Em muitos casos a interação entre uma superfície artificial e o sangue resulta em deposição de proteínas, adesão plaquetária e ativação e inativação da cascata de coagulação intrínseca [2, 9]. Por este motivo, pesquisas importantes têm sido realizadas com o objetivo de desenvolver materiais poliméricos com características tromboresistentes, para períodos curtos de implante (72 horas ou menos) [38].

A hemocompatibilidade pode ser melhorada por meio da imobilização superficial de substâncias, como a heparina, células endoteliais e albumina, sobre polímeros hidrofóbicos mais biocompatíveis, como siliconas e poliuretanas ou pela modificação das estruturas poliméricas, por meio da enxertia de monômeros hidrofílicos [60, 61, 62].

A enxertia via radiação ionizante é uma técnica alternativa, que utiliza um irradiador gama (^{60}Co) ou acelerador de elétrons como fonte de energia para as modificações químicas.

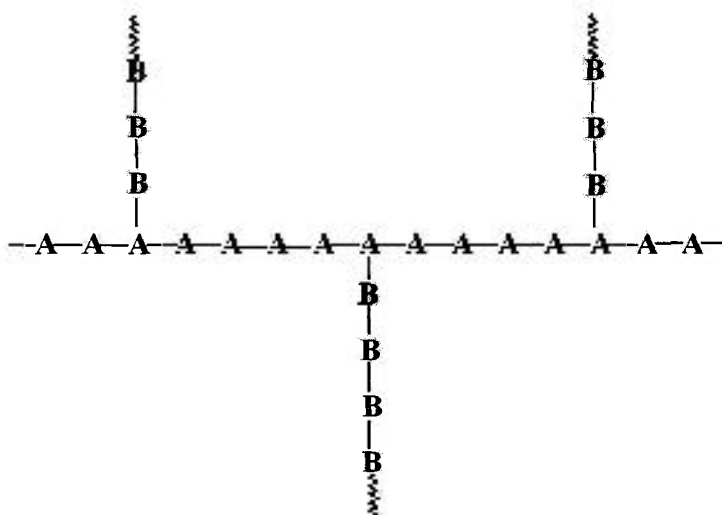
A preparação de um copolímero de enxerto via radiação ionizante pode ocorrer por três métodos diferentes [10, 15].

- a) **Método de irradiação simultânea**, que também é chamado de enxertia mútua (ou direta), no qual o polímero a ser modificado é irradiado diretamente na presença do monômero e é realizada normalmente na ausência de ar.
- b) **Método de pré-irradiação**, no qual após a irradiação da matriz polimérica, esta é colocada em contato com o monômero, e a enxertia se dá pela reação do monômero com os radicais aprisionados na matriz, devendo ser realizado na

ausência de ar, pois o oxigênio inibe quase que totalmente as reações de enxertia.

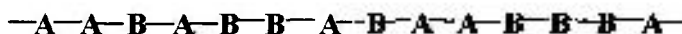
- c) **Método de peroxidação**, no qual a irradiação da matriz polimérica em presença de ar dá origem a peróxidos e hidroperóxidos. Os grupos peróxidos formados, devido à sua estabilidade, permitem que o polímero seja estocado a baixas temperaturas sem que haja perda de atividade. A decomposição térmica destes grupos peróxidos, na presença de monômeros vinílicos e atmosfera inerte, leva à formação de radicais que dão início ao processo de enxertia.

O produto obtido de um processo de enxertia é chamado de copolímero de enxerto [62, 63]. O copolímero de enxerto é constituído de uma matriz polimérica na qual se ligam novas cadeias poliméricas, chamadas cadeias enxertadas [10, 15].



copolímero de enxerto

Em um copolímero ao acaso as unidades monoméricas distribuem-se ao acaso ao longo da cadeia.



copolímero ao acaso

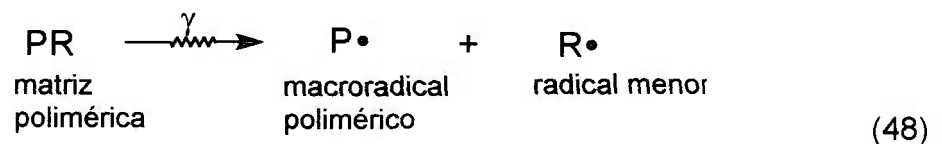
Caso a ligação entre as duas macromoléculas ocorra pelas extremidades obtém-se o copolímero em bloco, cuja estrutura é representada a seguir.



As reações de enxertia ocorrem por mecanismos radicalares semelhantes àqueles observados nas reações de homopolimerização, podendo ser divididas em três etapas principais: iniciação, propagação e terminação [15].

a) Iniciação

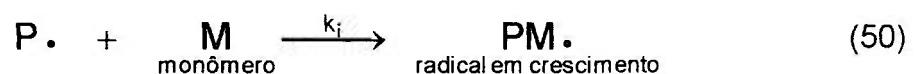
A exposição da matriz polimérica à radiação, Equação 48, promove a formação de radicais poliméricos, responsáveis pelo desencadeamento das reações em cadeia [10, 15]:



Nesta etapa a intensidade da radiação incidente (I) é responsável pela velocidade (V) de formação dos radicais $P\cdot$ e $R\cdot$, onde k é uma constante de velocidade.

$$V \cong I ; \quad V = k I \quad (49)$$

Os macrorradicais $P\cdot$, formados na etapa anterior, podem então se chocar com as moléculas de monômero, presentes no sistema, induzindo as reações de iniciação de enxertia na matriz polimérica, Equação 50, onde k_i é a constante de velocidade para a iniciação da reação de enxertia.



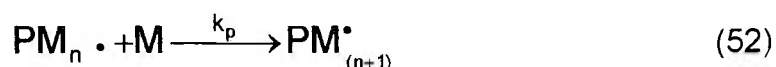
A velocidade para a iniciação da reação (V_i) de enxertia depende tanto da concentração dos macrorradicais formados pela interação da radiação, como

também da concentração de monômero no sistema, Equação 51, sendo k_i uma constante para a iniciação da reação de enxertia.

$$V_i = k_i [P\cdot] [M] \quad (51)$$

b) Propagação

Os radicais em crescimento, formados durante a etapa de iniciação da reação de enxertia podem interagir com novas moléculas de monômero dando continuidade às reações de crescimento de radicais (Equação 52).

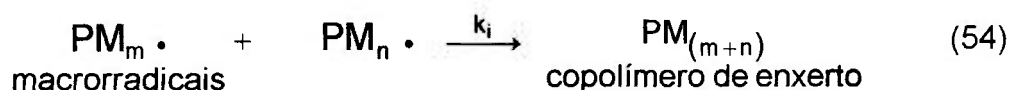


A velocidade de reação, V_p , depende tanto da concentração de radicais, quanto da concentração de monômero, nesta etapa (Equação 53), onde k_p é a constante de velocidade da reação de propagação:

$$V_p = k_p \cdot [PM_n^*] [M] \quad (53)$$

c) Terminação

A reação de enxertia terminará quando houver a recombinação dos macrorradicais formados, Equação 54, ou quando todo o monômero for consumido.



Nesta etapa a velocidade de reação é diretamente proporcional ao quadrado da concentração de radicais e k_t é a constante de velocidade da reação de terminação, Equação 55.

$$R_t = 2k_t [PM_n \cdot]^2 \quad (55)$$

Desta forma, o aumento da concentração de radicais faz com que a velocidade para as reações de terminação seja maior que a velocidade na etapa de propagação.

Como o processo é radicalar é necessário que os radicais monoméricos cheguem rapidamente aos sítios ativos da matriz polimérica. Caso

contrário a homopolimerização será o processo principal. Por isso, os índices mais altos de enxertia são obtidos quando o rendimento radiolítico de radicais livres (G_R) da matriz polimérica é muito maior do que o G_R do monômero. Entretanto, pode-se obter bons níveis de enxertia mesmo quando o número de radicais formados no monômero é muito alto, desde que a difusão do monômero na matriz polimérica seja controlada [15, 23].

A enxertia pode ser limitada à superfície ou ao interior da matriz polimérica, por meio do controle da difusão, que pode ser conseguido pela imersão do filme polimérico no monômero ou numa solução do monômero em um solvente adequado. O tempo de contato do filme polimérico com a solução monomérica antes da irradiação determina a profundidade de penetração do monômero e a enxertia ocorre na região intumescida [15, 23].

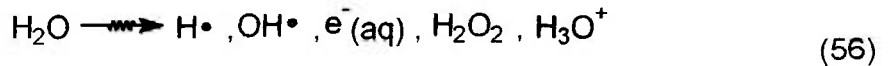
A utilização de solventes que formem espécies radiolíticas capazes de abstrair hidrogênio para formar macrorradicais poliméricos ($OH\cdot$, $Cl\cdot$, entre outros), favorece a etapa de propagação da cadeia por meio de reações indiretas aumentando os níveis de enxertia e levando normalmente a estruturas enxertadas reticuladas [23].

Quando os filmes são irradiados, após o intumescimento na solução monomérica, na presença de um inibidor de polimerização como o oxigênio, por exemplo, a região enxertada pode ser restringida ao interior da matriz polimérica [30].

Neste trabalho, utilizou-se o método da irradiação simultânea para a obtenção do copolímero de enxerto PVC-co-DMAEMA-co-heparina, no qual filmes de PVC flexível foram imersos em soluções aquosas de DMAEMA e heparina. A água foi utilizada como solvente devido aos altos níveis de intumescimento observados para os filmes de PVC em soluções aquosas do monômero DMAEMA, aliado ao fato da heparina sódica também ser solúvel em água o que permitiu que a irradiação fosse simultânea em uma única etapa. Este fato traz ainda como vantagem os baixos níveis de extração dos plastificantes usados no PVC, diisodecilftalato, observados neste solvente [5, 16].

2.5.1 Radiólise da água

A interação da radiação ionizante com as moléculas de água leva à formação de espécies radiolíticas (Equação 56), que interferem nos mecanismos de reação, promovendo reações indesejáveis que podem levar a uma diminuição no grau de enxertia do monômero sobre a matriz polimérica [15, 63, 64].



A irradiação de soluções aquosas diluídas do monômero promove um aumento das reações de homopolimerização, pois além destas reações serem iniciadas pelos radicais que estão sendo formados, como resultado da ação direta da radiação (efeito direto), também ocorrem reações devidas aos produtos intermediários da radiólise da água (efeito indireto) [15, 23].

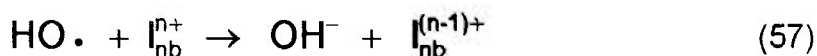
Quando a irradiação ocorre na presença de água, a dose de reticulação e de formação de redes tridimensionais pode ser reduzida na proporção em que varia a concentração do polímero, sendo menor com soluções mais diluídas, quando as moléculas poliméricas estão mais afastadas, diminuindo a probabilidade destes radicais formados se encontrarem e deste modo poderem reagir [10, 15, 23]. A resposta encontra-se no fato de que em baixas concentrações de polímero cada macromolécula tem uma chance grande de ser afetada pelos produtos da radiólise da água. Neste caso o número de ligações intramoleculares é maior que as ligações intermoleculares, e a explicação deve-se ao fato dos radicais formarem-se tanto pelo efeito direto como pelo efeito indireto da radiação [64]. Desta forma é possível gerar mais de um sítio radicalar na estrutura polimérica, facilitando a formação de ligações entre dois pontos radicalares na mesma molécula e dificultando a possibilidade de ocorrerem ligações entre cadeias devido à distância entre elas [15, 64]. Em altas concentrações observa-se um aumento no número de interações intermoleculares, formando uma estrutura densamente reticulada. Esta estrutura intumescce, mas não dissolve [15]. Polímeros solúveis em água apresentam níveis altos de intumescimento quando são reticulados, por isso esta propriedade vem sendo estudada de modo a avaliar-se uma maneira que permita sua utilização para conservar água em regiões como o deserto. Outra aplicação seria como

membranas e bandagens em medicina, onde água e drogas possam ser retidas por períodos prolongados em ferimentos ou queimaduras [65].

2.5.2 Inibidores de homopolimerização

A irradiação de polímeros à temperatura ambiente em atmosfera de oxigênio promove a reação dos macrorradicais ($P\cdot$) com o oxigênio formando diperoxídeos (POOP) e hidroperóxidos (POOH), conforme as Equações 42-43 e 47-48 [30].

A irradiação do polietileno nestas condições resultou principalmente na formação de diperoxídeos, observando-se, porém, a formação de alguns hidroperóxidos. As espécies peroxidadas podem, então, iniciar as reações de enxertia, enquanto que os radicais hidroxila ($OH\cdot$), formados pela decomposição térmica dos hidroperóxidos, levam à homopolimerização do monômero [23]. Para que um inibidor seja eficiente, deve ser um bom capturador “scavenger” de radicais hidroxilas (Equação 58), onde I_{nb} = inibidor [28, 30].



Para inibir com eficiência a homopolimerização do monômero, o inibidor deve ter reatividade maior com os radicais hidroxila, do que com o monômero.

No trabalho realizado por Gargan e colaboradores [30] estudou-se a eficiência de vários sais metálicos, em diferentes concentrações, como inibidores de homopolimerização de ácido acrílico e ácido metacrílico. Os ensaios envolvendo os sais de cobre ($CuSO_4$) mostraram que o grau de enxertia do polietileno de baixa densidade diminuía com o aumento da concentração do inibidor de homopolimerização. Observou-se também que a enxertia do ácido metacrílico foi cerca de quatro vezes maior que a do ácido acrílico, atribuindo-se este resultado a uma maior solubilidade dos íons Cu^{2+} no ácido poliacrílico, o que limitou a enxertia por reações de terminação. Os homopolímeros são indesejáveis, pois desfavorecem o processo de copolimerização por enxertia [15, 23, 30]. Os íons Cu^{2+} mostraram-se bastante eficientes como inibidores de homopolimerização, elevando o nível de enxertia do PVC com ácido acrílico [52].

Rosiak e colaboradores [3, 4] realizaram um estudo semelhante àquele realizado por Gargan [30], utilizando o metanol e o isopropanol como inibidores das espécies químicas responsáveis pelo início do processo de polimerização, os radicais $\cdot\text{OH}$, observando a eficiência destes solventes na inibição dos processos de homopolimerização.

Neste trabalho utilizou-se sulfato cúprico pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e isopropanol como inibidores de homopolimerização.

2.6 Métodos de imobilização

Existem várias técnicas para a imobilização de biomoléculas e células sobre hidrogéis. Entre elas destacam-se: o aprisionamento físico, a atração eletrostática, a adsorção física, com ou sem reticulação e as ligações químicas. Também tem sido usada a combinação de técnicas como o aprisionamento com reticulação química [48].

2.6.1 Aprisionamento

A imobilização pelo método do aprisionamento baseia-se na oclusão de biomoléculas ou células no interior de um hidrogel, que tenha uma estrutura compactada o suficiente para impedir a difusão rápida das espécies de interesse para o meio.

Um dos métodos usados de compactação é feita por meio de reações de reticulação do hidrogel com catálise ácida em formaldeído. Um outro método alternativo consiste no uso da radiação ionizante para formar as redes tridimensionais. Este método vem sendo utilizado na produção dos sistemas de liberação controlada de drogas [65].

2.6.2 Adsorção

A adsorção física por meio de forças moleculares secundárias é outro meio de imobilizar espécies biológicas em um hidrogel.

Uma das desvantagens deste método consiste no fato do processo ser reversível. As espécies de interesse podem desorver para a superfície,

principalmente após a exposição do hidrogel a soluções protéicas, como o sangue.

O processo de adsorção ocorre principalmente por meio de ligações de hidrogênio ou de ligações resultantes da interação entre cargas opostas.

A imobilização de heparina por adsorção sobre hidrogéis catiônicos é um exemplo clássico de adsorção de biomoléculas sobre um complexo polieletrólito [37, 28].

2.6.3 Ligações covalentes

Existem muitas vantagens na ligação covalente de espécies biológicas a um hidrogel, quando comparado a outros métodos de imobilização. As espécies de interesse não desorvem durante o uso ou quando testados sobre a atividade. As desvantagens incluem a possibilidade de inativar a biomolécula durante o processo de imobilização. Para imobilizar covalentemente uma biomolécula a um hidrogel podem ser usados três métodos [29]:

1. Pré-ativação do hidrogel, seguida da reação com os grupos das biomoléculas a serem imobilizadas [30, 52].
2. Uso de um agente complexante, que ligue a biomolécula ao gel. Neste caso o agente complexante e a biomolécula são expostos ao hidrogel simultaneamente [28].
3. Pré-ativação da biomolécula para se complexar ao gel. Este método tem sido usado para acoplar uma enzima a um monômero e depois copolimerizar o sistema acoplado com o monômero livre. O resultado é um hidrogel no qual as biomoléculas encontram-se tanto aprisionadas quanto ligadas covalentemente [52, 66, 67].

2.6.3.1 Heparinização

A heparinização de hidrogéis é uma técnica usada para produzir materiais não trombogênicos, combinando as propriedades anticoagulantes da heparina com a biocompatibilidade dos hidrogéis [33, 55]. Alguns autores [36, 37, 56] mostraram que a imobilização da heparina e de enzimas fibrinolíticas previnem a formação de coágulos.

Vários estudos têm sido realizados [36, 37, 68] de modo a obter-se biomateriais heparinizados por meio de ligações covalentes, entretanto a atividade anticoagulante da heparina tem se apresentado menor que a da forma livre.

A heparina forma complexos com grupos quaternários presentes nas superfícies dos materiais, devido à presença dos grupos sulfato, que a tornam eletricamente negativa. Por isso foram realizados vários estudos envolvendo processos de quaternização de grupos amina, enxertados sobre matrizes poliméricas [28, 49].

A heparinização de materiais tem sido feita por meio de processos químicos que envolvem a participação de catalisadores, conforme ilustrado na Figura 8 [27, 51, 52].

A heparinização de biomateriais por meio de ligações iônicas fornece materiais com uma boa antitrombogenicidade a qual desaparece em um curto espaço de tempo quando submetidos a um fluxo sanguíneo, devido ao arraste da heparina [36, 37, 51, 52]. Os grupos amina também podem ligar-se à heparina, devido ao seu caráter básico.

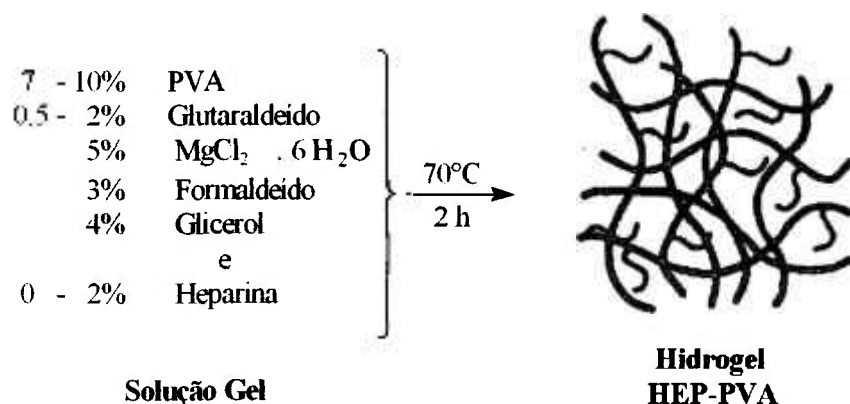


Figura 8. Preparação de heparina-poli(álcool vinílico), HEP-PVA, usando glutaraldeído e MgCl₂ como catalisadores.

Chawla e Chang [37] mostraram que a heparinização, com radiação gama, de membranas de celulose aminadas dá origem a superfícies não trombogênicas.

Estes resultados indicam que, apesar da heparina irradiada em meio aquoso sofrer degradação radiolítica, os produtos formados, que são normalmente de massa molar baixa, continuam biologicamente ativos, conservando suas propriedades anticoagulantes [35, 36, 37]. Este fato indica que a heparinização de materiais poliméricos para fins biomédicos, usando a radiação ionizante, é bastante promissora.

2.7 Mecanismos da coagulação sanguínea [27]

O problema principal, causado pela interação do sangue com superfícies artificiais, é a formação de trombo [66].

A formação do trombo “in vivo” depende dos desequilíbrios entre os mecanismos pró-coagulantes e aqueles anticoagulantes, que operam normalmente nos organismos.

A natureza do trombo varia de acordo com a sua localização, da mesma forma que os mecanismos que levam à sua formação.

Os trombos formados no território arterial são compostos principalmente por plaquetas e fibrina, enquanto que no território venoso constituem-se basicamente de fibrina entremeada por hemácias, trombo vermelho, com poucas plaquetas.

A cascata de coagulação é uma seqüência de reações bioquímicas, catalisadas enzimaticamente, que envolve as células do sangue e as proteínas do plasma.

Algumas destas enzimas são chamadas de fatores de coagulação, Tabela 2, pois após uma quebra catalítica, dão origem às enzimas que agem diretamente na cascata de coagulação.

Tabela 2. Fatores de coagulação

Fatores	Sinônimos
Fator I	Fibrinogênio
Fator II	Protrombina
Fator III	Tromboplastina tecidual (Fator plaquetário III)
Fator IV	Cálcio
Fator V	Proacelerina
Fator VII	Proconvertina
Fator VIII	Fator von Willebrand (Fator antihemofílico A)
Fator IX	Fator Christmas (Fator antihemofílico B)
Fator X	Fator Stuart-Power (Fator antihemofílico C)
Fator XI	ATP (Precursor da antitrombina plasmática)
Fator XII	Fator Hageman (Fator antihemofílico D)
Fator XIII	Fibrinase (Fator estabilizador da fibrina)

A seqüência de eventos que levam à ativação da coagulação e à formação do trombo pode ser esquematizada pela ativação plaquetária, pela ativação dos fatores de coagulação e pela ativação do sistema fibrinolítico.

2.7.1 Ativação plaquetária

Agressões que produzam alteração ou perda das células endoteliais levam a dois processos simultâneos: a ativação de plaquetas e de coagulação, que são sinérgicos na formação do trombo.

A ativação plaquetária ocorre como conseqüência da perda da capacidade de produzir os fatores que impedem a adesão de plaquetas pela célula endotelial lesada. Esse mecanismo ocorre por meio de ligações plaqueta-colágeno ou com receptores em sítios específicos como adenosina difosfato (ADP), seretonina e prostaglandinas, formando uma massa agregada.

2.7.2 Ativação dos fatores de coagulação

Ocorre simultaneamente à ativação plaquetária, que junto com as células endoteliais fornecem uma superfície catalítica, que culminam com a geração de trombina que catalisa a reação de conversão do fibrinogênio, altamente solúvel em fibrina, que é insolúvel, e por isso mesmo o principal constituinte do trombo.

A cascata de coagulação pode ser dividida em três vias: a) intrínseca; b) extrínseca e c) comum.

Pela via intrínseca começam as reações iniciadas pela interação do colágeno e do fator XII, que leva à ativação do fator XI e do fator IX. A via extrínseca ocorre pelo fator tecidual que ativa o fator VII. Essas duas vias chegam ao fator comum que é a ativação do fator X, que leva à conversão da protrombina em trombina, catalisando a polimerização do fibrinogênio, altamente solúvel para a geração de fibrina, que é insolúvel, Figura 9.

De acordo com Ratner [25], o primeiro fenômeno que ocorre quando o sangue entra em contato com uma superfície sintética é a adsorção de albumina, γ -globulina e fibrinogênio, que são proteínas de defesa do plasma, adsorvidas na superfície do material, pela via intrínseca. Esta superfície modificada pela capa protéica leva, então, a outras interações que darão origem a um material trombogênico ou não.

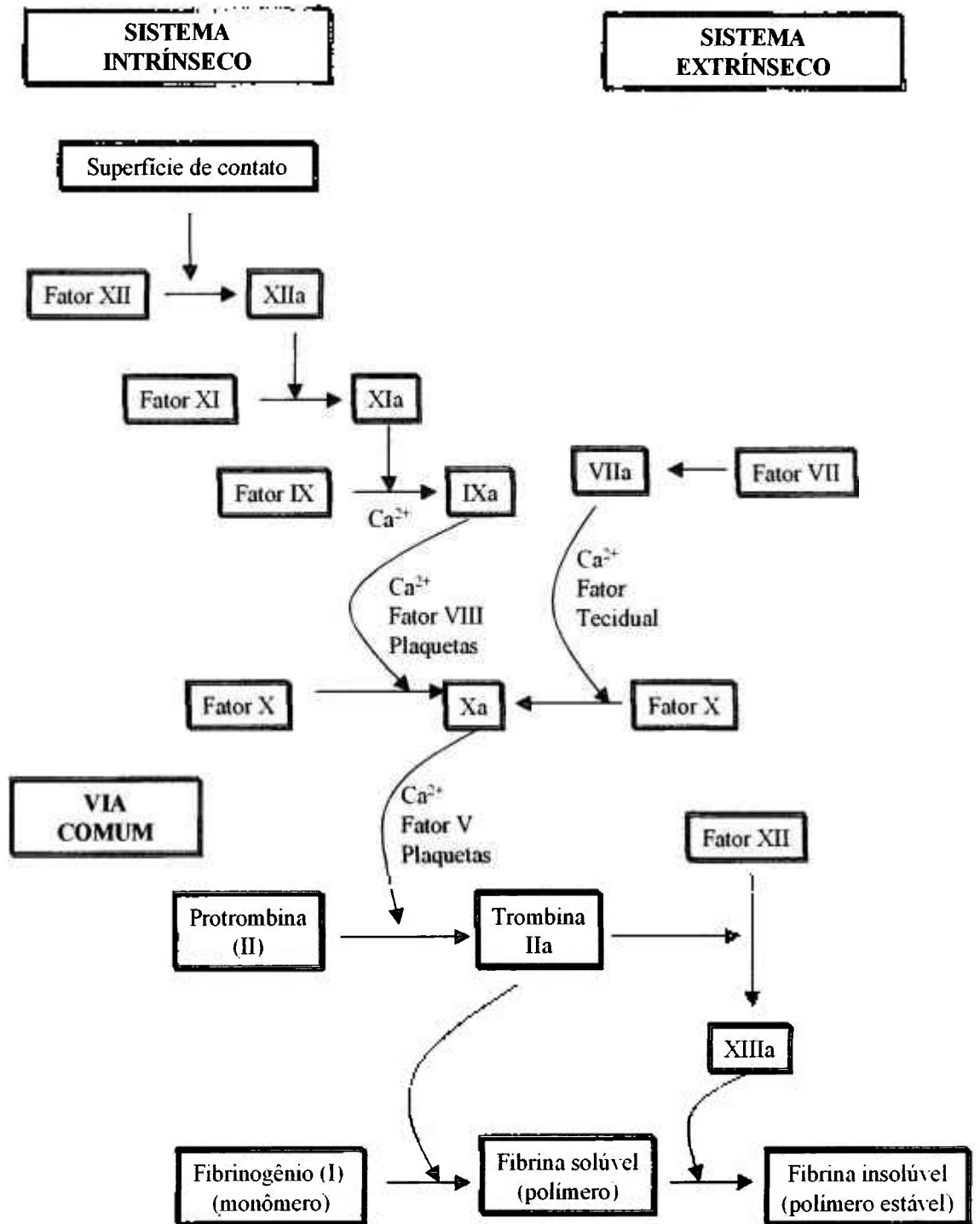


Figura 9. Mecanismo da Cascata de coagulação sanguínea.

2.7.3 Ativação do sistema fibrinolítico

O papel principal do sistema fibrinolítico é remover a fibrina de vasos sangüíneos, tecidos, ductos e líquidos orgânicos. Quando ocorre a conversão do fibrinogênio em fibrina, aciona-se o mecanismo que mantém o balanço hemostático, com a conversão do plasminogênio em plasmina, para a rápida remoção da fibrina, de modo a prevenir complicações trombóticas.

A ativação do plasminogênio pode ser feita pelo ativador tecidual do plasminogênio, que é liberado das células endoteliais.

O plasminogênio também pode ser ativado por fatores presentes no plasma, envolvendo o fator XII, e por substâncias exógenas, como a estreptoquinase, a uroquinase. À semelhança do processo de coagulação, a fibrinólise é um fenômeno relacionado a superfícies.

A utilização de materiais poliméricos em artefatos que entrem em contato com o sangue ou tecidos biológicos, como cateteres e bolsas de sangue, apresenta como problema principal a formação de trombos.

Otsuhata e colaboradores [2] estudaram os parâmetros de enxertia de monômeros hidrofílicos sobre substratos hidrofóbicos, pelo método da irradiação simultânea e verificaram que não houve aumento nas propriedades hemocompatíveis destes materiais com o aumento dos níveis de enxertia.

Os polímeros com superfícies antitrombogênicas podem ser obtidos tanto por ligações de heparina, como pela enxertia de grupos sulfonatos e/ou aminas de grupos ácidos de sulfonamidas, que atribuam ao copolímero características semelhantes à daqueles heparinizados, seja por imobilização iônica ou covalente da heparina sobre os substratos poliméricos.

A heparina atua no sistema de coagulação impedindo a ação da trombina sobre o fibrinogênio, mediante a formação de um complexo heparina-antitrombina III

A Figura 10 apresenta um esquema dos processos de coagulação envolvidos pela interação do sangue com a superfície polimérica.

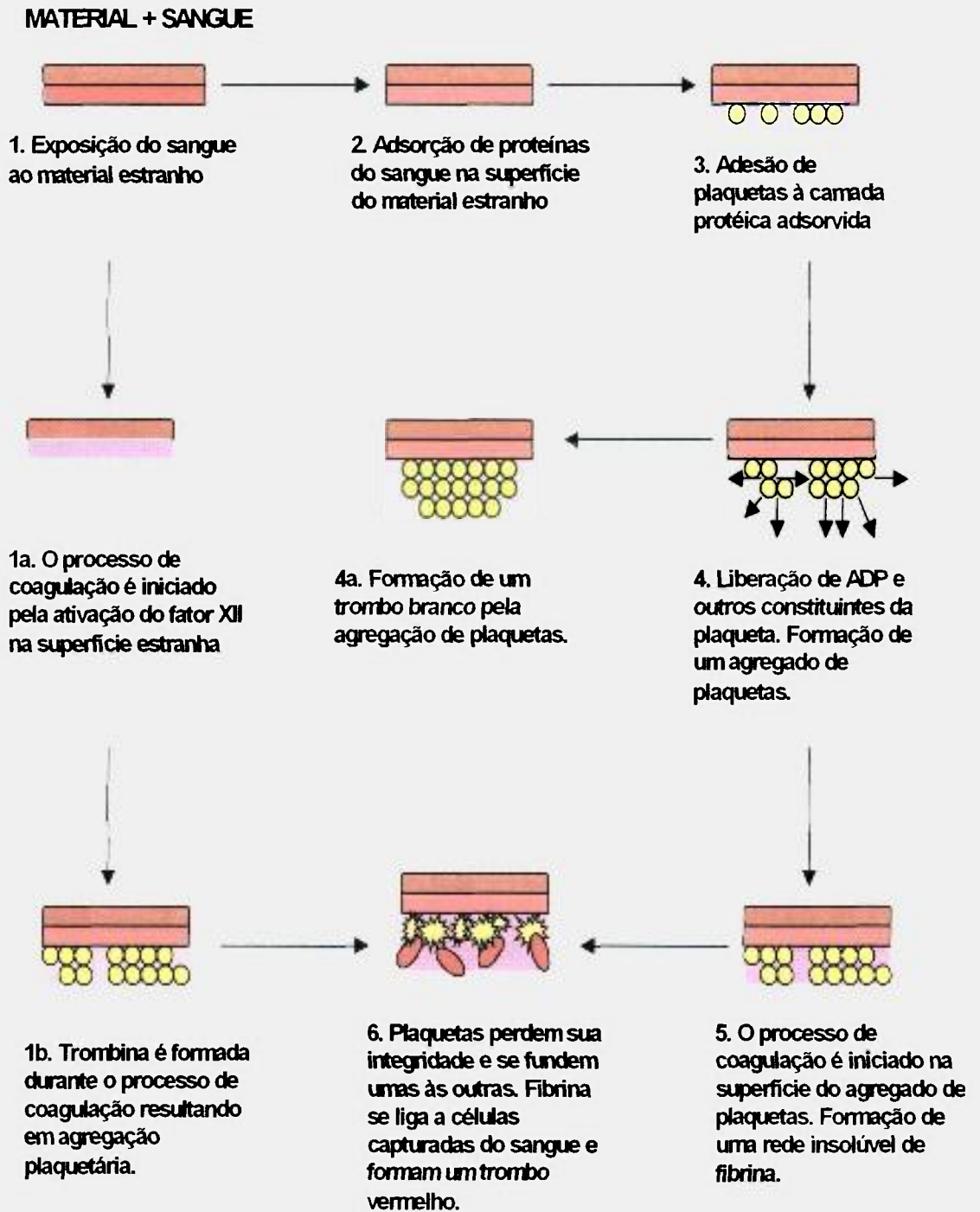


Figura 10. Esquema da ativação do mecanismo de coagulação devido à interação do sangue com a superfície estranha [69]

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Neste capítulo serão abordadas as condições experimentais que permitiram a determinação dos parâmetros de enxertia como a porcentagem de intumescimento ($%I_{nt}$) dos filmes de PVC em água, em etanol e em soluções aquosas contendo concentrações diferentes do monômero N,N-dimetilaminoetil metacrilato (DMAEMA), a porcentagem de enxertia ($%E_n$) em função da dose de irradiação, da concentração do DMAEMA e da concentração do inibidor de homopolimerização. Os copolímeros de enxerto obtidos foram caracterizados em função das modificações e alterações estruturais por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). A formação e o decaimento cinético dos radicais foram estudados por espectrometria de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e as alterações superficiais quanto à morfologia e adesão de plaquetas por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

3.1 Materiais

Todos os reagentes foram utilizados da forma como foram recebidos do fornecedor, sem tratamento prévio, Tabela 3.

Tabela 3. Materiais e reagentes

Materiais e Reagentes	Fornecedor
Composto de PVC	OPP-TRIKEN S.A
N,N-dimetilaminoetil metacrilato	FLUKA
Heparina sódica de mucosa de intestino suíno 198USP (MM 5.000-20.000)	FLUKA
Metanol (PA)	MERCK
Etanol (PA)	MERCK
Isopropanol (PA)	MERCK
Sulfato cúprico pentahidratado	CASA MOSER
Tetrahidrofurano (PA)	MERCK
Água destilada	IPEN

O PVC utilizado neste trabalho foi doado pela OPP-Triken S.A. Trata-se de um composto de PVC preparado com a resina SPJ 300 HY, diisodecilftalato (DIDP) como plastificante e outros aditivos e estabilizantes, não divulgados pela

empresa. De acordo com o fornecedor este é um produto fornecido comercialmente para fabricantes de artefatos médicos.

3.2 Preparação dos filmes de PVC

Todos os filmes de PVC foram preparados por evaporação lenta do solvente, a partir de uma solução 5% do polímero em tetrahidrofurano (THF), de modo a obter-se filmes homogêneos e livres de outros efeitos como pressão e calor.

Para a dissolução do polímero, amostras de resina de PVC (pó) foram pesadas em uma balança analítica da Marte mod. AL 500 e transferidas para balões volumétricos de 250mL com tampa de vidro esmerilhada, adicionando-se THF com pureza de 99,9%, em quantidade suficiente para preparar uma solução 5% (m/v) [15]. A dissolução total do polímero foi realizada à temperatura de 80°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), sob agitação constante, por um período de quatro horas.

Após a dissolução completa do polímero a solução foi mantida em repouso por 1 hora, para eliminar as bolhas. Em seguida a solução foi derramada em placas de petri, as quais foram colocadas em uma câmara seca, previamente nivelada. Esta câmara consiste de uma cuba de vidro com tampa. No interior da câmara foi colocada sílica gel de modo a reter a umidade, impedindo que os filmes ficassem esbranquiçados e opacos. O ar no interior da câmara foi deslocado, passando-se um fluxo de nitrogênio 4.6 da White Martins e as laterais foram vedadas com fita adesiva.

A secagem total dos filmes ocorreu em 15-20 dias. Após este período os filmes foram cortados em tiras de 7 x 30 x 0,07mm, lavados com sabão neutro em água corrente e enxaguados com água destilada. Em seguida os filmes foram passados em metanol e secos sob vácuo, 10^{-3} mmHg por 5 horas para remover possíveis traços de solvente.

3.3 Irradiação das amostras

Com exceção das amostras submetidas à ressonância paramagnética eletrônica (RPE), todas as amostras foram irradiadas com raios gama,

provenientes de uma fonte de ^{60}Co , tipo panorâmica, da Yoshizawa Kiko Co.Ltda com taxas de dose (TD) de 0,5 a 0,8 kGy h^{-1} e doses de 0,5 a 16 kGy , na ausência de ar e à temperatura ambiente.

As amostras submetidas à análise por RPE foram irradiadas à 77K com doses de 7,3 kGy e taxa de dose de 6,7 kGy h^{-1} em uma fonte de ^{60}Co , tipo "gamma cell" em ampolas de quartzo seladas na presença de ar.

Após a irradiação as amostras ficaram em repouso por 24h para atingir o equilíbrio termodinâmico.

3.4 Enxertia

O processo de enxertia é afetado pelos seguintes fatores como a dose de irradiação, a taxa de dose (TD), a temperatura de reação e a difusão do monômero e do solvente dentro da matriz polimérica [47, 70, 71].

Para que se obtenha bons níveis de enxertia é preciso que o monômero atinja os sítios ativados, reagindo com o maior número possível de radicais gerados no filme polimérico [47, 70], já que é por este meio que o monômero atinge os sítios ativos dentro da matriz polimérica [71], o que pode ser conseguido fazendo-se o intumescimento dos filmes poliméricos pela imersão destes em soluções monoméricas antes da irradiação [16]. Intumescimento

O intumescimento foi realizado com os filmes obtidos conforme a descrição no item 3.2. Estes filmes de PVC foram imersos em soluções aquosas contendo diferentes concentrações de monômero.

A massa das amostras foi controlada por intervalos regulares de tempo, por meio de pesagem das mesmas em uma balança analítica Marte modelo AL 500. Antes da pesagem o excesso de solução foi retirado da superfície do filme com papel absorvente. Para cada concentração diferente de monômero foram intumescidas quatro amostras de filmes de PVC. Os valores apresentados são uma média aritmética dos quatro valores encontrados.

A determinação do grau de intumescimento consiste em determinar a relação, em percentagem, entre a massa do corpo de prova antes e após a

sua imersão em soluções monoméricas por um período de tempo determinado [8, 70, 72].

O percentual de intumescimento no equilíbrio (%Int) é dado pela equação 58, onde, m é a massa da amostra após a imersão na mistura reacional e m_0 é a massa da amostra seca antes da imersão na mistura reacional.

$$\%Int = \frac{m - m_0}{m_0} \times 100 \quad (58)$$

3.4.1 Preparação das amostras

Para investigar o efeito da heparina no %En e nas propriedades não trombogênicas dos copolímeros de enxerto obtidos, PVC-co-DMAEMA e PVC-co-DMAEMA-co-heparina, foram preparadas duas séries de amostras, sendo uma na ausência de heparina e outra na presença de heparina, conforme relatado a seguir.

3.4.1.1 Na ausência de heparina

Preparou-se soluções aquosas de sulfato cúprico pentahidratado e de isopropanol em diferentes concentrações (0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1 mol L⁻¹) [30]. A estas soluções adicionou-se o DMAEMA em quantidade suficiente para obter soluções com 30% e 45% do monômero. Aliquotas de 7mL foram transferidos para porta amostras de vidro "Pyrex", colocando-se em seguida os filmes de PVC, obtidos conforme descrição do item 3.1.2. As amostras foram então borbulhadas com nitrogênio 4.6 da White Martins por 5 minutos e os porta-amostras foram fechados com rolhas de borracha e mantidos em repouso por 24 horas antes de serem irradiados para promover a difusão do monômero na matriz polimérica [36,37].

3.4.1.2 Na presença de heparina

Para realizar a heparinização selecionou-se filmes de PVC, conforme o descrito no item 3.2, os quais foram imersos em uma solução aquosa de DMAEMA e heparina sódica. Para preparar as soluções, dissolveu-se heparina em água destilada, 0,25% (m/v), à temperatura ambiente, [36,37]. Em seguida, adicionou-se DMAEMA em proporções de 30% e 45%. A estas soluções adicionou-se isopropanol [28], 0,02 mol L⁻¹, como inibidor de homopolimerização.

As amostras foram então borbulhadas com nitrogênio 4.6 da White Martins por 5 minutos e os porta-amostras foram fechados com rolhas de borracha e mantidos em repouso por 24 horas antes de serem irradiados para promover a difusão do monômero na matriz polimérica.

3.4.2 Extração

Após a irradiação os filmes enxertados foram removidos dos porta-amostras e em seguida lavados com água corrente até eliminação do homopolímero aderido à superfície das amostras.

Na seqüência os filmes foram lavados com sabão neutro, enxaguados em água corrente e em seguida em água destilada. Depois disto, as amostras foram colocadas em um banho à temperatura ambiente, com agitação constante por 24 horas para a extração de homopolímero e monômero residuais.

Após o período de extração as amostras foram enxaguadas em metanol por cinco segundos [37] e submetidas à secagem, em uma linha de alto vácuo, a uma pressão de 10^{-3} mmHg por um período de 5 horas.

As amostras foram então acondicionadas em dessecadores a vácuo para evitar a absorção de água.

3.4.3 Determinação do grau de enxertia

Os níveis de enxertia dos copolímeros de enxerto foram determinados por meio de análises gravimétricas.

Os filmes de PVC, obtidos conforme descrito no item 3.1.2, foram pesados antes da irradiação e após a extração do monômero e do homopolímero residuais cujo procedimento foi descrito no item 3.4.3.

O percentual de enxertia foi determinado conforme a Equação 59, onde, M é a massa da amostra após a enxertia e M_0 é a massa do filme de PVC antes da irradiação. [8, 28, 39].

$$\%En = \frac{M - M_0}{M_0} \quad (59)$$

3.5 Caracterização físico-química

3.5.1 Ressonância paramagnética eletrônica (RPE)

A formação e o decaimento dos radicais, formados como consequência da irradiação das amostras foi investigada por RPE [73, 74].

A espectroscopia RPE é um método muito sensível para detectar radicais livres, os quais possuem propriedades magnéticas devido ao momento angular intrínscio do elétron desemparelhado [71, 74].

Com a técnica de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) pretende-se identificar e estudar os radicais formados durante a irradiação das amostras. Alguns parâmetros importantes na interpretação de espectros RPE são: a intensidade relativa entre as linhas, que fornece uma noção sobre os átomos vizinhos; a distância entre as linhas, que é o valor da constante hiperfina (a_{Hip}) e mostra o grau de influência magnética dos átomos vizinhos; a largura de linha, que indica a influência da matriz no processo de relaxação; e a posição no campo magnético que indica a condição de ressonância [71].

Os ensaios RPE foram realizados com diferentes tipos de amostras, Tabela 4, já que o sistema utilizado para obter-se o copolímero de enxerto é bastante complexo, devido o número de componentes do sistema (água + heparina + isopropanol + DMAEMA + PVC).

Todos os espectros RPE foram obtidos a 77K, em tubos de quartzo, selados no ar. O decaimento cinético dos radicais foi acompanhado, após intervalos de tempo crescentes e cronometrados de exposição das amostras à temperatura ambiente. Os ensaios foram realizados em um espectrômetro EMX-EPR da BRUKER, computadorizado.

Tabela 4. Amostras usadas para os ensaios por RPE

Amostra	PVC (%)	DMAEMA	Heparina (% m/v)	Isopropanol (mol L ⁻¹)	Água (%)
01	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
02	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00
03	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
04	0,00	0,00	0,00	**	0,00
05	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
06	0,00	0,00	0,00	1,80	98,20
07	0,00	0,00	0,25	1,80	97,95
08	0,00	45,00	0,14	0,01	54,85
09	0,02	45,00	0,14	0,01	54,85

** amostra contendo apenas isopropanol

3.5.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Estudos preliminares, realizados por FTIR de transmissão (pastilha de KBr), reflexão total atenuada (ATR), refletância difusa (DRIFT), Microscopia-FTIR e detecção fotoacústica (PAS) das amostras, mostraram os melhores resultados pela técnica de reflexão ATR e absorção fotoacústica PAS.

Neste trabalho serão apresentados apenas os resultados obtidos por ATR e PAS, relatadas nos itens 3.5.2.1 e 3.5.2.2.

Como esta é uma técnica comparativa, primeiro foram realizadas as medidas FTIR para cada um dos componentes do sistema de enxertia e posteriormente realizaram-se as análises para os copolímeros de enxerto, Tabela 5.

Tabela 5. Amostras utilizadas para a obtenção dos espectros FTIR.

Amostras	Dose (kGy)	TD (kGy h ⁻¹)	Acessório	Equipamento
PVC (filmes)	0,00	0,00	ATR	BOMEN-1310
PVC (filmes)	16,00	0,80	ATR	BOMEN-1310
DMAEMA (líquido)	0,00	0,00	ATR PAS	BOMEN-1310/PERKIN-ELMER-2000
DMAEMA (líquido)	3,00	0,80	ATR	BOMEN 1310
Heparina sódica (pó)	0,00	0,00	PAS	BOMEN DA3.16 (MTEC 200)
Heparina sódica (pó)	7,30	0,50	PAS	BOMEN DA3.16 (MTEC 200)
PVC-co-DMAEMA -30% (filme)	5,00	0,65	PAS	PERKIN-ELMER-2000
PVC-co-DMAEMA -45% (filme)	2,50	0,65	PAS	PERKIN-ELMER-2000
PVC-co-DMAEMA -45% (parte solúvel em éter)	2,50	0,65	ATR	PERKIN-ELMER-1750
PVC-co-DMAEMA-co-Heparina -30% (filme)	5,00	0,65	PAS	BOMEN DA3.16 (MTEC 200)
PVC-co-DMAEMA-co-heparina -45% (filme)	2,50	0,65	PAS	BOMEN DA3.16 (MTEC 200)

3.5.2.1 Caracterização pela técnica de reflexão total atenuada (ATR)

As análises FTIR-ATR foram realizadas com as amostras apresentadas na Tabela 5.

As leituras foram realizadas na região espectral entre 4000 e 500 cm⁻¹, com ganho B; resolução de 4 cm⁻¹, e 80 varreduras, as amostras foram colocadas sobre o cristal em apenas um lado.

3.5.2.2 Caracterização pela técnica de detecção fotoacústica (PAS)

Para estas análises também foram usadas as amostras apresentadas na Tabela 4.

As leituras foram feitas em espectrofotômetro BOMEM, com fluxo de gás hélio, durante toda a análise, usando-se velocidade de 0,1 cm s⁻¹, resolução

de 8 cm^{-1} e 30 varreduras, com exceção das amostras de PVC-co-DMAEMA (45%) e PVC-co-DMAEMA-co-Heparina (45%), que apresentaram uma definição melhor de bandas importantes quando se usou uma velocidade de $0,05 \text{ cm s}^{-1}$.

3.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A técnica MEV foi utilizada para avaliar as alterações morfológica na superfície das amostras em decorrência da enxertia e heparinização induzidas pela radiação gama.

3.6.1 Análise morfológica superficial

Para avaliar as modificações superficiais nas amostras enxertadas e heparinizadas utilizou-se um MEV da marca JEOL, modelo JSM-T300, acoplado a um analisador dispersivo de energia (EDS). Os ensaios foram realizados em filmes de PVC comercial e em filmes de PVC-co-DMAEMA 30% e 45% e em filmes de PVC-co-DMAEMA-co-heparina 30% e 45%.

Para os ensaios de MEV, utilizaram-se amostras de PVC (filmes), que foram colocadas nas misturas reacionais, conforme descrito no item 3.4.2 e irradiadas com doses de 1,5kGy, 2,5kGy e 5,0kGy e taxa de dose de $0,53 \text{ kGy h}^{-1}$, na presença e na ausência de heparina e na presença e na ausência de DMAEMA, conforme descrição na Tabela 6.

Tabela 6. Amostras usadas nos ensaios de MEV

AMOSTRA	Dose (kGy)	PVC (g)	DMAEMA (%)	HEPARINA (%)	Isopropanol (mol.L^{-1})
F1	1,50	0,08	30,00	0,25	0,02
F1B	5,00	0,08	30,00	0,25	0,02
F3C	5,00	0,08	30,00	0,00	0,02
F4	1,50	0,08	45,00	0,25	0,02
F4B	2,50	0,08	45,00	0,25	0,02
F6C	1,50	0,08	45,00	0,00	0,02

3.6.1.1 Adesão de plaquetas

Para avaliar a adesão de plaquetas sobre as superfícies poliméricas, filmes de PVC sem irradiar e filmes dos copolímeros de enxerto heparinizados e não heparinizados, Tabela 7, foram cortados (5mm x 5mm), e fixados com fita dupla face em lamínulas de vidro, as quais foram colocadas em uma placa de petri de 50mm de diâmetro. Os conjuntos, placa de petri-lamínula-amstras, foram acondicionados em uma placa de petri de diâmetro maior forrada com algodão umedecido em água destilada, e mantidos a 37°C por 30 minutos. Enquanto isso, 10mL de sangue humano fresco foram transferidos para um tubo de ensaio contendo solução ACD (anticoagulante), recém preparada, na proporção de 1mL de sangue para 0,25mL de ACD.

Ao serem removidas da estufa, as lamínulas contendo as amostras foram recobertas com a mistura de sangue ACD e novamente foram levadas à estufa a 37°C por mais 10 minutos. Em seguida, as lamínulas contendo as amostras foram lavadas, cuidadosamente para não interferir na superfície polimérica, com solução salina (0,2 mol L⁻¹), e imersas em glutaraldeído (2,5%) por 10 minutos à temperatura ambiente, para fixar as plaquetas à superfície. Posteriormente foram desidratadas com álcool etílico nas concentrações de 50%, 75% e 95% por 5, 10 e 15 minutos respectivamente [52].

Tabela 7. Amostras usadas para os testes de adesão de plaquetas

Amostra*	Dose (kGy)
PVC	0,0
PVC-co-DMAEMA (30%)	5,0
PVC-co-DMAEMA (45%)	2,5
PVC-co-DMAEMA-co-Heparina (30%)	5,0
PVC-co-DMAEMA-co-heparina(45%)	2,5

* Amostras preparadas conforme descrição no item 3.4.2.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados experimentais obtidos no decorrer deste trabalho serão apresentados a seguir e discutidos em função das alterações radiolíticas sofridas tanto pelo PVC quanto pelo DMAEMA e pela heparina, como consequência da interação da radiação gama com estes materiais. Para avaliar as melhores condições de enxertia foram realizados ensaios preliminares que permitiu que se chegasse a percentuais de enxertia muito acima de 100%. Estes parâmetros foram determinados em função do intumescimento de filmes de PVC em soluções monoméricas de diferentes concentrações, da dose de radiação, da concentração de DMAEMA e da concentração do inibidor de homopolimerização, por meio de análises gravimétricas. A formação de radicais e o seu decaimento térmico foram estudados por RPE. As modificações estruturais foram investigadas por FTIR-PAS. As alterações morfológicas e a adesão de plaquetas foram avaliadas por MEV.

4.1 Determinação dos parâmetros de enxertia

A obtenção de copolímeros de enxerto pode ser influenciada por diversos fatores como o tipo de polímero e de monômero usados, o solvente, a dose de irradiação e a taxa de dose [36, 37]. Por este motivo, foram avaliados alguns parâmetros que, quando controlados, permitiram obter altos níveis de enxertia.

4.1.1 Intumescimento

A formação de radicais no solvente e sua contribuição na ativação da matriz polimérica constituem fatores importantes no mecanismo de enxertia [74], sendo que variações nos níveis de enxertia de polímeros podem estar associadas tanto à capacidade de intumescimento dos solventes quanto à solubilidade do monômero neste solvente [39]. Tanto o DMAEMA [75] quanto a heparina sódica [36] são solúveis em água, por este motivo foi avaliado o intumescimento de filmes de PVC em água destilada e em soluções aquosas contendo diferentes concentrações de DMAEMA, Tabelas 8 e 9.

Pelos resultados obtidos, Tabela 8, observa-se que nas primeiras 6 horas em que os filmes de PVC ficaram em contato com água não ocorreu qualquer variação no percentual de intumescimento das amostras, entretanto após 24 horas a porcentagem de intumescimento foi de 16,67% no intumescimento.

Por outro lado a adição de DMAEMA ao solvente, Tabela 9, não apresentou influência significativa nos percentuais de intumescimento dos filmes de PVC até concentrações de 30%, já que estes percentuais não ultrapassaram os valores observados quando se utilizou apenas água como solvente, ficando abaixo de 14% no mesmo período.

Tabela 8. Intumescimento (%Int) de Filmes de PVC em água.

Tempo (h)	Massa intumescida (g)							Desvio padrão	%Intumescimento
	A1	A2	A3	A4	$M = \frac{A1 + A2 + A3 + A4}{4}$				
0	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,000	0,000	
1	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,000	0,000	
2	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,000	0,000	
3	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,000	0,000	
4	0,030	0,030	0,04	0,030	0,030	0,030	0,000	0,000	
5	0,030	0,030	0,04	0,030	0,030	0,030	0,000	0,000	
6	0,030	0,030	0,04	0,030	0,030	0,030	0,000	0,000	
24	0,04	0,030	0,04	0,030	0,030	0,035	0,006	16,670	
48	0,03	0,030	0,04	0,030	0,030	0,033	0,005	10,000	

Tabela 9. Intumescimento (%Int) de filmes de PVC em soluções aquosas de DMAEMA em diferentes proporções.

DMAEMA:ÁGUA (10:90)

Massa Intumescida (g)

Tempo (h)	A1	A2	A3	A4	$M = \frac{A1 + A2 + A3 + A4}{4}$	Desvio padrão	%Intumescimento
0	0,029	0,038	0,040	0,072	0,045	0,019	0
24	0,030	0,045	0,046	0,077	0,050	0,020	11,111
48	0,030	0,042	0,041	0,077	0,048	0,020	6,667
72	0,033	0,044	0,042	0,078	0,049	0,020	8,889
168	0,027	0,043	0,041	0,079	0,048	0,022	6,667
192	0,027	0,043	0,041	0,078	0,047	0,022	4,444

Tabela 9 Intumescimento (%Int) de filmes de PVC em soluções aquosas de DMAEMA em diferentes proporções (continuação)

DMAEMA:ÁGUA (20:80)

Tempo (h)	Massa Intumescida (g)						Desvio padrão	%Intumescimento
	A1	A2	A3	A4	$M = \frac{A1 + A2 + A3 + A4}{4}$			
0	0,026	0,039	0,042	0,073	0,045	0,020	0,000	
24	0,028	0,042	0,045	0,079	0,049	0,022	8,889	
48	0,031	0,042	0,047	0,079	0,050	0,020	11,111	
72	0,030	0,039	0,049	0,081	0,050	0,022	11,111	
168	0,028	0,040	0,049	0,079	0,049	0,022	8,889	
192	0,029	0,041	0,047	0,08	0,049	0,022	8,889	

Tabela 9 Intumescimento (%Int) de filmes de PVC em soluções aquosas de DMAEMA em diferentes proporções (continuação)

DMAEMA:ÁGUA (25:75)

Massa Intumescida (g)

Tempo (h)	A1	A2	A3	A4	$M = \frac{A1 + A2 + A3 + A4}{4}$	Desvio padrão	%Intumescimento
0	0,026	0,039	0,043	0,071	0,045	0,019	0,000
24	0,030	0,040	0,048	0,075	0,048	0,020	6,667
48	0,031	0,042	0,049	0,073	0,049	0,015	8,889
72	0,030	0,042	0,047	0,074	0,048	0,019	6,667
168	0,030	0,041	0,049	0,075	0,049	0,020	8,889
192	0,028	0,042	0,049	0,075	0,049	0,020	8,889

Tabela 9 Intumescimento (%Int) de filmes de PVC em soluções aquosas de DMAEMA em diferentes proporções (continuação)

DMAEMA:ÁGUA (30:70)

Tempo (h)	Massa Intumescida (g)				Desvio padrão	%Intumescimento
	A1	A2	A3	A4		
0	0,026	0,040	0,042	0,071	0,019	0,000
24	0,030	0,045	0,05	0,079	0,021	13,333
48	0,030	0,044	0,049	0,079	0,021	13,333
72	0,029	0,044	0,049	0,077	0,020	11,111
168	0,030	0,045	0,049	0,075	0,019	11,111
192	0,029	0,045	0,047	0,076	0,020	8,889

Tabela 9 Intumescimento (%Int) de filmes de PVC em soluções aquosas de DMAEMA em diferentes proporções (continuação)

DMAEMA:ÁGUA (40:60)

Massa Intumescida (g)

Tempo (h)	A1	A2	A3	A4	$M = \frac{A1 + A2 + A3 + A4}{4}$	Desvio padrão	%Intumescimento
0	0,030	0,038	0,046	0,069	0,046	0,017	0,000
24	0,036	0,055	0,071	0,110	0,068	0,026	47,826
48	0,035	0,052	0,068	0,105	0,065	0,030	41,304
72	0,030	0,045	0,063	0,091	0,057	0,026	23,913
168	0,026	0,040	0,048	0,073	0,047	0,020	2,174
192	0,024	0,040	0,046	0,073	0,046	0,020	0,000

Tabela 9 Intumescimento (%Int) de filmes de PVC em soluções aquosas de DMAEMA em diferentes proporções (continuação)

DMAEMA:ÁGUA (43:57)

Tempo (h)	Massa Intumescida (g)						Desvio padrão	%Intumescimento
	A1	A2	A3	A4	$M = \frac{A1 + A2 + A3 + A4}{4}$			
0	0,030	0,036	0,050	0,070	0,047	0,017	0,000	
24	0,050	0,059	0,092	0,116	0,079	0,030	68,085	
48	0,041	0,051	0,085	0,102	0,070	0,029	48,936	
72	0,037	0,045	0,073	0,091	0,062	0,025	31,915	
168	0,030	0,040	0,061	0,083	0,054	0,024	14,894	
192	0,030	0,039	0,061	0,080	0,053	0,022	12,766	

Tabela 9 Intumescimento (%Int) de filmes de PVC em soluções aquosas de DMAEMA em diferentes proporções (continuação)

DMAEMA:ÁGUA (45:55)

Massa Intumescida (g)

Tempo (h)	A1	A2	A3	A4	$M = \frac{A1 + A2 + A3 + A4}{4}$	Desvio padrão	%Intumescimento
0	0,030	0,035	0,057	0,063	0,046	0,016	0,000
24	0,050	0,059	0,105	0,116	0,083	0,033	80,435
48	0,048	0,056	0,098	0,111	0,078	0,031	69,565
72	0,040	0,055	0,090	0,094	0,070	0,026	52,174
168	0,036	0,043	0,066	0,073	0,055	0,017	19,565
192	0,033	0,041	0,062	0,070	0,052	0,017	13,043

Tabela 9 Intumescimento (%Int) de filmes de PVC em soluções aquosas de DMAEMA em diferentes proporções (continuação)

DMAEMA:ÁGUA (47:53)

Tempo (h)	Massa Intumescida (g)						Desvio padrão	%Intumescimento
	A1	A2	A3	A4	$M = \frac{A1 + A2 + A3 + A4}{4}$			
0	0,032	0,035	0,059	0,061	0,047	0,015	0,000	
24	0,060	0,061	0,113	0,117	0,088	0,031	87,234	
48	0,058	0,056	0,102	0,108	0,081	0,028	72,340	
72	0,053	0,055	0,095	0,098	0,075	0,025	59,574	
168	0,040	0,037	0,073	0,070	0,055	0,020	17,021	
192	0,038	0,033	0,071	0,068	0,053	0,020	12,766	

Tabela 9 Intumescimento (%Int) de filmes de PVC em soluções aquosas de DMAEMA em diferentes proporções (continuação)

DMAEMA:ÁGUA(100:00)

Tempo (h)	Massa Intumescida (g)						Desvio padrão	%Intumescimento
	A1	A2	A3	A4	$M = \frac{A1 + A2 + A3 + A4}{4}$			
0	0,049	0,046	0,055	0,043		0,048	0,005	0,000
24	0,181	0,179	0,185	0,175		0,180	0,005	275,000
48	0,162	0,154	0,172	0,154		0,161	0,009	235,420
72	0,158	0,151	0,163	0,152		0,156	0,006	225,000
168	0,171	0,168	0,179	0,168		0,172	0,005	258,340

A partir de 40% de monômero, as variações nos níveis de intumescimento são bem mais pronunciadas, observando-se os níveis mais altos de intumescimento nas primeiras 24 horas, sendo que o maior percentual de intumescimento, 275%, foi observado quando o filme de PVC ficou em contato com o monômero.

É interessante notar que uma variação de apenas 3% na concentração de monômero, no mesmo período de 24 horas, provoca um aumento de 42% no percentual de intumescimento dos filmes de PVC, passando de 47,8% no sistema contendo 40% de DMAEMA para 68,08% no sistema contendo 43% de DMAEMA. A mesma tendência é observada para os sistemas contendo 45% e 47% de DMAEMA, cujo percentual de intumescimento nas primeiras 24 horas foi de 80,43% no sistema contendo 45% de DMAEMA. O aumento na concentração de DMAEMA aumenta os níveis de intumescimento das amostras. Os níveis mais altos foram atingidos após 24 horas, chegando a 87% em concentrações de DMAEMA de 47%.

A partir de 24 horas de contato dos filmes com as soluções monoméricas, porém, observa-se uma diminuição acentuada nos níveis de intumescimento das amostras, que passam a apresentar massas aproximadamente iguais às massas dos filmes de PVC não intumescidos.

A Figura 10 evidencia este comportamento anômalo observado para os filmes de PVC imersos em soluções contendo diferentes concentrações de DMAEMA, em função do tempo de intumescimento.

Por definição, a difusão é o processo de transporte devido à migração de uma substância de uma região de maior concentração para outra, de concentração menor. Deste modo, o alinhamento e o relaxamento das cadeias poliméricas facilitarão a extração, pelas moléculas de água, das substâncias solúveis, incluindo o monômero [76, 77].

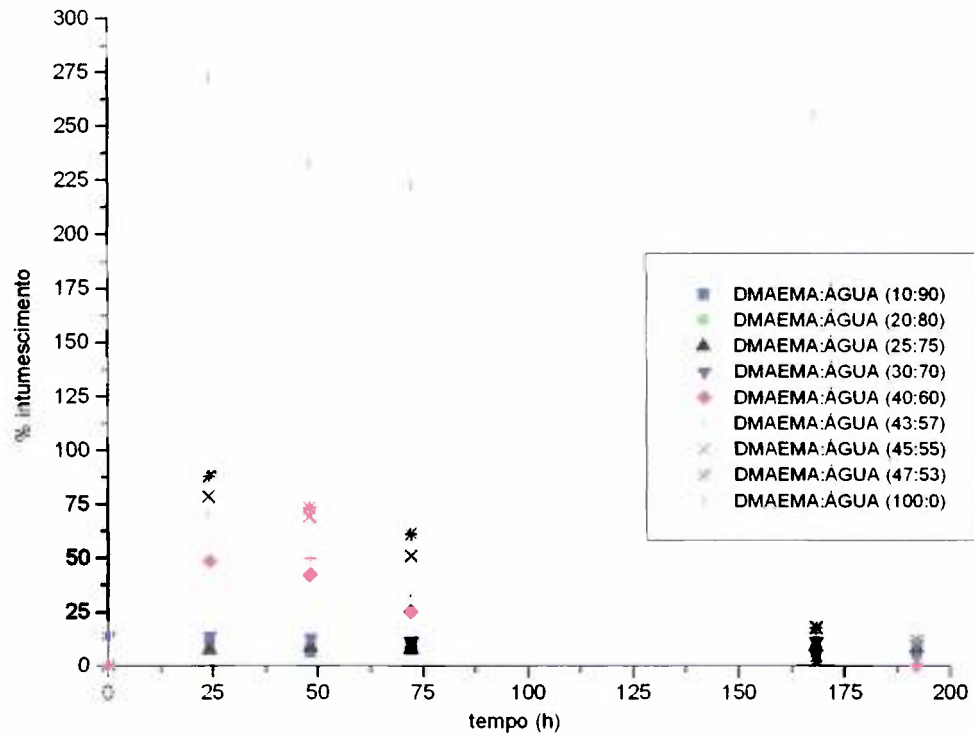


Figura 11. Porcentagem de intumescimento de filmes de PVC imersos em soluções aquosas, contendo concentrações distintas de DMAEMA, em função do tempo (h).

Durante o processo de difusão a rede polimérica é progressivamente expandida. As cadeias contendo pontos de junção, (reticulação química ou física), são forçadas a assumir configurações mais alongadas e menos prováveis [76,77].

Conseqüentemente, a entropia conformacional das cadeias diminui e a entropia da mistura polímero-permeante aumenta. Se a estrutura de rede não é destruída pela ação do permeante, o equilíbrio de intumescimento será atingido quando a variação da energia livre de absorção do líquido for igual a zero, Equação 61, onde G é a energia livre de Gibbs e n_1 é o número de moles do líquido permeante no polímero intumescido [76,77].

$$\frac{\partial G}{\partial n_1} = 0 \quad (61)$$

Este rearranjo das cadeias em função da sorção do permeante poderia explicar o comportamento das curvas para as amostras intumescidas em 40%, 43%, 45% e 47%.

Pelas curvas apresentadas na Figura 10 observam-se comportamentos diferenciados, em função do tempo de intumescimento das amostras, para as soluções monoméricas contendo entre 10% e 30% de DMAEMA e para aquelas contendo entre 40% e 47% de DMAEMA.

Como o processo de difusão do solvente e do monômero no interior da matriz polimérica interfere tanto nos percentuais de enxertia quanto na rugosidade superficial das amostras[53], e sabendo-se que as propriedades não trombogênicas de um material podem ser afetadas pelo excesso de rugosidade superficial, pois leva à ativação do sistema de coagulação do sangue pela destruição de plaquetas [78], optou-se por trabalhar com um representante de grupo fixando-se as concentrações de monômero a serem estudadas em 30% e 45%.

O tempo de intumescimento dos filmes de PVC nas soluções monoméricas antes da irradiação foi fixado em 24 horas, já que foi neste período que se observou os percentuais máximos de intumescimento nas duas concentrações estudadas.

4.1.2 Inibidor de homopolimerização

Dos estudos preliminares, que foram realizados sem a adição de inibidor de homopolimerização, verificou-se, que quando as amostras são irradiadas em soluções contendo concentrações de DMAEMA acima de 40%, ocorre a homopolimerização do monômero em taxas tão elevadas, que não foi possível a separação entre o copolímero de enxerto e o homopolímero formado.

Trabalhos realizados anteriormente [30,52] mostraram que a adição de íons Cu^{2+} e Fe^{2+} aumentou os níveis de enxertia do PVC com o monômero ácido acrílico, diminuindo a taxa de reação para as reações de homopolimerização, pela captura dos radicais $\cdot\text{OH}$. Entretanto, a presença de íons Cu^{2+} nos copolímeros de enxerto obtidos, mesmo após exaustivos períodos de extração, compromete a sua utilização como biomateriais, devido a um aumento na citotoxicidade [52].

Por outro lado, a utilização de isopropanol como inibidor de homopolimerização também mostrou ser bastante eficiente na captura dos

radicais hidroxila e elétrons solvatados ($e_{(aq)}^-$) [3, 28], podendo ser uma alternativa na obtenção de biomateriais.

Para avaliar a eficiência de íons Cu^{2+} e de isopropanol no sistema PVC-DMAEMA foi feito o estudo em função da concentração do inibidor de homopolimerização e da dose de irradiação, utilizando-se o isopropanol, Tabelas 10 e 11, e sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), Tabelas 12 e 13, de modo a atingir-se bons níveis de enxertia.

Tabela 10. Variação da $\%E_n$ em função da concentração de isopropanol e da dose de irradiação no sistema contendo 30% de DMAEMA.

Isopropanol (mol.L ⁻¹)	$\%E_n$				
	0,5kGy	2,5kGy	3,5kGy	5kGy	7kGy
0,02	61,6	114,3	120	131,43	71,4
0,04	86,5	43,2	59,5	48,7	74,4
0,06	72,6	25,6	27,5	35,21	57,5
0,08	61,1	24,4	47,6	21,4	47,6
0,1	46,6	27,9	16,3	18,6	22,7

Pelos resultados apresentados na Tabela 10 observa-se que, o maior percentual de enxertia, 131,43%, foi obtido quando se utilizou 0,02 mol L⁻¹ de isopropanol e 5,0kGy de dose de irradiação. Nesta dose, pode-se observar ainda que o percentual de enxertia diminui drasticamente com o aumento da concentração de isopropanol, passando de 131,43% em 0,02 mol.L⁻¹ para 48,7% em 0,04 mol L⁻¹. Este efeito, porém, é menos pronunciado quando se comparam os resultados apresentados a partir de 0,04 mol L⁻¹.

A Figura 12 apresenta uma comparação entre as curvas obtidas a partir dos resultados apresentados na Tabela 10.

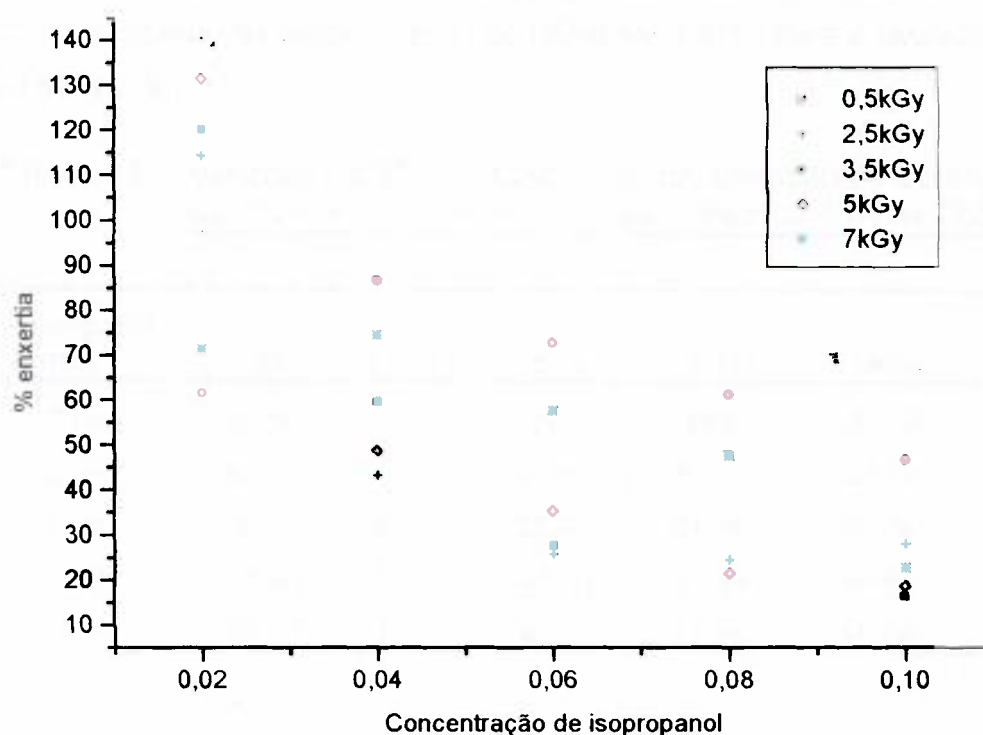


Figura 12. Efeito da concentração de isopropanol na enxertia de filmes de PVC, irradiados com doses diferentes, em soluções contendo 30% de DMAEMA.

Verifica-se a existência de interdependência entre a dose de radiação e a concentração de isopropanol, já que em 0,5kGy e em 7,0kGy ocorre uma variação menor nos níveis de enxertia em função da concentração de isopropanol, observando-se ainda, que nestas doses a eficiência do inibidor de homopolimerização é maior com concentrações de 0,04 mol L⁻¹, que em 0,02 mol.L⁻¹.

Os resultados apresentados na Tabela 11 mostram que os percentuais mais altos de enxertia ocorreram quando a concentração de isopropanol foi de 0,02 mol L⁻¹, analogamente ao observado para o PVC-co-DMAEMA (30%), em todas as doses estudadas. Nesta concentração, o maior percentual de enxertia foi obtido quando a dose de radiação foi de 2,5kGy atingindo 169,77%.

Uma comparação entre os valores obtidos para o PVC-co-DMAEMA (30%) e PVC-co-DMAEMA (45%), Tabelas 10 e 11, respectivamente, mostra que um aumento de 15% na concentração de DMAEMA elevou em 29,2% o

percentual de enxertia ao mesmo tempo em que a dose de radiação foi reduzida em 50%, passando de 5kGy no PVC-co-DMAEMA (30%) para 2,5kGy no PVC-co-DMAEMA (45%).

Tabela 11. Variação da %E_n em função da concentração de isopropanol e da dose de irradiação no sistema contendo 45% de DMAEMA.

Isopropanol (mol.L ⁻¹)	%E _n					
	0,5kGy	1,5kGy	2,5kGy	3,5kGy	5,0kGy	7,0kGy
0,02	91,86	120,93	169,77	134,48	131,39	113,95
0,04	45,45	77,27	90,80	87,36	105,68	122,22
0,06	30,77	45,65	55,43	61,96	88,04	95,65
0,08	34,40	53,19	36,56	41,93	68,82	57,45
0,1	28,57	22,47	46,59	47,25	55,06	47,13

A figura 13 apresenta a comparação entre as curvas obtidas a partir dos resultados na Tabela 11.

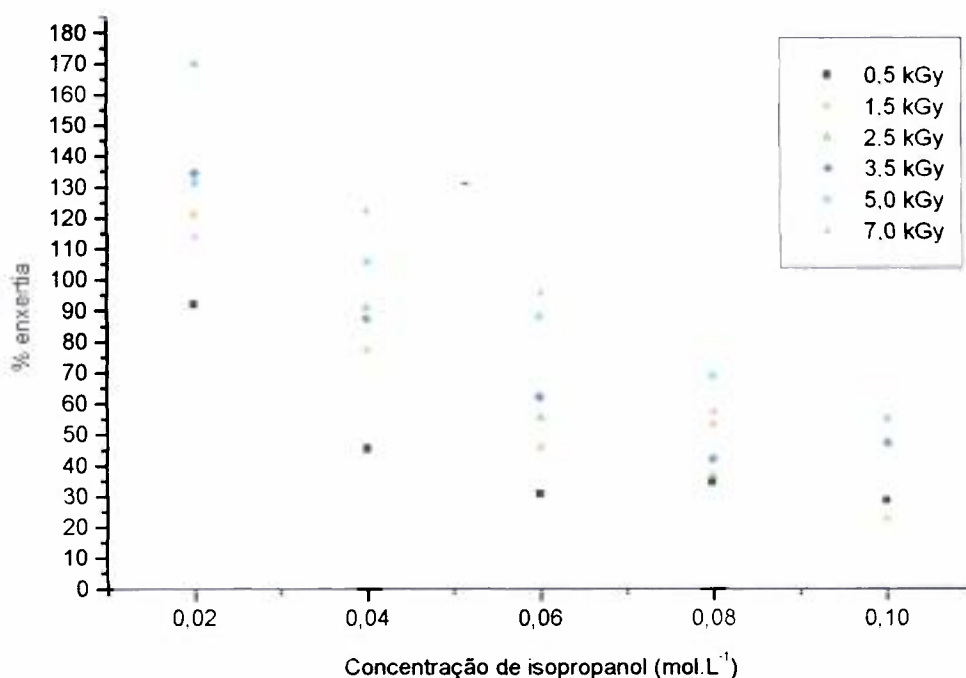


Figura 13. Efeito da concentração de isopropanol na enxertia de filmes de PVC, irradiados em doses diferentes, em soluções contendo 45% de DMAEMA.

Pela Figura 13 é possível perceber que o aumento na concentração do inibidor de homopolimerização leva a uma diminuição nos percentuais de enxertia, mostrando que a eficiência do inibidor de homopolimerização diminui com o aumento da concentração em todas as doses estudadas. Este efeito, porém, é menos intenso em doses mais altas (5,0kGy e 7kGy), sugerindo a existência de interdependência entre a dose de radiação e a concentração de isopropanol usada. Em concentrações de $0,06 \text{ mol.L}^{-1}$, observa-se que os percentuais de enxertia aumentam com o aumento da dose de radiação. Os percentuais de enxertia nesta concentração, porém é muito inferior àqueles observados quando se usou $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de isopropanol

A Tabela 12 apresenta os percentuais de enxertia para o PVC-co-DMAEMA, quando se utilizou CuSO_4 como inibidor de homopolimerização.

Tabela 12. Variação da $\%E_n$ em função da concentração de CuSO_4 e da dose de irradiação no sistema contendo 30% de DMAEMA.

$\text{CuSO}_4 (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	$\%E_n$					
	0,5kGy	1,5kGy	2,5kGy	3,5kGy	5,0kGy	7,0kGy
0,02	58,87	43,59	41,03	167,95	203,08	197,50
0,04	13,95	31,25	37,50	44,44	79,01	82,72
0,06	24,69	20,73	28,04	36,50	53,66	68,29
0,08	21,95	23,17	24,10	28,92	54,22	30,49
0,1	17,86	18,82	18,82	27,06	22,62	42,86

Observa-se que os percentuais mais altos de enxertia também foram obtidos em concentrações de $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ em todas as doses estudadas, sendo que o maior percentual de enxertia, 203,08%, foi obtido quando a dose de radiação foi de 5,0kGy. Este resultado, porém, foi 55% maior que aquele observado quando se utilizou isopropanol, nas mesmas condições.

Pela Figura 14 pode-se observar que o aumento na concentração de CuSO_4 de $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ para $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ provoca uma diminuição drástica nos níveis de enxertia em doses acima de 3,5kGy.

Quando a dose de radiação foi de 5kGy esta variação foi de 61%. Este efeito é menos intenso abaixo de 3,5kGy. A partir de 0,04 mol L⁻¹ de CuSO₄, porém, não se observa influência significativa do inibidor de homopolimerização já que os níveis de enxertia passam a variar apenas em função do aumento da dose de radiação, apresentando os níveis mais altos de enxertia em 7kGy.

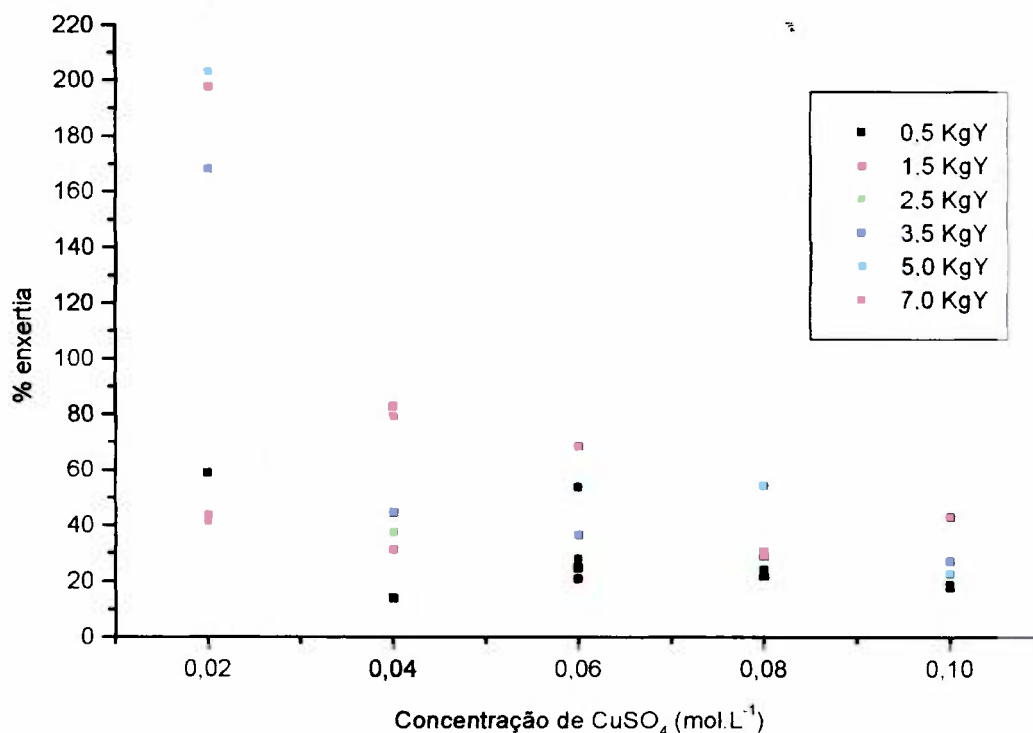


Figura 14. Efeito da concentração CuSO₄ na enxertia de filmes de PVC, irradiados com doses diferentes, em soluções contendo 30% de DMAEMA.

Pelos resultados apresentados na Tabela 13 observa-se que os percentuais mais altos de enxertia também foram obtidos quando se utilizou 0,02 mol L⁻¹ de CuSO₄ no intervalo de dose estudado.

Comparando os percentuais máximos de enxertia, com os da Tabela 12, verifica-se que o aumento de 15% na concentração de DMAEMA elevou os níveis de enxertia em 75,7%, passando de 203,08% para 356,9%.

O aumento na concentração de DMAEMA permitiu, ainda, uma redução de 70% na dose de radiação usada, que passou de 5,0kGy para o

PVC-co-DMAEMA (30%) para 1,5kGy para o PVC-co-DMAEMA (45%), mantendo-se constante a concentração de CuSO_4 em $0,02 \text{ mol L}^{-1}$.

Tabela 13. Variação da $\%E_n$ em função da concentração de CuSO_4 e da dose de irradiação no sistema contendo 45% de DMAEMA.

CuSO_4 ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	$\%E_n$					
	0,5kGy	1,5kGy	2,5kGy	3,5kGy	5kGy	7kGy
0,02	307,00	356,90	197,80	191,10	280,00	262,20
0,04	171,70	373,30	88,90	82,20	46,70	153,30
0,06	238,20	292,60	45,80	43,80	62,50	124,50
0,08	103,60	174,10	36,70	28,60	63,30	98,00
0,1	93,70	119,60	21,60	23,50	57,70	94,23

Pela Figura 15 é possível observar as variações nos níveis de enxertia sobre o substrato polimérico PVC, em função da concentração de CuSO_4 , quando se utilizaram 45% de DMAEMA.

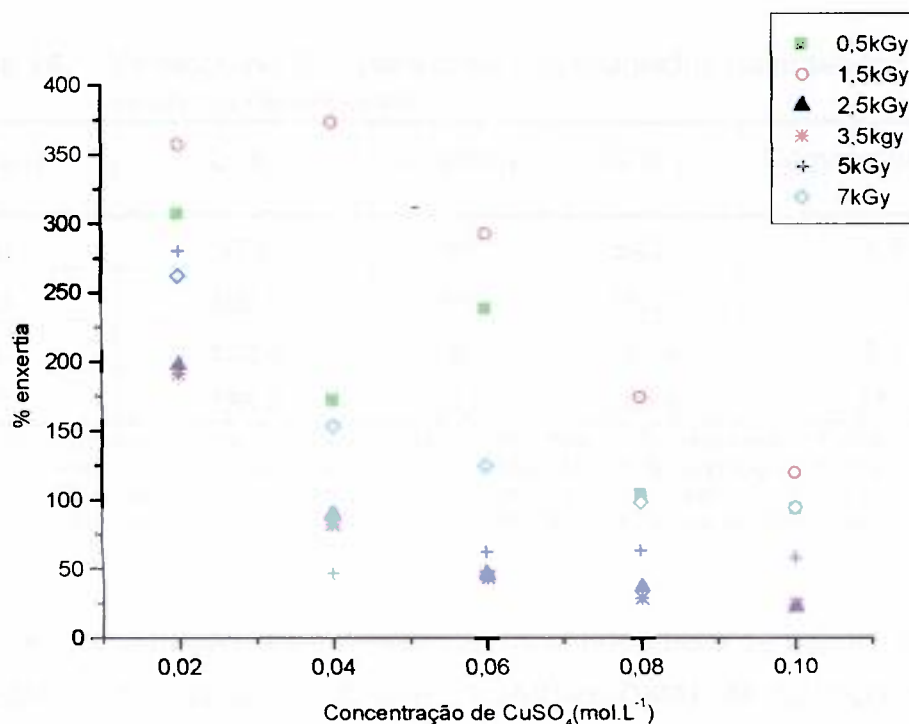


Figura 15. Efeito da concentração de CuSO_4 na enxertia de filmes de PVC irradiados em soluções contendo 45% de DMAEMA.

As curvas apresentadas na Figura 15 indicam uma interdependência entre a dose de radiação, a concentração do inibidor de homopolimerização e a concentração de DMAEMA, pois o aumento da concentração de DMAEMA promoveu um comportamento completamente diferenciado daquele observado quando se usou apenas 30% de DMAEMA, sendo que os níveis mais altos de enxertia foram obtidos em doses de 1,5kGy e 0,5kGy.

Apesar do CuSO_4 ter apresentado maior eficiência como inibidor de homopolimerização, aumentando significativamente os níveis de enxertia dos copolímeros PVC-co-DMAEMA (30%) e PVC-co-DMAEMA (45%), optou-se pela utilização do isopropanol na síntese do PVC-co-DMAEMA-co-heparina, por ter apresentado boa eficiência na inibição de homopolimerização além de não apresentar os efeitos citotóxicos, relatados para o CuSO_4 [28, 52].

4.1.3 Efeito da adição de heparina na enxertia

Para avaliar o efeito da heparina na porcentagem de enxertia dos copolímeros foram realizados ensaios em duplicatas com as amostras relacionadas na Tabela 14.

Tabela 14. Variação na %E_n para amostras irradiadas na presença e na ausência de heparina

Amostra	G(%)	Amostra	G(%)	Desvio padrão (s)
1B	57,6	3B	54,7	1,45
4B	156,6	6B	152,7	1,95
1C	122,4	3C	127,9	2,75
4C	135,7	6C	100,6	17,55

1B e 3B Heparina = 0,25% (m/v); Dose = 5,0 kGy; DMAEMA = 30% ; isopropanol = 0,02 mol/L
 4B e 6B Heparina = 0,25% (m/v); Dose = 2,5 kGy; DMAEMA = 45% ; isopropanol = 0,02 mol/L
 1C e 3C Heparina = 0,0; Dose = 5,0 kGy; DMAEMA = 30% ; isopropanol = 0,02 mol/L
 4C e 6C Heparina = 0,0; Dose = 2,5 kGy; DMAEMA = 45% ; isopropanol = 0,02 mol/L

A Comparação entre os resultados obtidos para os copolímeros PVC-co-DMAEMA (30%), amostras 1C e 3C, e PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%), amostras (1B e 3B), mostram que a adição de 0,25% (m/v) de heparina provocou uma redução de 55% no percentual de enxertia das amostras.

Quando se aumentou a concentração de DMAEMA, observou-se um comportamento inverso.

Os resultados obtidos para o copolímero PVC-co-DMAEMA (45%), amostras 4C e 6C, e para o PVC-co-DMAEMA-co-heparina, amostras 4B e 6B, foram menos reprodutivos que aqueles observados para as amostras de PVC-co-DMAEMA (30%) e PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%). Entretanto, pela média dos valores obtidos, observa-se um pequeno aumento de 23,6% nos níveis de enxertia quando se adicionou 0,25% (m/v) de heparina ao sistema. Estes resultados indicam que as concentrações de heparina e DMAEMA são interdependentes, já que os demais parâmetros de enxertia, como dose de radiação, taxa de dose e concentração de isopropanol foram matidos.

A Figura 16 mostra a variação nas dimensões dos copolímeros de enxerto obtidos em relação ao filme de PVC original.

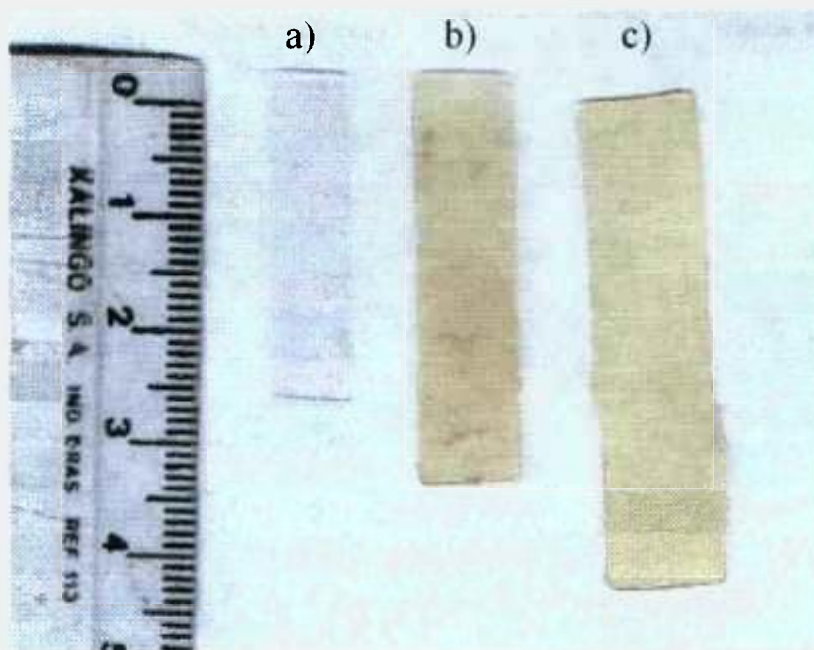


Figura 16. Variações nas dimensões em função do grau de enxertia: a) Filme de PVC; b) PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%); c) PVC-co-DMAEMA-co-heparina (45%)

Pela Figura 16, observa-se que as modificações causadas pela enxertia e heparinização simultâneas não se restringem às dimensões, mas também à cor do material resultante.

Apesar da amostra de PVC-co-DMAEMA-co-heparina (45%), Figura 15c, apresentar um percentual de enxertia muito mais alto, o que pode ser confirmado pelos resultados apresentados na Tabela 14, a amostra de PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%), Figura 15b, apresentou amarelecimento mais intenso, com pontos de pigmentação mais acentuados.

O amarelecimento de polímeros é devido à formação de grupos cromóforos [13, 79, 80].

No PVC, a mudança de coloração ocorre como consequência do aumento de insaturações conjugadas, que se formam a partir de quebras de ligações C-Cl, com liberação de cloreto de hidrogênio [20, 79]. O amarelecimento do PVC também é observado quando os polímeros sofrem degradação oxidativa, com a formação de grupos peróxidos e hidroperóxidos, Equações 40-48, alterando as propriedades mecânicas do material.

Estas alterações são indesejáveis em artefatos médicos, pois em muitos casos a análise visual da coloração de líquidos e fluidos corpóreos são imprescindíveis para a identificação de possíveis problemas.

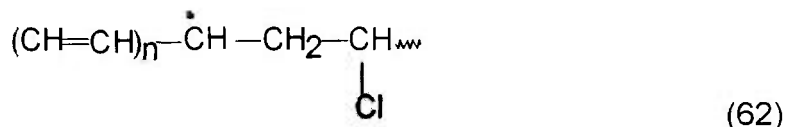
4.2 Ressonância paramagnética eletrônica (RPE)

A seguir serão apresentados os espectros RPE que foram selecionados para os diversos sistemas estudados. Para estudar o comportamento dos radicais em função do decaimento cinético, utilizou-se a técnica de subtração de espectros.

Considerando que os picos mais afastados da região central do espectro são os que sofrem a menor interferência pelos demais picos, mediu-se a altura deste pico no espectro, obtido logo após a irradiação, calculando-se a altura relativa em relação à escala utilizada. O mesmo procedimento foi usado para o espectro obtido após a exposição da amostra à temperatura ambiente e em seguida dividiu-se o maior valor encontrado pelo menor, chegando-se a um fator único. Multiplicando o menor espectro pelo fator encontrado foi possível sobrepô-los e em seguida fazer a subtração dos mesmos.

4.2.1 PVC

A irradiação do PVC com radiação ionizante promove a formação de radicais polienil [81]:



Radical polienila

Estes radicais são os principais responsáveis pelo amarelecimento das amostras irradiadas [79, 80, 81].

Radicais alílicos, formados durante a irradiação do PVC a 77K, dão origem a um espectro RPE composto por um septeto, com uma constante de acoplamento hiperfino (a_{Hip}) de $18\text{G} \pm 2\text{G}$. Apesar de não estar muito bem resolvido, a Figura 17 apresenta o espectro de PVC irradiado e medido a 77K [73].

Após a exposição da amostra à temperatura ambiente, por intervalos de tempo cronometrados e crescentes de 15s+30s+30s+40s+60s+ à temperatura ambiente, observa-se o desaparecimento do singleto central, Figura 17.

O espectro apresentado é característico de radicais peroxila, formados em filmes de polímeros 1,1-dissubstituídos, medidos em campo perpendicular ao eixo [73].

Este espectro é semelhante àquele observado quando o polipropileno é irradiado no vácuo. O formato do espectro é atribuído à dependência angular do componente assimétrico dos radicais peroxila em filmes orientados em paralelo em relação ao campo [73].

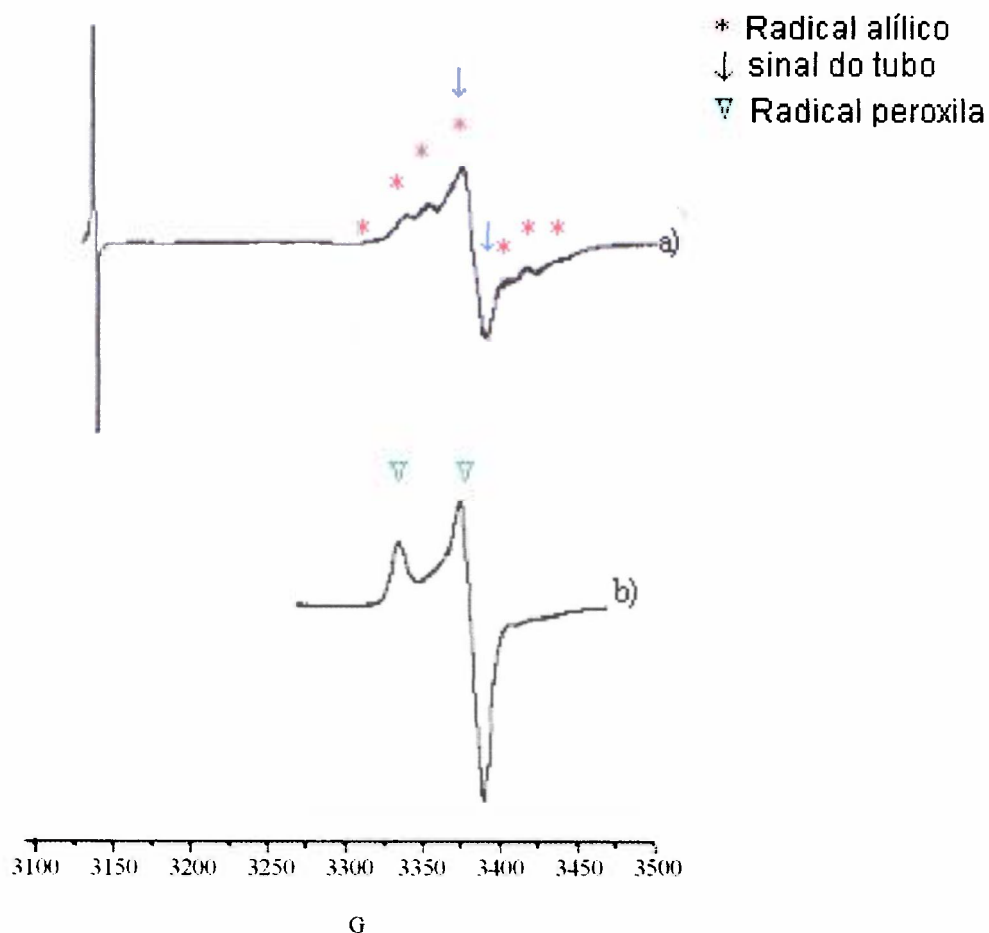


Figura 17. Efeito térmico no decaimento dos radicais formados pela irradiação do PVC (Dose = 7,3 kGy; TD = 6,3 kGy h⁻¹): a) irradiado e medido a 77; b) irradiado a 77K e medido à temperatura ambiente.

A sobreposição dos espectros, Figura 18, antes e após a exposição da amostra à temperatura ambiente, permite que se observe o desaparecimento de um singleto na região central do espectro.

O desaparecimento simultâneo dos radicais H• indica a participação desta espécie no mecanismo de reação dos radicais alílicos, os quais em contato com o oxigênio do ar, já que as amostras foram seladas no ar, podem dar origem aos radicais peroxila e alcóxila [80, 81].

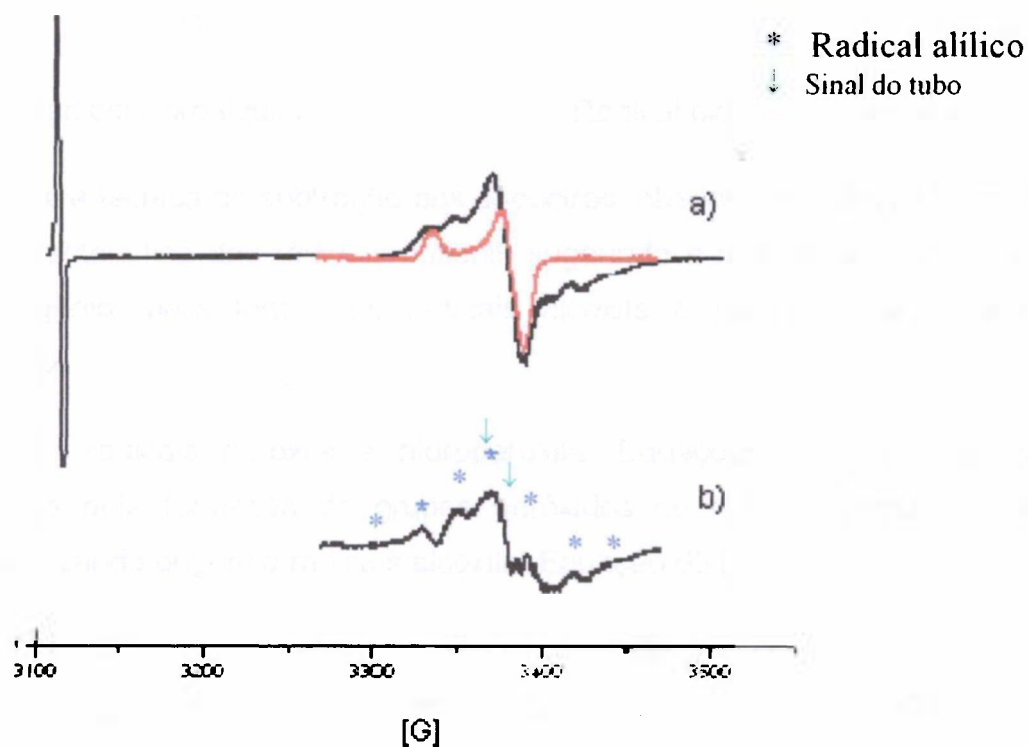
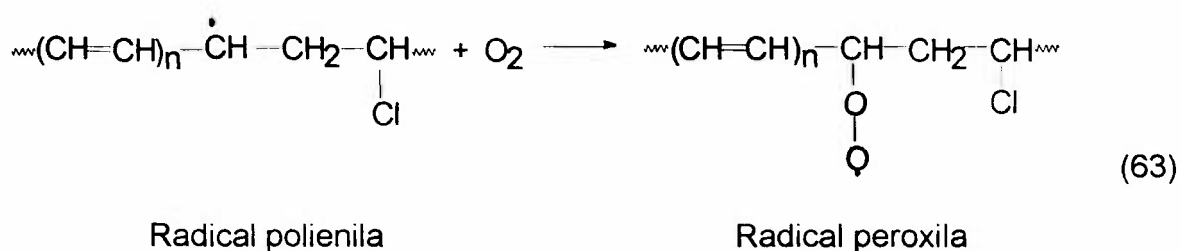
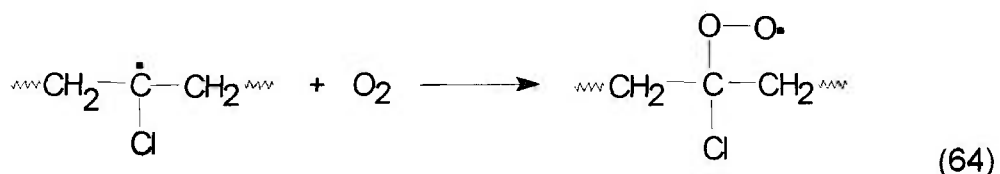


Figura 18. Efeito térmico sobre os radicais formados pela irradiação do PVC a 77K (Dose = 7,3 kGy; TD = 6,3 kGy h⁻¹): a) sobreposição dos espectros, sem exposição aquecimento (—) e à temperatura ambiente (---); b) resultado da subtração dos espectros em (a).

A oxidação dos radicais polienila e cloroalquila leva à formação de radicais peroxila, Equações 63 e 64 [13, 80, 81].



ou

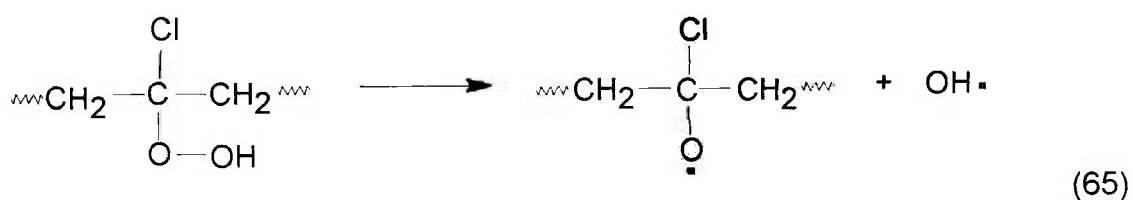


Radical cloroalquila

Radical cloroalquil-peroxila

Pela técnica de subtração dos espectros, observa-se o decaimento do septeto, característico dos radicais polienil, sugerindo a reação destes radicais com o oxigênio, para formar os radicais alcoxila e peroxila, mencionados anteriormente.

Os radicais peroxila e hidroperoxila, Equações 63 e 64 são os responsáveis pela formação de grupos peróxidos ou hidroperoxidos que se decompõem dando origem a radicais alcoxila, Equação 65 [13, 40, 46]:



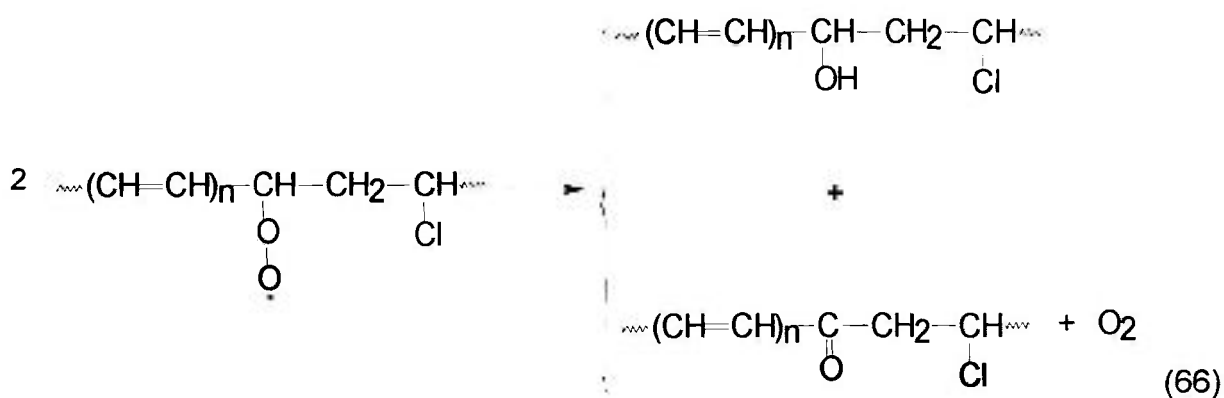
Hidroperoxido

Radical alcoxila

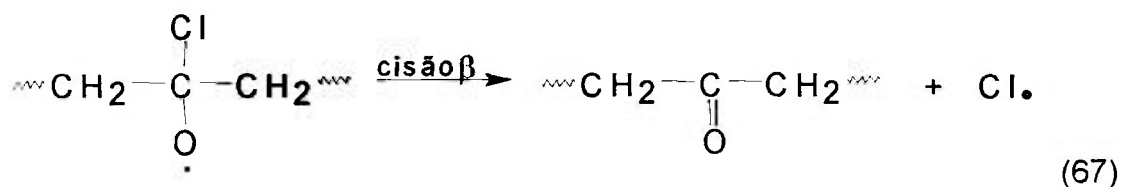
Radical hidroxila

Estudos do decaimento cinético dos radicais formados pela irradiação com raios gama do PVC [81] mostraram que os radicais polienil são bastante estáveis na ausência de ar. Estes radicais, entretanto, reagem rapidamente com o O₂ atmosférico dando origem a radicais peroxila, Equações 63 e 64.

Tanto os radicais peroxila quanto os radicais alcoxila apresentam uma cinética de decaimento radicalar muito semelhante, Equações 66 e 67:



Radical peroxila

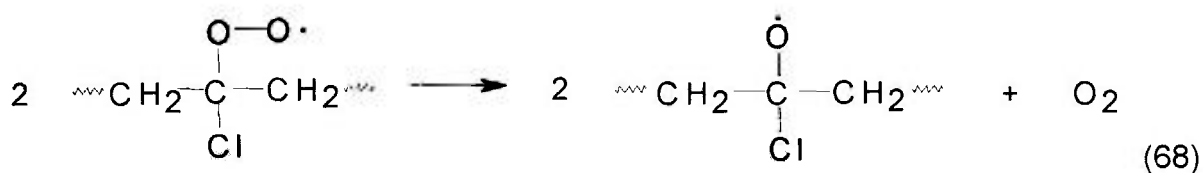


Radical alcoxila

Cetona

Radical cloro

A recombinação dos radicais cloroalquil-peroxila dando origem a radicais alcoxila, Equação 68, poderia explicar o aumento na concentração destes radicais quando a irradiação ocorre na presença de ar, enquanto que a recombinação destes radicais, Equação 69, é responsável pelas estruturas reticuladas [80,81].



Radical cloroalquil-peroxila

Radical alcoxila

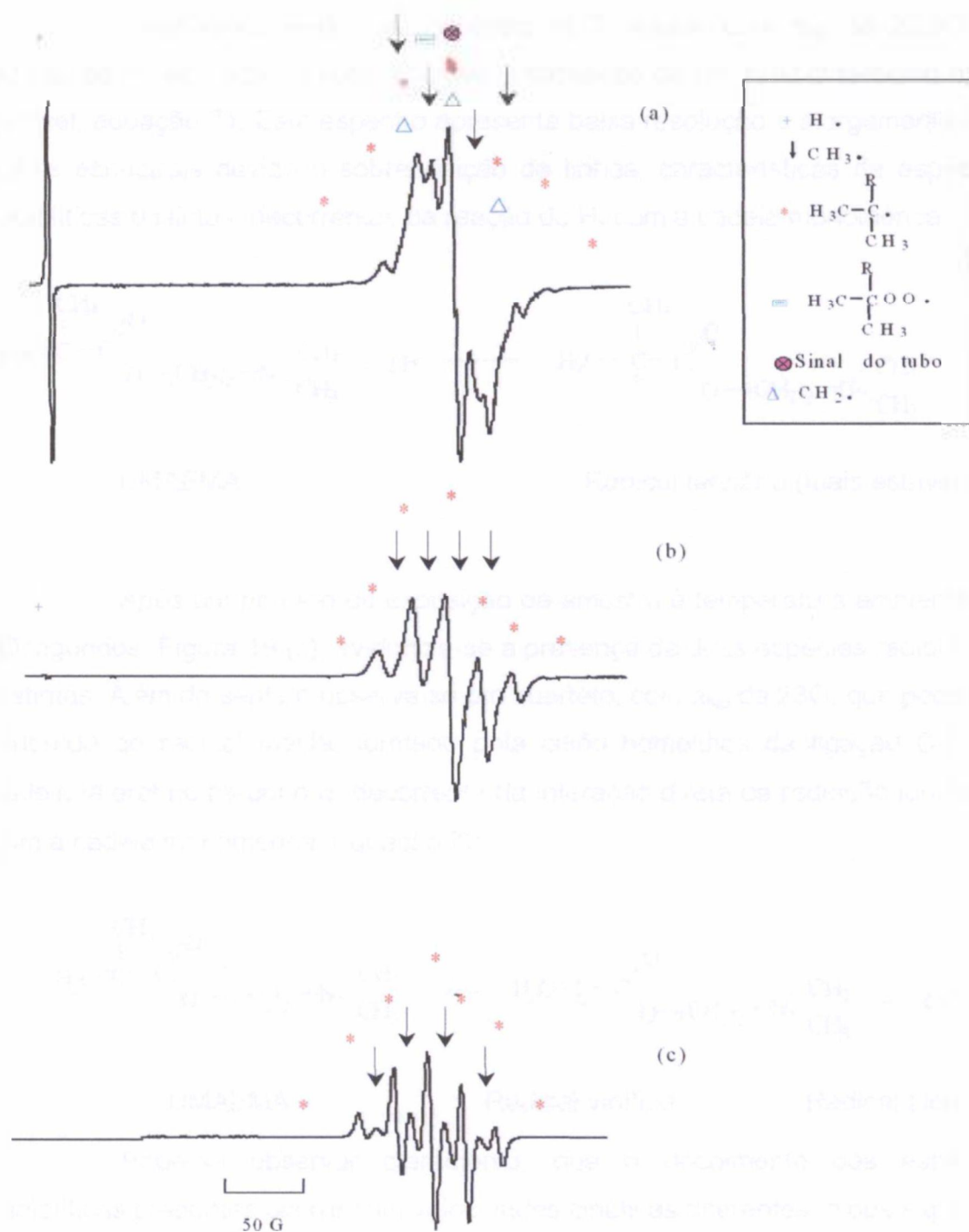
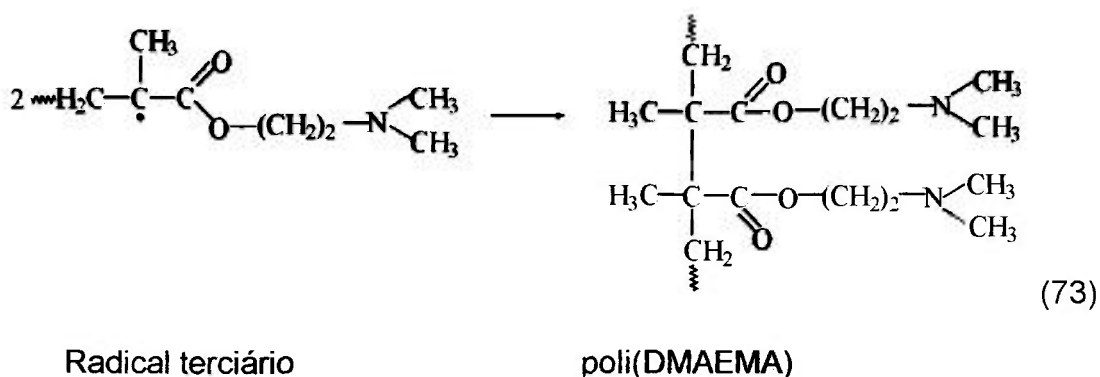
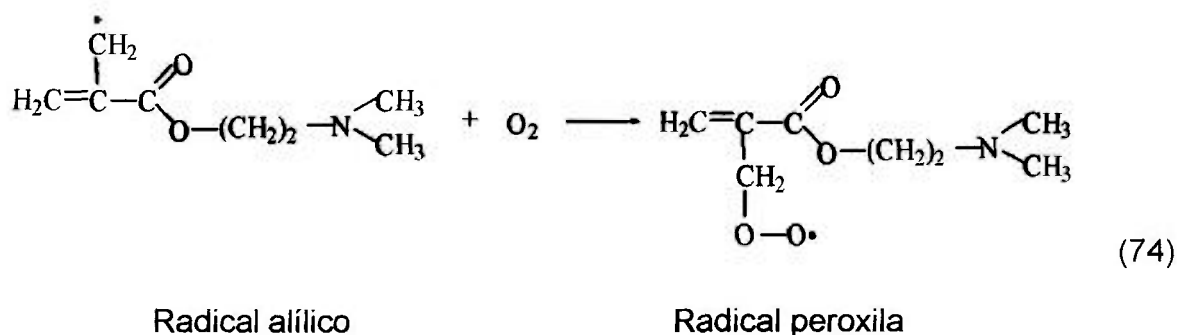


Figura 19. Espectros RPE de amostras de DMAEMA irradiadas com raios gama (dose de 7,3kGy e TD de 6,7 kGy h⁻¹) e medidas a 77K: a) após a irradiação; b) após 20 segundos de exposição da amostra à temperatura ambiente; c) após 40 segundos de exposição da amostra à temperatura ambiente.



Para poder observar o decaimento dos radicais, utilizou-se a técnica de subtração dos espectros, que foram obtidos após intervalos diferentes e crescentes de exposição da amostra à temperatura ambiente. Para isso foi necessário calcular um fator de correção para os espectros com o intuito de normalizar as escalas para estes espectros.

O espectro resultante da subtração dos espectros do DMAEMA, Figura 20(b), evidencia o decaimento de um singleto com largura de 35 G na região central que pode ser atribuído a radicais peroxila originados pela irradiação do monômero na presença de ar, equação 74.



Pela Figura 20b pode-se observar que o aquecimento da amostra de DMAEMA promove o decaimento quase total do pico correspondente aos radicais $\text{H}\cdot$ na região mais baixa do espectro. Observa-se ainda um decaimento mais pronunciado dos picos correspondentes ao septeto, o que sugere uma maior estabilidade dos radicais metila.

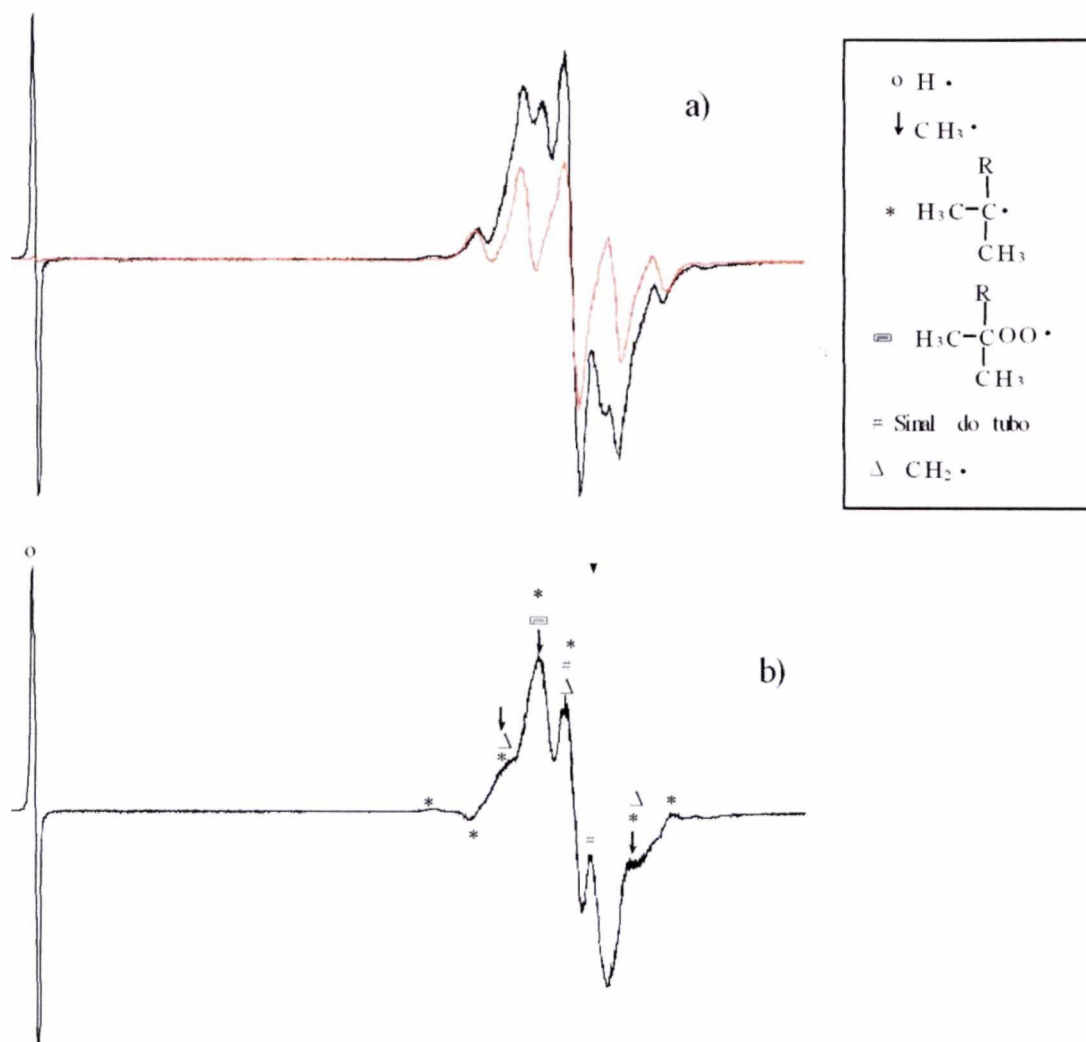


Figura 20. Espectros RPE do DMAEMA irradiado e medido a 77K: a) Sobreposição dos espectros imediatamente após a irradiação(—) e após a exposição do tubo à temperatura ambiente por 20 segundos (- - -); b) Espectro resultante da subtração dos espectros em (a).

4.2.3 Heparina

A heparina é um polímero linear constituído de unidades de repetição dissacarídicas compostas de um ácido urônico, que existe sob duas formas epiméricas diferentes (α -L-idurônico (I) e β -D-Glucurônico, ligado 1→4 a uma D-glucosamina), Figura 4 [38, 61, 82, 83].

Apesar de não se encontrar na literatura estudos específicos a respeito da formação de radicais na heparina gama irradiada, há um esforço da comunidade científica em sintetizar heparinóides de baixa massa molar, devido à comprovada atividade anticoagulante destas substâncias [84, 85, 86, 87, 88]. Bisio et al. [38] estudaram, comparativamente amostras de heparina não modificada e heparina sulfatada gama irradiada, por ressonância paramagnética eletrônica e constataram as regiões de quebra na estrutura da heparina. Os estudos por C^{13} e próton [38] mostraram que as principais regiões de quebra ocorrem em C1, C3 e C6 e as frações menores mostraram que a região de quebra ocorre no carbono anomérico do grupo glucosamina (C5) [32, 89, 90, 91].

Por outro lado, Arthur et al, APUD in Ranby e Rabeck [73] relataram para a celulose, que possui semelhanças com a estrutura química da heparina (Figura 21), a formação de radicais em C1, C4, C5 e C6, devidos à abstração de H• ou OH•.

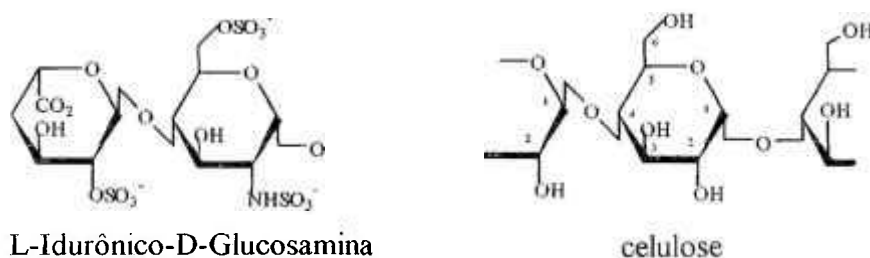
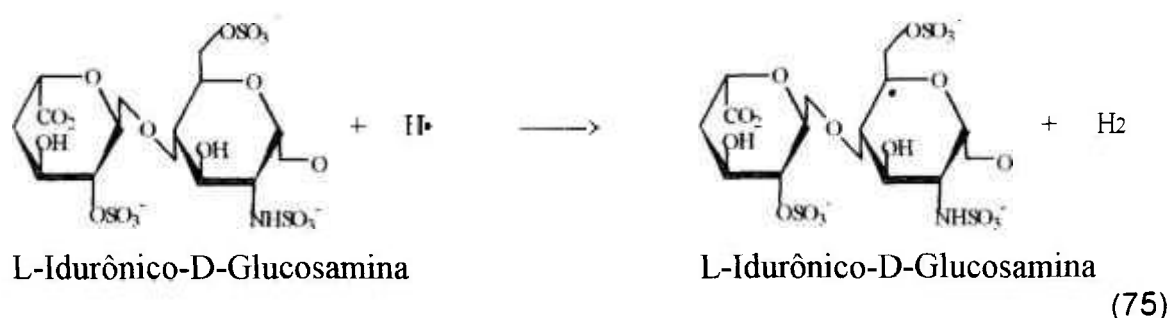


Figura 21. Unidade de repetição constitucional da heparina e da celulose.

A comparação entre os espectros RPE da heparina gama irradiada a 77K com os espectros da celulose irradiada nas mesmas condições, apresentou semelhanças em todas as linhas observadas [73]. Por este motivo, será feita a análise dos espectros da heparina com base nas informações descritas até agora.

A comparação entre o espectro RPE da heparina irradiada e medida a 77K, Figura 22a, e o espectro da heparina, após a exposição à temperatura ambiente, Figura 22b, evidencia a presença de um tripleto com a_{Hip} de 18,7 G.

Esse tripleto foi atribuído aos radicais formados pela abstração de H• em C5 da estrutura D-Glucosamina (Glu), Equação 75. Também se observa a presença de um singleto em 3374G, com largura de linha $18G \pm 2 G$.



Uma análise da estrutura química da heparina mostra que apenas as quebras, devidas à abstração de H•, C1, C3 e C5 do ácido L-idurônico (Id) e C1, C3 e C4 da D-glucosamina (Glu) poderiam dar origem a um singleto no espectro RPE, pois a abstração de OH•, C3 de ambas unidades sacarídicas, levaria ao aparecimento de um duplete.

Para verificar estas hipóteses utilizou-se a técnica de subtração de espectros, mencionada anteriormente. A subtração dos espectros, cujas intensidades foram corrigidas, Figura 23a, resultou um espectro de linhas com a_{Hip} de 18,7 G, Figura 23b, confirmando o decaimento do tripleto.

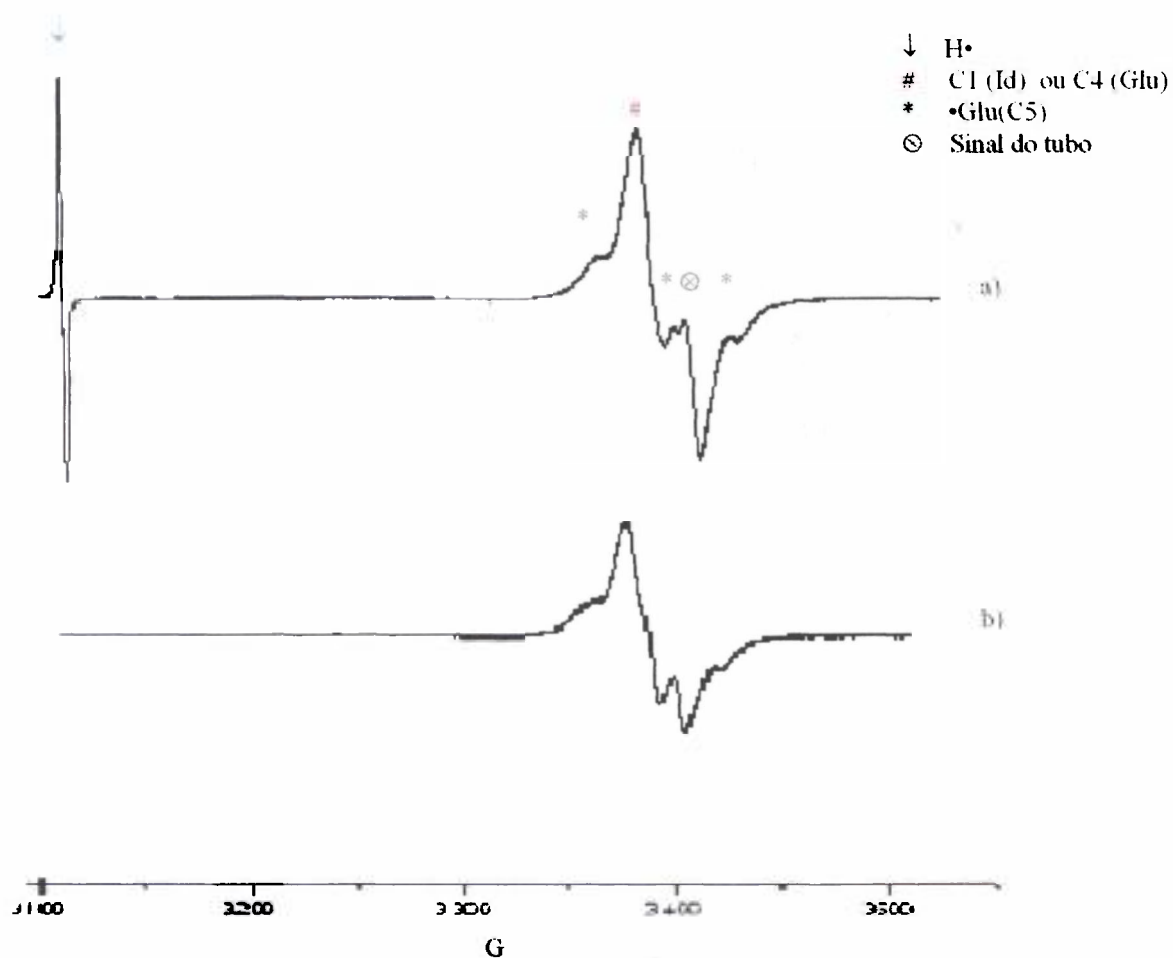


Figura 22. Comparação entre os espectros RPE da heparina: a) irradiada e medida a 77K; b) irradiada a 77K e medida após exposição à 293K por períodos cronometrados e crescentes (5+10+15+15+30+60 segundos).

O decaimento simultâneo do singlete em 3118 G, atribuído aos radicais $H\bullet$, mostra que os radicais formados em C5 (Glu) ocorrem como consequência da interação indireta da radiação.

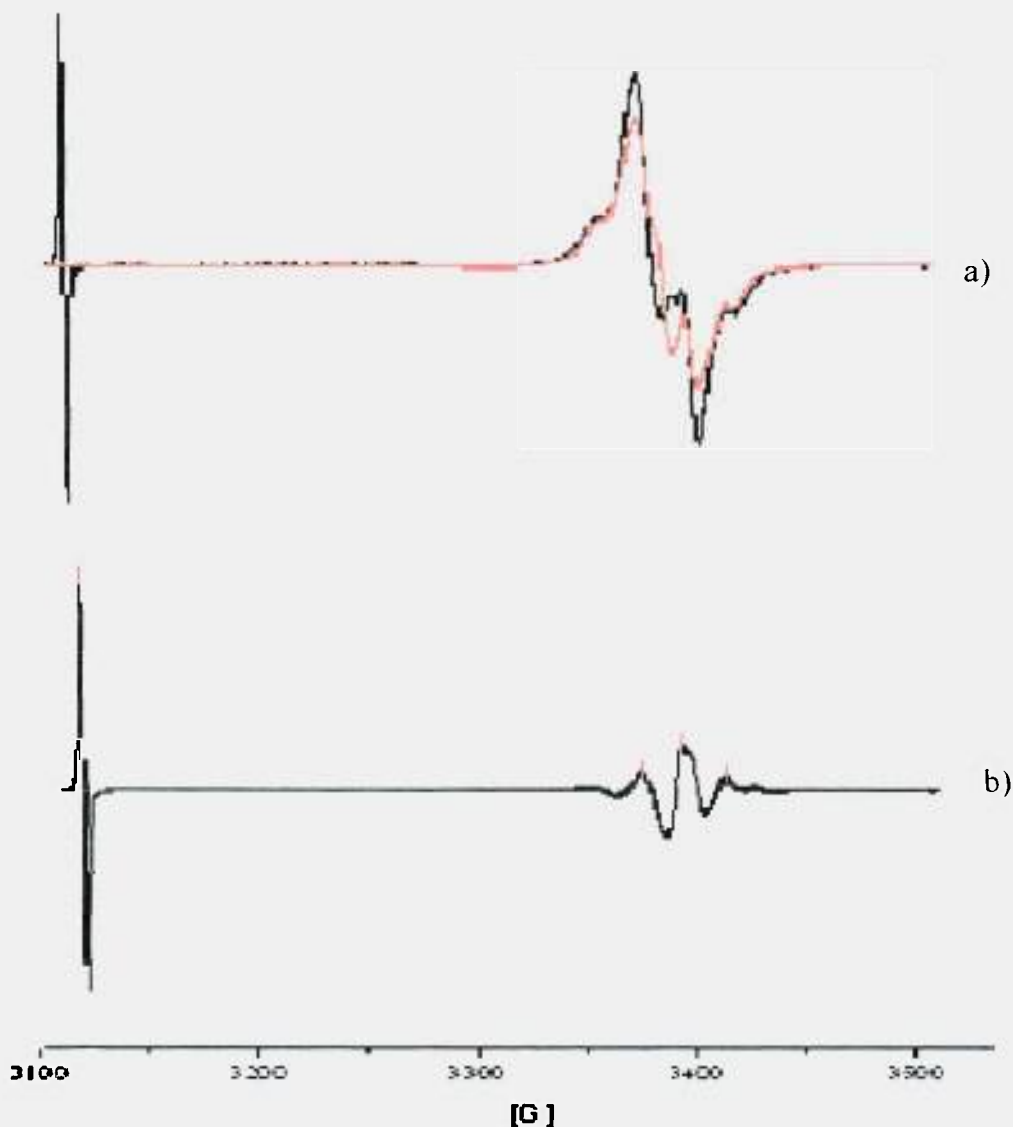


Figura 23. Efeito da temperatura sobre os radicais formados pela irradiação da heparina: a) sobreposição dos espectros da heparina irradiada e medida a 77K (—) e após exposição da amostra à temperatura ambiente por intervalos de tempo cronometrados e crescentes (---); b) espectro resultante da subtração dos espectros em a).

À temperatura ambiente, ainda foi possível a visualização de um singleto simétrico, com largura de linha de 18G, mostrando a estabilidade destes radicais mesmo à temperatura ambiente.

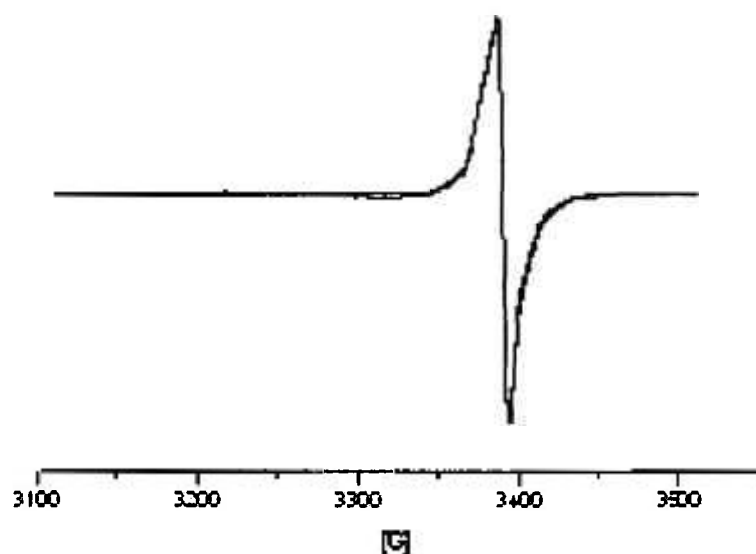


Figura 24. Espectro da heparina irradiada a 77K e medida à temperatura ambiente.

4.3 PVC-co-DMAEMA-co-heparina

Pela sobreposição dos espectros RPE, do sistema contendo PVC-DMAEMA-heparina-água-isopropanol e do DMAEMA, Figura 25, verifica-se apenas a presença de um quinteto e de um quarteto, atribuídos aos radicais alílicos, Equação 70 e aos radicais metilênicos, Equação 74, respectivamente, devidos à irradiação do monômero, indicando a estabilidade maior destes radicais.

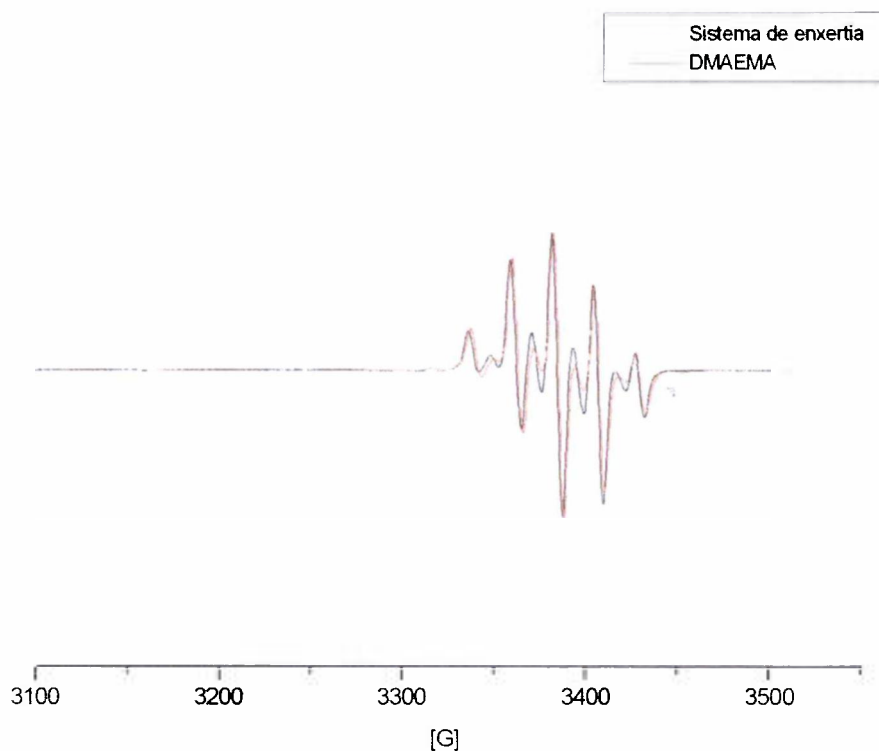


Figura 25. Sobreposição dos espectros RPE das amostras irradiadas e medidas a 77K de: DMAEMA (—), após a exposição à temperatura ambiente por 20 + 40 segundos, e do sistema de enxertia (PVC-DMAEMA-heparina-água-isopropanol) (---), logo após a irradiação. (Dose = 7,3kGy; TD = 6,3 kGy h⁻¹).

Este estudo permitiu avaliar o comportamento de cada uma das espécies radiolíticas presentes no sistema de enxertia usado, mostrando a predominância dos radicais monoméricos neste sistema, devido à sua alta estabilidade, quando comparada à dos demais radicais.

4.4 Caracterização por espectroscopia na região do infravermelho (IR)

A técnica de IR permite a avaliação de alterações nas amostras irradiadas pela comparação das bandas de absorção, características de grupos funcionais específicos, em função do aparecimento, desaparecimento, aumento ou diminuição destas bandas como consequência da irradiação das amostras [73, 93, 99].

A espectroscopia no infravermelho é uma técnica analítica que permite a identificação de compostos orgânicos, inorgânicos e poliméricos, por meio das absorções características de grupos funcionais específicos.

A tabela de picos que acompanha os espectros obtidos é constituída de colunas, sendo que para cada série, a primeira coluna representa a posição da banda ou absorção, expressa em número de onda (cm^{-1}), a segunda está associada ao grupo funcional responsável pela absorção na região do infravermelho e a terceira indica o modo vibracional.

Para análise qualitativa, a interpretação de um espectro IR é feita com base na posição [73, 99], formato da banda, comparação de espectros encontrados na literatura disponível e histórico da amostra.

Os modos vibracionais principais são denominados de deformação axial (ou estiramento) e deformação angular, entretanto é comum, encontrar a citação das bandas atribuídas, somente aos seus grupos funcionais.

Com base nestes dados é possível avaliar o efeito da dose de irradiação na estrutura química da amostra em decorrência das alterações nas bandas de absorção dos grupos funcionais pré-existentes ou do aparecimento de novas bandas de absorção.

4.4.1 Caracterização dos materiais

4.4.1.1 PVC

Pela comparação entre os espectros de transmissão com transformada de Fourier (FTIR), de filmes de PVC não irradiados e irradiados, sem a extração de plastificante, Figura 26, é possível observar ausência de bandas acima de 3.000 cm^{-1} e em 1.650 cm^{-1} , sugerindo a ausência de insaturações na cadeia polimérica. Por outro lado, as bandas observadas em 1.539 cm^{-1} , 1.579 cm^{-1} e 1.600 cm^{-1} foram atribuídas aos estiramentos axiais das ligações C=C de anel aromático presente no plastificante, diisodecilftalato, que é um éster ftálico, Tabela 15, justificando a absorção em 1731 cm^{-1} , característica das deformações de C-O de carbonila (C=O) [92, 93, 95].

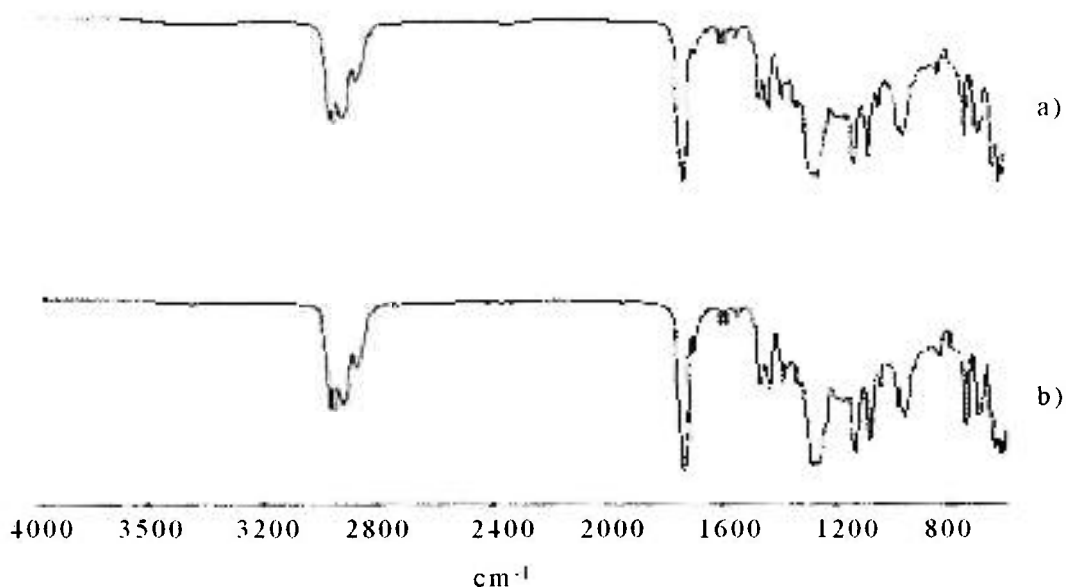


Figura 26. Comparação entre os espectros FTIR-ATR de: a) Filme de PVC não irradiado; b) Filme de PVC irradiado (Dose = 16kGy; TD = 0,8kGy h⁻¹).

O espectro IR do filme de PVC irradiado, Figura 26b, não apresentou nenhuma alteração significativa nas bandas de absorção. Entretanto, estudos realizados [13, 95] mostraram que a irradiação do PVC leva a reações de desidrocloração com liberação de cloreto de hidrogênio e aumento de insaturações conjugadas, o que deveria levar ao aparecimento de uma banda de absorção na região entre 1680 cm⁻¹ e 1620 cm⁻¹. Este fato, porém, não é observado apesar do polímero apresentar uma coloração amarelada após a irradiação, característica de aumento do número de insaturações conjugadas. Estas observações sugerem a boa proteção radiolítica do polímero até doses de 16kGy, devida aos aditivos e ao plastificante presentes em sua composição.

Para poder avaliar melhor as bandas característica do PVC, sem a interferência das bandas do plastificante e dos demais aditivos, foi realizada a extração em éter destes componentes [96].

A comparação entre os espectros obtidos da parte solúvel em éter dos copolímeros PVC-co-DMAEMA (30%) e PVC-co-DMAEMA (45%) é mostrada na Figura 27. A comparação com os espectros obtidos na Literatura de vários ésteres ftálicos [92, 94] mostrou que as bandas de absorção presentes são compatíveis com o plastificante diisodecilftalato.

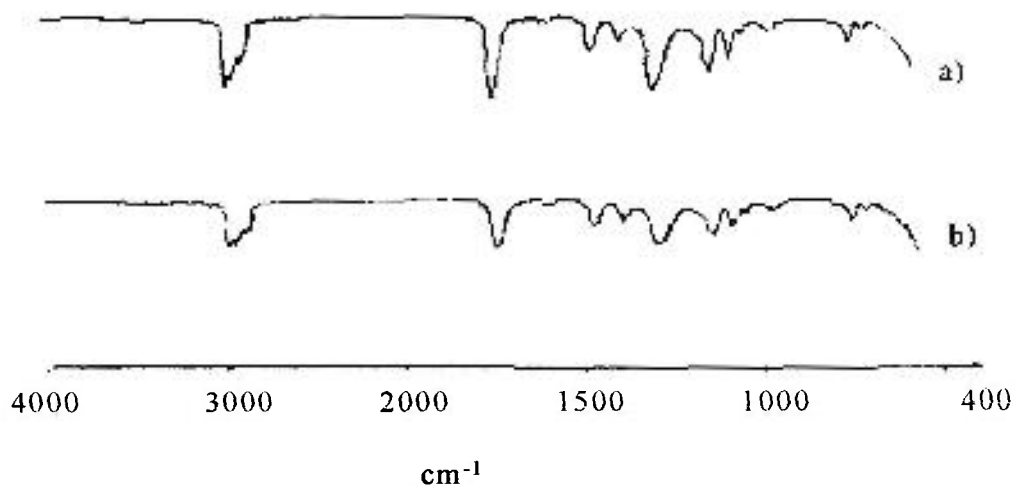


Figura 27. Espectros FTIR-ATR de: a) Parte solúvel em éter da amostra de PVC-co-DMAEMA (30%). b) Parte solúvel em éter da amostra de PVC-co-DMAEMA (45%).

A partir destes resultados foi feita a atribuição para as principais bandas de absorção, Tabela 15, para a amostra de PVC.

Tabela 15. Atribuição das principais bandas de absorção no espectro FTIR-ATR da amostra de PVC comercial.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Modo vibracional
2958	CH ₃	Estiramento assimétrico (v _a)
2927	CH ₂	Estiramento assimétrico (v _a)
2871	CH ₃	Estiramento simétrico (v _s)
1731	C=O	Estiramento (v)
1600	C-C aromático	Estiramento (v)
1580	C-C aromático	Estiramento (v)
1462	CH ₂ ; CH ₃ ; C-C aromático	Deformação ang. simétrica (δ _s), Deformação ang. assimétrica (δ _a), Estiramento (v).
1435	CH ₂ Cl	Deformação angular (δ)
1381	CH ₃	Deformação ang. simétrica (δ _s)
1287	CO éster aromático	Estiramento (v)
1127	CO éster aromático	Estiramento (v)
1075	CO éster aromático	Estiramento (v)
1040	CO éster aromático	Estiramento (v)
743	C-H – subst. aromática	Deformação angular (δ)
702	C-H – subst. aromática; C-Cl	Deformação angular (δ); Estiramento(v)

4.4.1.2 DMAEMA

A análise FTIR-ATR do DMAEMA permitiu que se fizesse a atribuição das principais bandas de absorção, Tabela 16.

Tabela 16. Atribuição das principais bandas de absorção FTIR do espectro de transmissão da amostra de DMAEMA.

Número de onda (cm^{-1})	Grupo funcional	Modo vibracional
2959	CH_3	Estiramento assimétrico (ν_a)
1721	$\text{C}=\text{O}$	Estiramento (ν)
1638	N-H	Deformação angular (δ)
1456	CH_2 ; CH_3	Deformação angular simétrica (δ_s), Deformação angular assimétrica (δ_a)
1403	C-N	Estiramento (ν)
1377	CH_3	Deformação angular simétrica (δ_s)
1318	C-N	Estiramento (ν)
1297	C-N ; \rightarrow CO	Estiramento (ν) Estiramento (ν)
1167	C-N ; CO	Estiramento (ν) Estiramento (ν)
1098	C-O	Estiramento (ν)
1062	C-O	Estiramento (ν)
1024	C-O	Estiramento (ν)

Pela comparação entre os espectros FTIR do N,N-dimetilaminoetil metacrilato (DMAEMA), Figura 28, observa-se uma diminuição na intensidade da banda em 1638 cm^{-1} . Esta variação na intensidade da banda de absorção na região característica de insaturação pode ser atribuída à adição de hidrogênio radicalar à insaturação do carbono alfa, Equação 76.

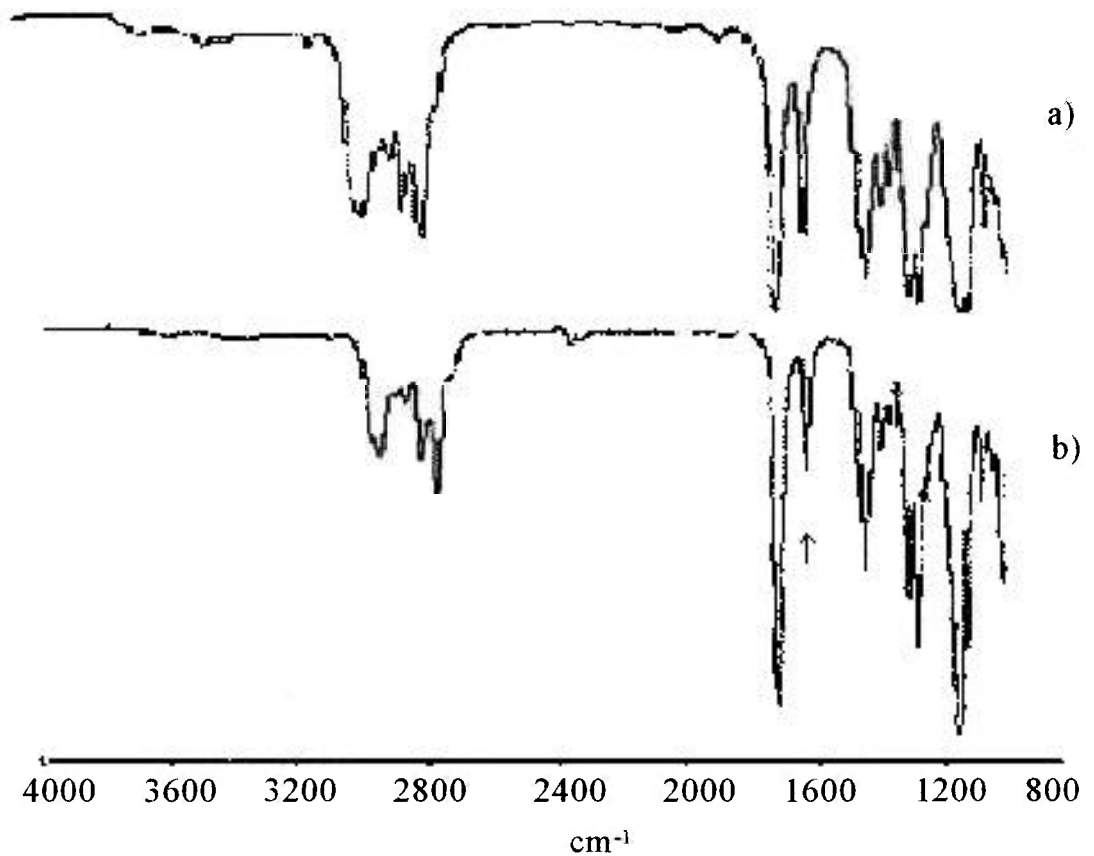
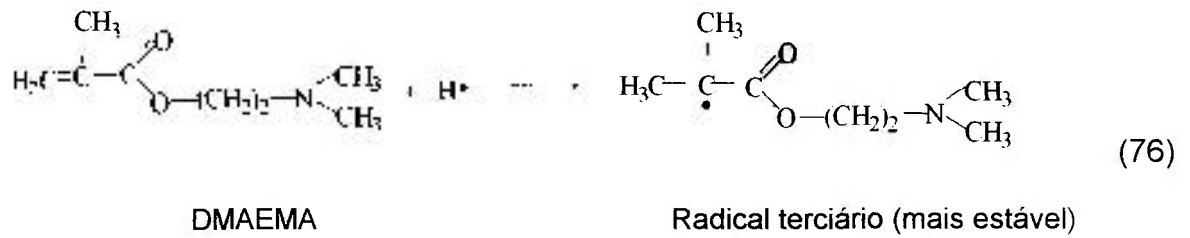


Figura 28. Comparação entre os espectros FTIR: a) DMAEMA não irradiado; b) DMAEMA irradiado (Dose = 3 kGy).

4.4.1.3 Heparina

Para avaliar os efeitos da radiação gama na heparina foi realizada a caracterização FTIR-PAS para a heparina não irradiada e irradiada, Figura 29.

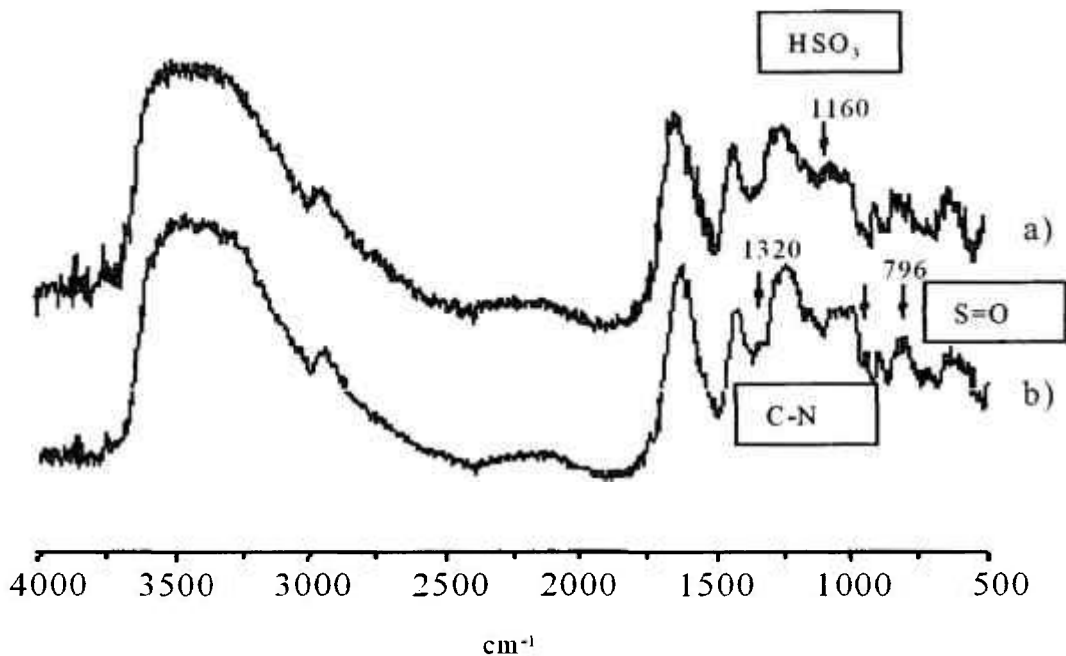


Figura 29. Compação entre os espectros FTIR-PAS de amostras de heparina (pó): a) amostras de heparina: a) não irradiada; b) irradiada (Dose = 7,3 kGy; TD = 6,3 kGy h⁻¹)

Figura 30.

A comparação entre os espectros IR das amostras de Heparina, sem irradiar e irradiada, Figuras 29a e 29b, indica alterações nas regiões entre 750 e 800 cm⁻¹, características dos estiramentos de S=O e, nas regiões entre 1100 e 1230 cm⁻¹, características dos estiramentos de C-N, C-O e HSO₃ [66, 92, 95].

As principais absorções FTIR-PAS da heparina contam da Tabela 17.

Tabela 17. Atribuição das principais bandas de absorção FTIR-PAS da amostra de Heparina.

Número de onda (cm^{-1})	Grupo funcional	Modo vibracional
3600-3200	O-H e N-H	Estiramento assimétrico (ν_a)
2960	CH ₂ ; CH ₃	Estiramento assimétrico (ν_a)
1635	N-H	Deformação angular (δ)
1420	CH ₂	Deformação angular simétrica (δ_s)
1403	C-N	Estiramento (ν)
1240	C-N; O; S=O	Estiramento (ν)
1167	HSO ₃ ⁻	Estiramento (ν)
1058	C-O	Estiramento (ν)
796	S=O	Estiramento (ν)

Estas alterações podem ser um indicativo da ocorrência de dessulfonação, o que é indesejável, já que alguns autores [86] atribuem a atividade anticoagulante da heparina aos grupos sulfatos existentes em sua estrutura química.

Por outro lado, Bisio et al. [38], verificaram que soluções aquosas de heparina de massa molar baixa, gama-irradiadas com doses de até 5,6kGy, não apresentaram redução na atividade biológica da heparina como inibidor do fator Xa, via antitrombina (AT), apesar da estrutura química da heparina sofrer preferencialmente uma dessulfonação, verificando que sua capacidade de ligar-se à AT não foi afetada consideravelmente, enquanto que Chawla et al.[36, 37], observaram uma redução de massa molar em amostras de heparina irradiadas em solução aquosa, verificando, por meio de ensaios "in vitro", uma diminuição inferior a 10% nas propriedades anticoagulantes da substância.

Bisio et al. [38] verificaram ainda, por ressonância magnética nuclear, que o processo de despolimerização por radiação gama não altera substancialmente os sítios ativos para AT, não sendo observadas alterações na sua estrutura ou em seu conteúdo relativo.

Estas observações estão em conformidade com a hipótese de que a radiação gama não promove a quebra aleatória ao longo da cadeia da heparina, mas sim que sua ação se dá em sítios pouco sulfatados, gerando seqüências menores que não contêm regiões de ligação com a AT.

Estas regiões são as responsáveis pela característica anticoagulante da heparina [38, 66].

4.4.2 Caracterização dos copolímeros de enxerto

Na tentativa de retirar o plastificante e observar melhor as absorções de PVC, monômero e heparina foi realizada a extração prévia em éter do plastificante para os filmes de PVC enxertados e heparinizados.

4.4.2.1 PVC-co-DMAEMA

A técnica FTIR-PAS permite a variação de condições de análise, por isso as amostras foram analisadas em diferentes condições.

A amostra de PVC-co-DMAEMA (30%) foi analisada em velocidade de 0,1cm/s, resolução 8 cm^{-1} e 32 varreduras enquanto que a amostra de PVC-co-DMAEMA (45%) foi analisada em velocidade de 0,05 cm/s, resolução 8 cm^{-1} e 32 varreduras.

As Tabelas 18 e 19 apresentam as bandas de absorção fotoacústica (PAS) para as amostras de PVC-co-DMAEMA (30%) e PVC-co-DMAEMA (45%), respectivamente, após tratamento com éter.

As bandas de absorções observadas são basicamente de PVC e composto à base de éster.

A banda na região de 1150 cm^{-1} foi atribuída ao monômero DMAEMA, pois segundo Urbanski et al. [92] esta é uma das absorções características de metacrilatos.

Tabela 18. Atribuição das principais bandas de absorção FTIR-PAS para a amostra de PVC-co-DMAEMA (30%), após tratamento com éter.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Modo vibracional
3300	OH e/ou NH	Estiramento assimétrico (ν_a)
2924	CH ₂	Estiramento assimétrico (ν_a)
2854	CH ₂	Estiramento simétrico (ν_s)
1730	C=O	Estiramento (ν)
1461	CH ₂ ; CH ₃	Deformação angular simétrica (δ_s), Deformação angular assimétrica (δ_a),
1386	CH ₃	Deformação angular simétrica (δ_s)
1264	CO (éster); CH ₂ Cl	Estiramento (ν)
1151	CO (éster)	Estiramento (ν)

Tabela 19. Atribuição das principais bandas de absorção FTIR-PAS para a amostra de PVC-co-DMAEMA (45%), após tratamento com éter.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Modo vibracional
3300	OH e/ou NH	Estiramento assimétrico (ν_a)
2927	CH ₂	Estiramento assimétrico (ν_a)
2855	CH ₂	Estiramento simétrico (ν_s)
1732	C=O	Estiramento (ν)
1461	CH ₂ ; CH ₃	Deformação angular simétrica (δ_s), Deformação angular assimétrica (δ_a),
1387	CH ₃	Deformação angular simétrica (δ_s)
1267	CO (éster); CH ₂ Cl	Estiramento (ν)
1150	CO (éster)	Estiramento (ν)

A observação das bandas nas regiões de 3300 cm⁻¹ e 1600 cm⁻¹, revelam a possibilidade de formação de grupos OH e/ou NH, indicando que a incorporação de DMAEMA esteja ligada a alguma reação ou interação entre os grupos do PVC e este composto, já que nem todas as bandas de absorções do DMAEMA podem ser notadas e que os espectros das amostras isoladas de PVC e DMAEMA apresentam diferenças em algumas regiões.

Pela comparação entre os espectros de PVC, DMAEMA e PVC-co-DMAEMA (30%) e PVC-co-DMAEMA (45%), Figura 30, observa-se que as bandas de DMAEMA são mais acentuadas na amostra de PVC-co-DMAEMA (45%), Figura 30c.

Como as observações das bandas de absorção nos copolímeros de enxerto Figuras 30b e 30c, ocorreram em condições de análise diferentes, isto sugere que a incorporação do DMAEMA às amostras ocorreu em diferentes graus de profundidade.

Comparada com as técnicas de transmissão, que não apresentaram resultados tão satisfatórios e por isso não foram apresentados aqui, pode-se ainda concluir pelo grau de profundidade da técnica PAS (micrômetros e centenas de micrômetros) que o DMAEMA ou seu derivado reacional, esteja na superfície mais próxima das amostras.

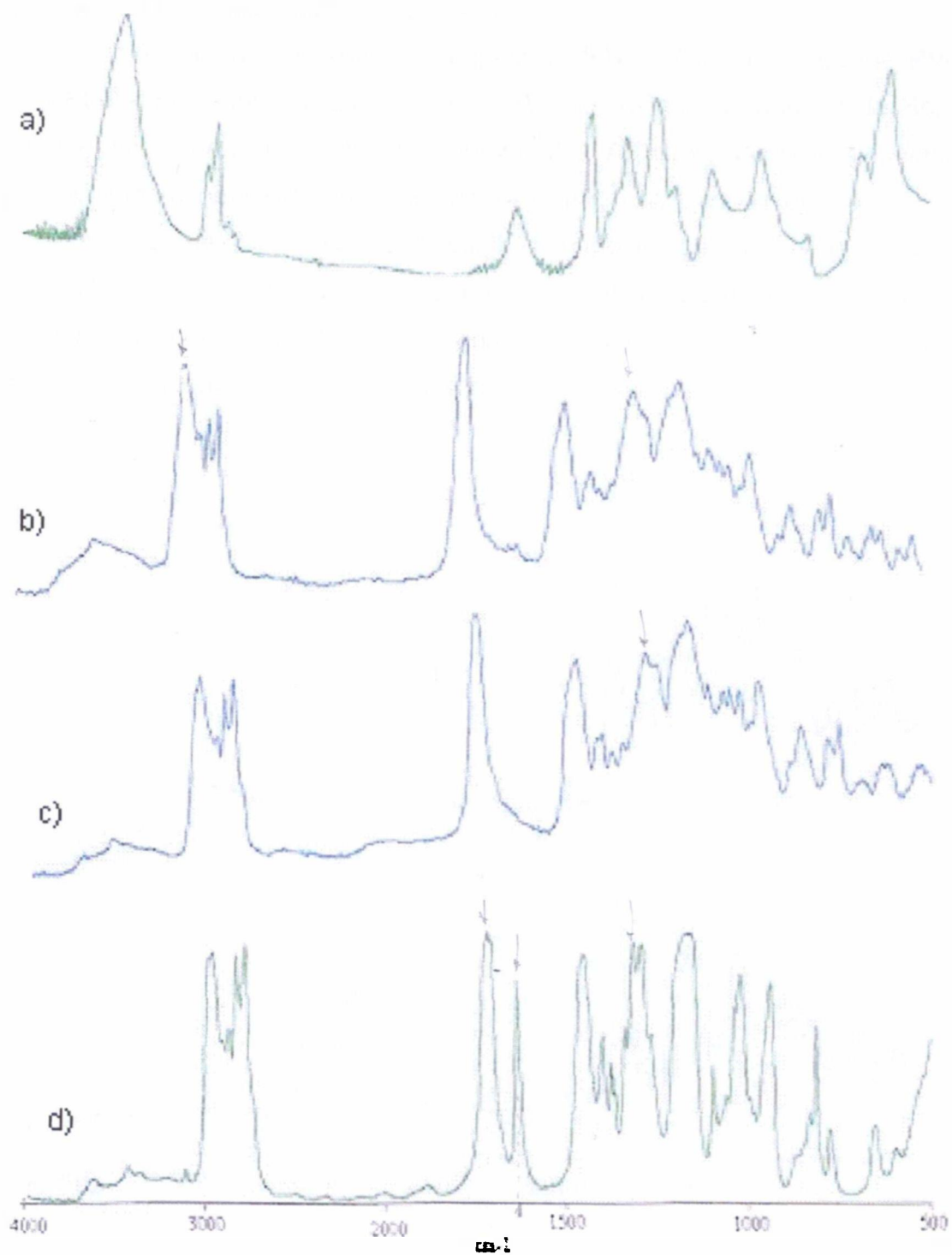


Figura 31. Espectros FTIR-PAS, após extração em éter: a) Filme de PVC; b) Filme de PVC-co-DMAEMA (30%); c) Filme de PVC-co-DMAEMA (45%); d) DMAEMA.

4.4.2.2 PVC-co-DMAEMA-co-heparina

A comparação entre os espectros FTIR-PAS dos filmes de PVC-co-DMAEMA-co-Heparina, Figuras 31a e 31b, mostra que as bandas de Heparina características de S=O em 1230 e 796 cm^{-1} [66, 73] não estão bem evidenciadas, provavelmente pela sobreposição, nesta região das bandas de C-O e C-N do monômero de e C-Cl do PVC. Entretanto, a intensificação da banda de absorção em 1640 cm^{-1} e o alargamento da banda de absorção na região de 800 cm^{-1} indicam que houve modificação do material estudado em relação às amostras isentas de heparina, Figuras 30b e 30c.

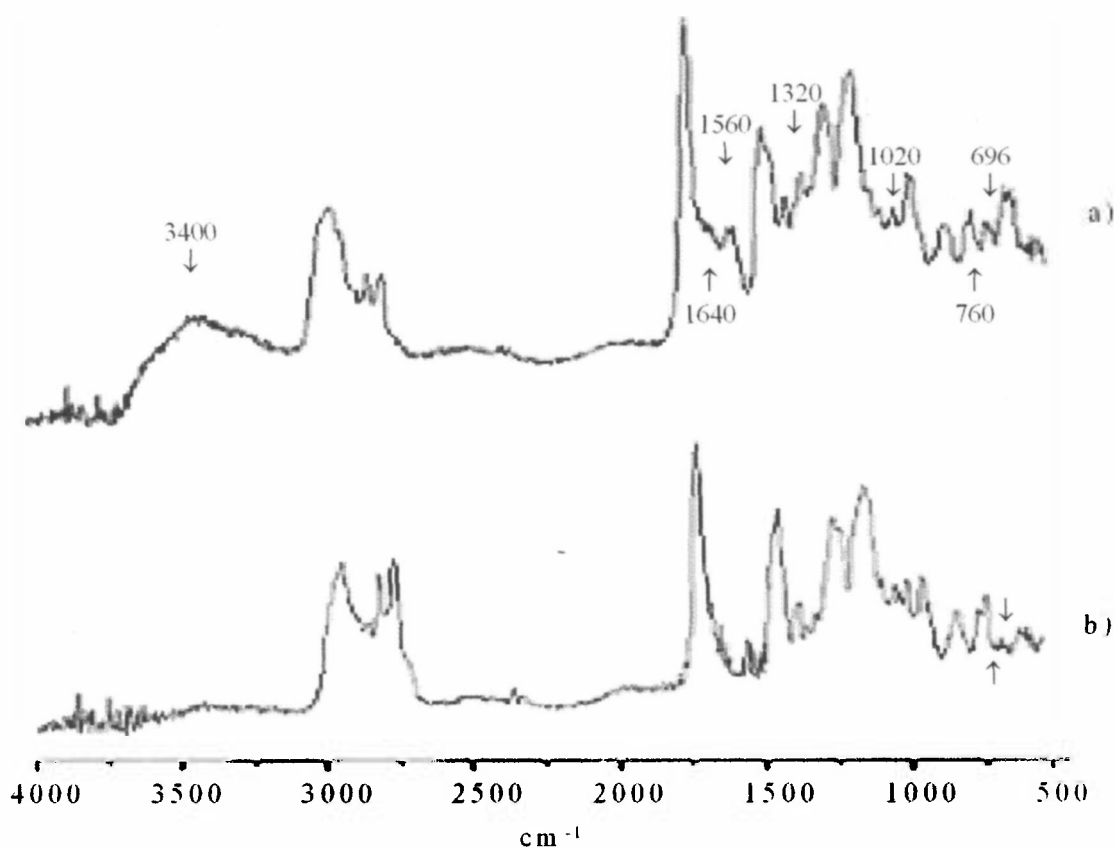


Figura 32. Espectros FTIR-PAS: a) PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%); b) PVC-co-DMAEMA-co-heparina (45%).

Pela comparação, entre os espectros de PVC-co-DMAEMA, Figuras 31a e 31b, é possível identificar maior facilidade as bandas de absorções características do plastificante na Figura 31a, indicando o menor grau de enxertia para esta amostra.

As principais bandas de absorções para os copolímeros PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%) e PVC-co-DMAEMA-co-heparina (45%) estão apresentadas nas tabelas 20 e 21, respectivamente.

Tabela 20. Atribuição das principais bandas de absorção FTIR-PAS de PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%)

Número de onda (cm^{-1})	Grupo funcional	Modo vibracional
3600-3200	O-H e/ou N-H	Estiramento assimétrico (ν_a)
2944	CH_2 ; CH_3	Estiramento assimétrico (ν_a)
1730	C=O	Estiramento (ν)
1640	N-H; C=C	Deformação angular (δ); Estiramento (ν)
1560	C-C aromático	Estiramento (ν)
1469	CH_2 ; CH_3 ; C-C aromático	Deformação angular simétrica (δ_s); Deformação angular simétrica (δ_a); Estiramento (ν)
1387	CH_3	Deformação angular simétrica (δ_s)
1255	C-N; C-O; S=O	Estiramento (ν); Estiramento (ν); Estiramento (ν)
1160	HSO_3^- ; C-O (éster)	Estiramento (ν)
1016	C-O	Estiramento (ν)
752	C-O	Estiramento (ν)
696	C-Cl, S=O	Estiramento (ν)

Tabela 21. Atribuição das principais bandas de absorção FTIR-PAS de PVC-co-DMAEMA-co-heparina. (45%)

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Modo vibracional
2944	CH ₂ , CH ₃	Estiramento assimétrico (ν _a)
1733	C=O	Estiramento (ν)
1458	CH ₂ , CH ₃ , C-C aromático	Deformação angular simétrica (δ _s); Deformação angular simétrica (δ _a); Estiramento (ν)
1388	CH ₃	Deformação angular simétrica (δ _s)
1270	C-N; C-O; S=O	Estiramento (ν); Estiramento (ν); Estiramento (ν)
1160	HSO ₃ ⁻ , C-O (éster)	Estiramento (ν)
1018	C-O	Estiramento (ν)
752	C-O	Estiramento (ν)
696	C-Cl; S=O	Estiramento (ν); Estiramento (ν)

4.5 Avaliação das alterações morfológicas por (MEV)

Para verificar as alterações na topografia superficial em cada amostra e avaliar as características antitrombogênicas destas, foram realizados os ensaios de microscopia MEV, cujos resultados serão apresentados a seguir.

A microscopia MEV é uma técnica que permite a identificação de modificações morfológicas da amostra, por meio da irradiação da amostra com elétrons. Os elétrons absorvidos fornecem um sinal que em muitos casos é exatamente o complemento dos elétrons refletidos, na razão da espessura da amostra. Isto fornece informações sobre a composição química da superfície da amostra.

4.5.1 Rugosidade superficial

As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), foram utilizadas para estudar as alterações na textura superficial das amostras após a enxertia. A comparação entre as micrografias dos filmes de PVC

enxertados e heparinizados, Figuras 32 e 33, evidencia as alterações morfológicas decorrentes da dose de radiação, concentração de DMAEMA e adição de heparina.

Uma comparação entre as amostras irradiadas na presença de heparina Figura 32 (a e b) com dose de 1,5kGy mostra que o aumento na concentração de DMAEMA não é suficiente para provocar alterações na morfologia das amostras.

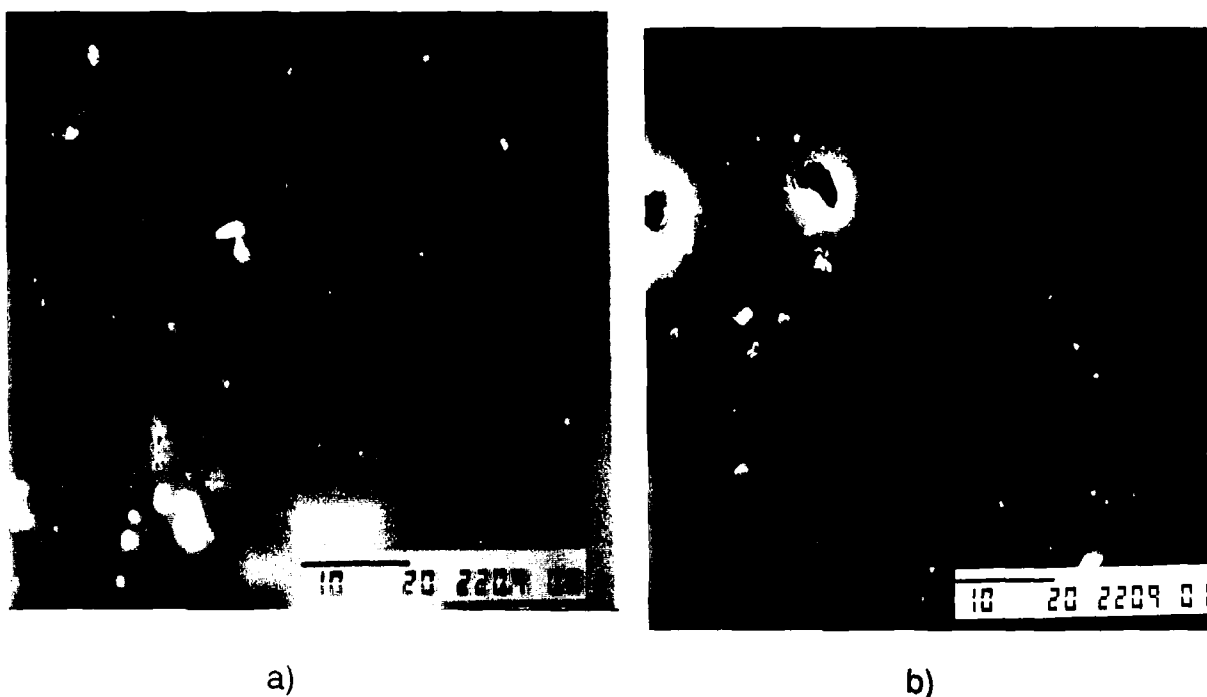
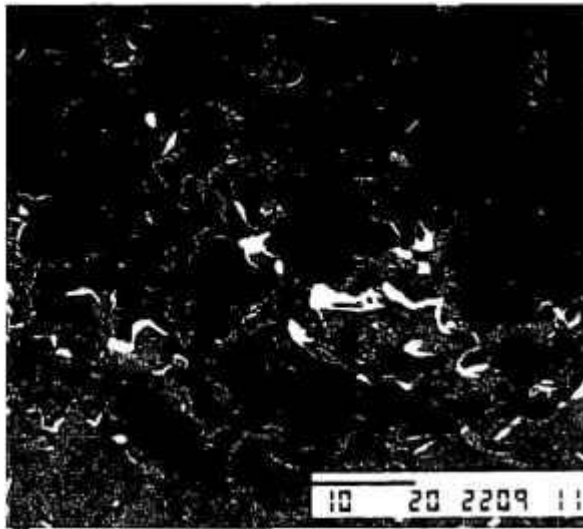


Figura 33. a) Comparação das Micrografias (MEV) em função da concentração de DMAEMA (Dose: 1,5kGy; heparina: 0,25%): a) PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%); b) PVC-co-DMAEMA-co-heparina(45%).

Do mesmo modo, a comparação entre as figuras 33b e 33d, mostra que o aumento da dose de radiação também não interferiu substancialmente na obtenção de superfícies morfológicamente alteradas, quando a concentração de monômero foi de 45%.

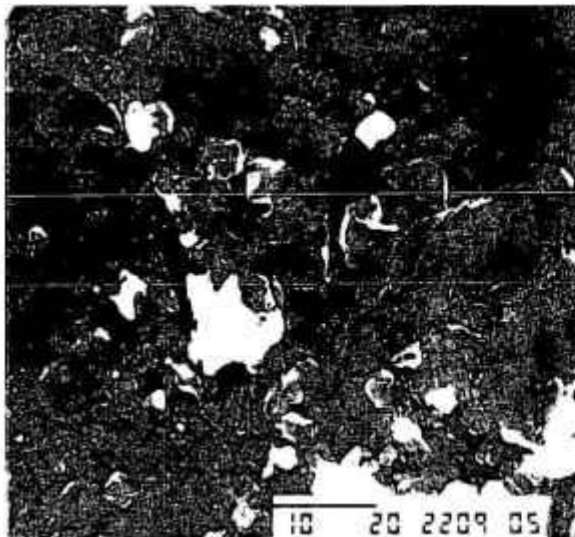


a)

(Dose: 5,0KGy; DMAEMA:30%)

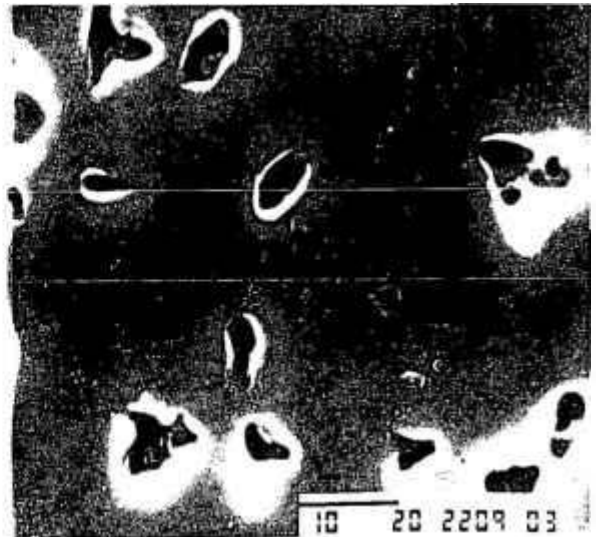


b)

(Dose: 5,0KGy; DMAEMA: 30%; heparina¹: 0,25%)

c)

(Dose: 2,5KGy; DMAEMA: 45)



d)

(Dose: 2,5KGy; DMAEMA: 45%; heparina¹: 0,25%)

Figura 34. Comparação entre as fotomicrografias (MEV) dos copolímeros de enxerto não heparinizados e heparinizados: a) PVC-co-DMAEMA; b) PVC-co-DMAEMA-co-heparina; c) PVC-co-DMAEMA; d) PVC-co-DMAEMA-co-heparina;

Por outro lado, é interessante notar que na ausência de heparina, Figuras 33(a) e 33 (c), as alterações mais intensas são observadas quando se utilizou alta concentração de monômero e dose de radiação menor, enquanto que as amostras irradiadas nos sistemas contendo heparina, apresentaram as maiores alterações superficiais quando se utilizaram menores concentrações de monômero, porém uma dose de radiação maior. Entretanto, nas duas concentrações de DMAEMA estudadas, a adição de heparina leva a obtenção de superfícies menos rugosas.

4.5.2 Adesão de plaquetas

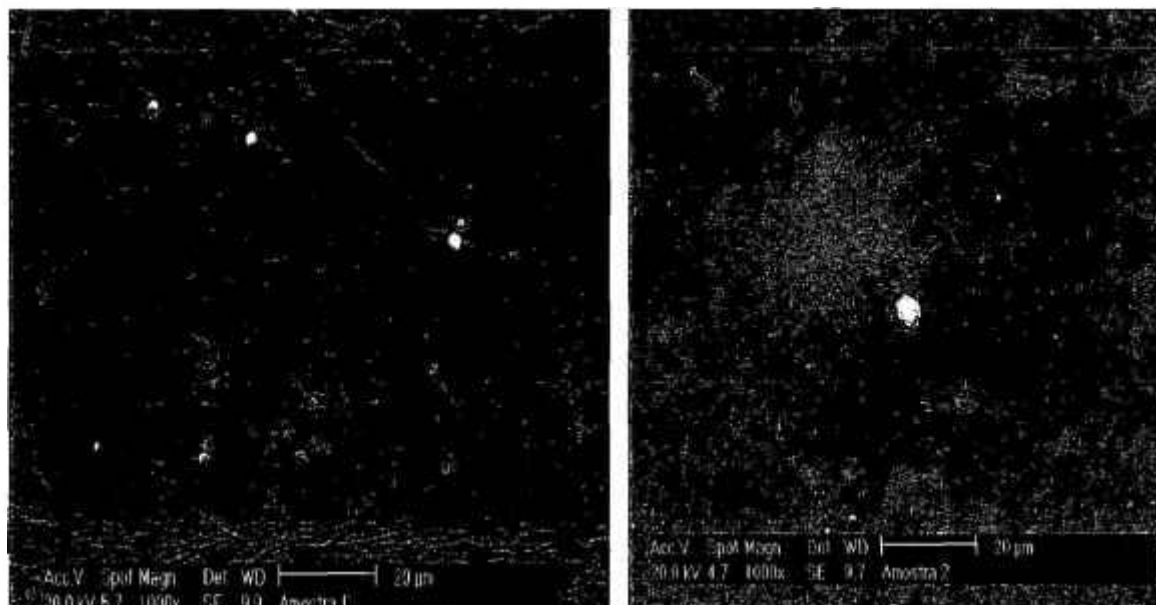
Um material é considerado antitrombogênico quando, de alguma maneira controla o mecanismo da cascata de coagulação, evitando assim, a formação de trombos [82, 89], enquanto que os materiais não trombogênicos são aqueles cuja superfície é inerte frente ao contato com os fluidos fisiológicos do sangue, não desencadeando o mecanismo de formação de trombos na interface sangue-superfície artificial [2]. Um dos testes realizados para avaliar as propriedades não trombogênicas de biomateriais é o teste de adesão plaquetária [52].

Pela comparação entre as micrografias (MEV) do PVC, Figura 31(a) e dos copolímeros de enxerto, Figuras 34(b) e 34 (c), observa-se que o aumento nos níveis de enxertia não tornou a superfície antitrombogênica, o que está de acordo com as observações feitas por Otsuhata et al. [2].

Como a rugosidade superficial aumenta com o aumento dos níveis de enxertia, pode-se relacionar este efeito com a catálise onde se desenrolam as reações enzimáticas que culminam com a geração de trombina e a formação de fibrina, principal constituinte do trombo [9, 56].

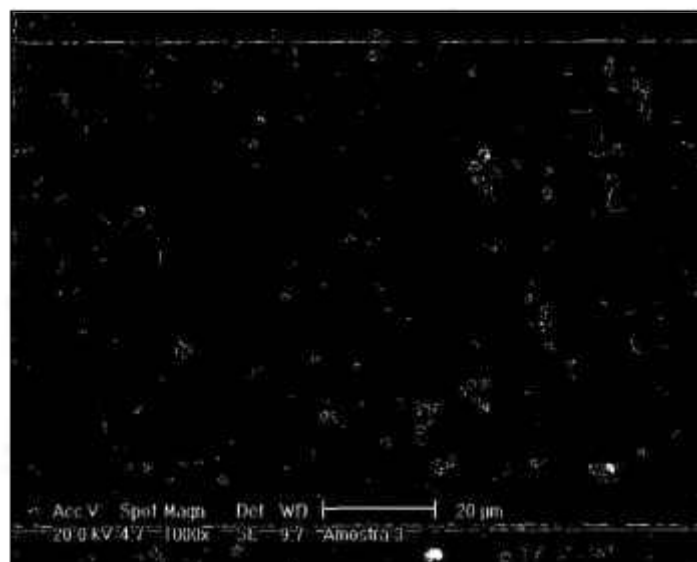
A adição de heparina ao sistema, por outro lado, leva a uma distribuição mais homogênea das cadeias enxertadas, culminando em uma superfície menos rugosa, Figuras 33b, 33d, 34c e 35a e 35b. Como consequência deste fato, observa-se a presença de plaquetas fracamente aderidas à superfície polimérica. Os ensaios foram realizados em duplicatas, obtendo-se fotos de pelo

menos quatro regiões diferentes da amostra, as quais apresentaram-se livre de trombos.



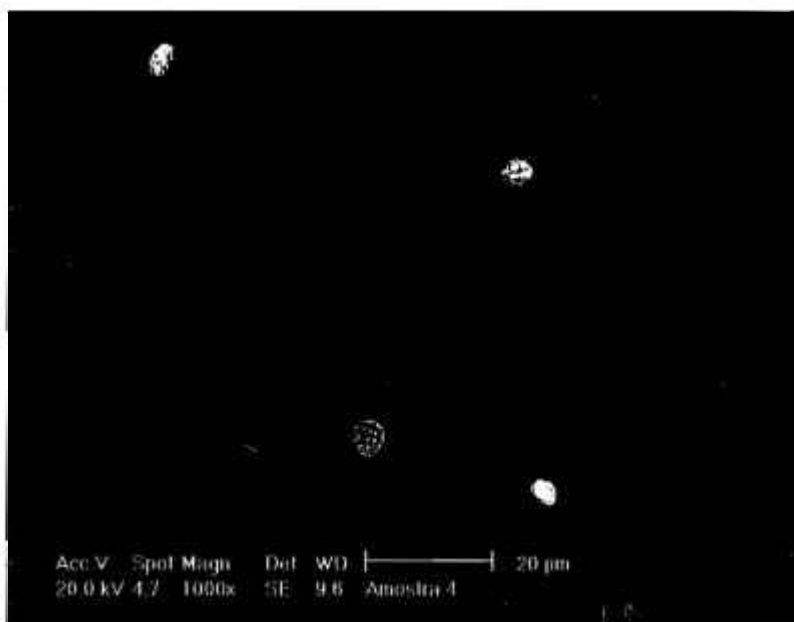
a)

b)

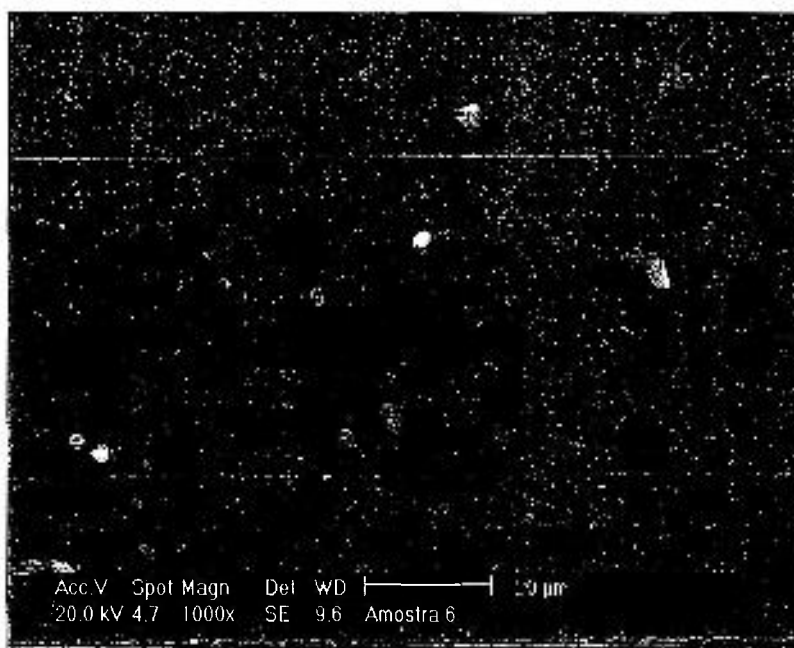


c)

Figura 35. Comparação entre as fotomicrografias (MEV), após o contato com sangue total, das superfícies poliméricas não heparinizadas: a) PVC; b) PVC-co-DMAEMA (30%); c) PVC-co-DMAEMA(45%).



(a)



(b)-

Figura 36. Comparação entre as fotomicrografias (MEV), após contato com sangue total, dos copolímeros de enxerto heparinizados: (a) PVC-co-DMAEMA-co-heparina (30%); (b) PVC-co-DMAEMA-co-heparina(45%).

Estes resultados confirmam que a irradiação de soluções aquosas de heparina [36, 37, 83, 84, 85, 86] não inibe significativamente suas propriedades anticoagulantes.

As características menos trombogênicas dos copolímeros de enxerto obtidos justificam, assim, a irradiação simultânea em meio aquoso como um método alternativo na obtenção de materiais poliméricos com propriedades antitrombogênicas.

Sua utilização como biomaterial, entretanto, necessita de estudos complementares, que podem dar origem a um novo segmento dentro da área de biotecnologia e biomateriais poliméricos, ficando como sugestões para próximos trabalhos a avaliação das propriedades mecânicas [47], citotoxicidade, hemocompatibilidade [97, 98], por meio de ensaios "in-vivo", perda de propriedades em função do período de estocagem [98], biodegradação com perda das propriedades antitrombogênicas, entre outros [98, 99].

5 CONCLUSÕES

- Os percentuais mais altos de enxertia foram obtidos nos sistemas contendo 45% de DMAEMA e $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ de isopropanol, na ausência de heparina.
- A homopolimerização do DMAEMA irradiado com raios gama parece ocorrer preferencialmente por meio da recombinação de radicais alquila, provenientes da cisão homolítica das ligações C-C entre o grupo metila e o carbono α .
- A enxertia e heparinização de filmes finos de PVC seguem uma taxa de reação característica dos radicais terciários e alílicos presentes no DMAEMA.
- Os copolímeros de enxerto obtidos por irradiação simultânea com radiação gama apresentaram alterações de cor características de insaturações conjugadas, comprovando a participação dos radicais alílicos e polienílicos do PVC.
- A adição de heparina ao sistema levou à obtenção de superfícies menos rugosas, com características menos trombogênicas.
- A enxertia com 30% de DMAEMA e 0,25% heparina apesar dos níveis mais baixos de enxertia, apresentou a menor adesão plaquetária não se observando formação de trombos.
- A enxertia e heparinização simultâneas do PVC, via radiação gama, é um método eficiente na obtenção de superfícies menos trombogênicas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] RINGROSE, B. J.; KRONFLI, E. Preparation of hidrophilic materials by radiation grafting of poly(ethylene-co-vinyl acetate). *European Polymer Journal*. n.36. p. 591-599, 2000.
- [2] OTSUHATA, K.; RAZZAK, M. T.; CASTAÑARES, R. L.; TABATA, Y.; OHASHI, F.; TAKEUCHI, A. Effect of surface texture of grafted films on antithrombogenicity. *Radiat. Phys. Phem.* v. 25, n. 1-6, p. 537-548, 1985.
- [3] ROSIAK, J. M.; ULANSKI, P.; PAJEWSKI, L. A.; YOSHII, F.; MAKUUCHI, K. Radiation formation of hydrogels for biomedical purposes. Some remarks and comments. *Radiat. Phys.Chem.* v. 46, n. 2, p.161-168, 1995.
- [4] SHTILMAN, M. I. Polymeric and low molecular sacharides. In: immobilization on polymers
- [5] CARENZA, M.; GLICO, N.; PALMA, G.; BUSULINI, L. Contributions to radiation crosslinking and degradation of PVC-based mixtures. *European Polymers Journal*. v. 20, n. 9, p. 915-922, 1984.
- [6] CHAPIRO, A. Radiation induced polymerization. *Radiat. Phys. chem.* v.14, p.101-106, 1979.
- [7] CHENGYUN, Q.; QIJIAN, W.; GUANGCUN, M.; BINSONG, C. YUNSHENG, Z. Study on commercial radiation sterilization of PVC infusion sets *Radiat. Phys. Chem.* v. 42, n. 4-6, p. 591-593, 1993.
- [8] IMRE, K.; ODIAN, G. Diffusion-controlled reaction. V .Effect of concentration-dependent diffusion coefficient on reaction rate in graft polymerisation. *J. Polym. Sci.: Polym. Chem.* Ed. 17: 2601-26, 1979.
- [9] NAGAOKA, S.; MORI, Y.; TAKIUCHI, H.; YOKATA, K.; TANZAWA, H.; NISHIUMI, S. Interaction between blood components and hydrogels with

- poly(oxyethylene) chains. In: SHALABY W; SHALABY; ALLAN S. HOFFMAN; BUDDY D. RATNER AND THOMAS A. HORBETT (Ed). ***Polymers as biomaterials.*** Plenum Press, 1984.
- [10] CHAPIRO, A. Preparation of graft copolymers with the aid of ionizing radiation. In: ***Radiation chemistry of polymeric systems.*** p. 597-643.
- [11] BILLMEYER Jr., F.W., Textbook of polymer science, 3th ed., J. Willey, New York, 1984, APUD IN. PANZARINI, L. C. G. A. Efeito da radiação ionizante no poli(cloreto de vinila) nacional. São Paulo: 1996. Dissertação (Mestrado) - IPEN-CNEN/SP.
- [12] BRYDSON, J. A., Plastics materials, p. 182-247, APUD IN. PANZARINI, L. C. G. A. Efeito da radiação ionizante no poli(cloreto de vinila) nacional. São Paulo: 1996. Dissertação (Mestrado) - IPEN-CNEN/SP.
- [13] DECKER, C. Photochemical modifications of poly(vinyl chloride) – conducting and photostabilization. In: ***Chemical reactions on polymers.*** ACS. n. 364, p. 201-218, 1988
- [14] TRIKEN / ORGANIZAÇÃO ODEBRECH. Boletim técnico: PVC - policloreto de vinila. 1998.
- [15] CHARLESBY, A. The effects of ionizing radiation on polymers. In: ***Irradiation effects on polymers.*** Ed. Elsevier. P. 39-78.
- [16] CHAMPAGNE, M. F. AND PRUD'HOMME, R. E. Miscibility behavior of Di(ethyl-2 hexyl) phthalate in binary and ternary chlorinated polymer blends. **J. polym. sci.: Part B: Polymer physics.** v.32, p. 615-624, 1994.
- [17] PETERSON-JR, G. D. Sulfur. In: ***Colorimetric determination of nonmetals.*** v. III, p.261-305. Ed. David F. Boltz – Interscience Publishers Ltd., London, 1958.

- [18] DECKER, C. Key processes in photochemistry. *In: Degradation and stabilization of PVC*, p. 82-136. Owen, E. D. (ed.). Elsevier Applied Science publishers, London and New York.
- [19] ISHIGAKI, I.; YOSHII, F., *Radiat. Phys. Chem.*, v. 39, n. 6, p. 527-533, 1992, APUD IN. PANZARINI, L. C. G. A. Efeito da radiação ionizante no poli(cloreto de vinila) nacional. São Paulo: 1996. Dissertação (Mestrado) - IPEN-CNEN/SP..
- [20] GUPTA, B. L. Chemical and biological effects of sterilization of medical products, radiosterilization of medical products, 1974; *Proceedings of a Symposium Bombay*. 9-13 december. p. 179-190, 1974,.
- [21] BIGGS, M. S.; ROBSON, D. Advances in the development of extration resistente flexible PVC compounds. In: CHIELLINI E. AND GIUSTI, P. - *Polymers in medicine - Biomedical and pharmacological applications*. v. 23, Plenum Press, New York and London, 1983.
- [22] MÜLLER-SCHULT, D. Synergistic-radiation grafting: A novel modification technique for the preparation of biomaterials. *Radiat. Pphys. Chem.*. v. 42(4-6), p. 891-896, 1993.
- [23] IKADA, Y.; HORII, F.; NISHIZAKI, Y.; KAWAHARA, T. AND UEHARA, H. Radiation-chemical yield of graft copolymers. *Macromolecules*. v. 8, p. 276-279, 1975.
- [24] BRIMACOMBE, J. S. AND WEBBER, J. M. *Mucopolysaccharides - Chemical, Structure, Distribution and Isolation*. v.6. Elsevier, 1964.
- [25] RATNER, B. D. Biomedical applications of hidrogels: Review and critical appraisal. In: *Biocompatibility of clinical implant materials*. WILLIAMS, D. F. ed. USA, CRC Press, 1981, p.146-175.

- [26] BUCCIO, E.; ALIEV, R.; BURILLO, G. Radiation grafting of dimethylaminoethylmethacrylate onto poly(propylene). *Radiat. Phys. Chem.* v. 52, n. 1-6, p. 193-196, 1998.
- [27] MERRIL, E. W.; PEKALA, R. W.; MAHMUD, N. A. Hydrogels for blood contact. In: *Hidrogels in Medicine and Pharmacy – Properties and Applications*. v. III, p. 2-13.
- [28] LORA, S.; CARENZA, M.; PALMA, G.; PEZZIN, G.; CALICETI, P.; BATTAGLIA, P. AND LORA A. Biocompatible polyphosphazenes by radiation-induced graft copolymerization and heparinization. *Biomaterials*. V. 12, p. 275-280, 1991.
- [29] DONG, C. L.; HOFFMAN, A. S. A new method for immobilization of biomolecules using preirradiation grafting at low temperature. *Radiat. Phys. Chem.* v. 28(2), p. 177-82, 1986.
- [30] GARGAN, K.; KRONFLI, E. AND LOVELL, K. V. Pre-irradiation grafting of hydrophilic monomers onto polyethylene - I. The influence of homopolymerisation inhibitors. *Radiat. Phys. Chem.* v.36, n6, p.757-761, 1990.
- [31] IMANISH, Y. Polyetherurethanes with specific properties. *Makromol. Chem. Suppl.*, v.12, p. 83-104, 1985.
- [32] RABENSTEIN, D. L. Heparin and heparan sulfate: structure and function. *Natural Products Report*. V. 19, p. 312-331, 2002.
- [33] BARBUCCI, R.; MAGNANI, A.; ALBANESI, A.; TEMPESTI, F. Heparinized polyurethane surface through ionic bonding of heparin. *The International Journal of Artificial Organs*. v. 14. n. 8. p. 499-507, 1991
- [34] MOWERY, K. A.; SCHOENFISH, M. H. SAAVEDRA, J. E.; KEEFER, L. K.; MEYERHOFF, M. E. Preparation and characterization of hydrophobic

polymeric films that are thromboresistant via nitric oxide release. **Biomaterials**, v. 21, p. 9-21, 2000.

- [35] CHANDY, T.; GLADWIN, S. D.; WILSON, F. W.; RAO-GANDU, H. R. Use of plasma glow for surface-engineering biomolecules to enhance blood compatibility of Dacron and PTFE vascular prothesis. **Biomaterials**, v. 21, p. 699-712, 2000.
- [36] CHAWLA, A. S. AND HAYWARD, C. Effect of gamma radiation on the molecular weight and the anticoagulant activity of heparin. **Pharmacology**, v. 20(4), p. 224-228, 1980.
- [37] CHAWLA, A. S. AND CHANG, T. M. S. Nonthrombogenic surface by radiation grafting of heparin: Preparation, in-vitro and in-vivo studies. **Biomat. Med. Dev., Art. Org.**, v. 2(2), p. 157-69, 1974.
- [38] BISIO, A. De-AMBROSI, L. GONELLA, S. GUERRINI, M. GUGLIERI, A. MAGGIA, G. TORRI, G. Preserving de original heparin structure of a novel low molecular weight heparin by γ -irradiation. **Arzneim.-Forsch./Drug Res**, v. 51(II), p. 806-813, 2001.
- [39] WILSON, J. E. Radiolytic grafting of monomers on polymeric films. In: **Radiation chemistry of monomers, polymers and plastics**. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York, 1974.
- [40] SALOVEY, R. Poli(vinyl chloride). In: **The radiation chemistry of macromolecules**, v. VII, p. 37-45. Ed. Malcolm Dole. Academic Press - New York and London, 1973.
- [41] SPINKS, J. W.T.; WOODS, R. J. **An Introduction to radiation chemistry**. John Wiley & Sons, 1964.
- [42] IVANOV, V. S. Radiation-chemical transformations of polymers. In: **New concepts in polymer science - Radiation chemistry of polymers**. VSP, Utrecht, The Netherlands, 1992.

- [43] O'DONNELL, J. H.; SANGSTER, D. F., ***Principles of radiation chemistry***. Edward Arnold Ltd., 1970.
- [44] STEVENS, M. P., ***Polymer chemistry - an introduction***, New York - Oxford University, 2th ed., 1990.
- [45] LOVELL, P. A. Dilute solution viscometry. In: ***Comprehensive polymer science***. v.1, p. 173-195. Ed. Geoffrey Allen - Pergamon Press, 1989.
- [46] HIDALGO, M. AND MIJANGOS, C. Influence of the physical characteristics of the polymer on the glass transition of various chemically modified PVCs. ***J. Polym. Sci. Part A: Polymer chemistry***. v. 33, 2941-2949, 1995.
- [47] KRISHNAN, V. K.; JAYAKRISHNAN, A.; FRANCIS, J. D. Radiation grafting of hydrophilic monomers onto plasticized poly(vinyl chloride) sheets. In: ***Physical And Mechanical Properties Of Migration Resistant Sheets***. Part.III. ***Journ. Mat. Sci.: Materials in Medicine***. v. 2, p. 56-61, 1991.
- [48] GOMBOTZ, W. R.; HOFFMAN, A. S. Immobilization of biomolecules and cells on and within synthetic polymeric hydrogels. In: ***Hidrogels in medicine and pharmacy***. v. III - properties and applications. Peppas, N. A. (ed.), CRC Boca Raton, Flórida, p.32, 1987.
- [49] KANG, INN-KYU; KWON, O. H.; LEE, Y. M. AND SUNG, Y. K. Preparation and surface characterization of functional group-grafted and heparin-immobilized polyurethanes by plasma glow discharge. ***Biomaterials*** v. 17(8), p. 841-847, 1996.
- [50] JULIO, C. A.; DE-QUEIROZ, A. A. A.; HIGA, O. Z.; MARQUES, E. F. AND MAIZATO, M. J. S. Blood compatibility of tubular polymeric materials studied by biological surface interactions. ***Brazilian J. Med. Biol. Res.*** v. 27, p. 2565-2568, 1994.
- [51] SEFTON, M. V. ***Heparinized hidrogels***. v. III – Properties and applications. p. 18-48, 1986.

- [52] DE-QUEIROZ, A. A. A. TESE DE DOUTORADO: Obtenção de copolímeros de enxerto via radiação ionizante, caracterização e estudo de suas propriedades hemocompatíveis. IPEN-CNEN/SP, 1993.
- [53] SIDOROVA, L. P.; ALIYEV, A. D.; ZLOBIN, V. B.; CHALYKH, A. YE. A structural-morphological study of radiation grafted copolymers of polyethylene with polyacrylic acid. *Polym. Sci. U.S.S.R.* v. 28(7), p. 1585-1591, 1986.
- [54] McCONNELL, V. AND KENCH, J. E. A mechanism for the biochemical interaction of heparin with cellular membranes damaged by X radiation. *Radiation Research*, V. 72, p. 246-264, 1977.
- [55] FERREIRA, L. M.; ROCHA, J. M. S.; ANDRADE, M. E.; GIL, M. H. Preparation and characterization of polyethylene based graft copolymers applications in the immobilization of enzymes. *Radiat. Phys. Chem.* v. 52, n. 1-6, p. 207-212, 1998.
- [56] CHAREF, S.; TAPON-BRETAUDIÈRE, J.; FISCHER, A. M.; PFLÜGER, F.; JOSEFOWICZ, M. AND LABARRE, D. Heparin-like functionalized polymer surfaces: discrimination between catalytic and adsorption processes during the course of thrombin inhibition. *Biomaterials*. v. 17(9), p. 903-912, 1996.
- [57] DOHERTY, P. J.; WILLIAMS, R. L.; WILLIAMS, D. F. AND LEE, A. C. J. Biomaterial-Tissue interfaces In: *Advances in Biomaterials* v. 10, p. ELSEVIER, 1992.
- [58] GARNETT, J. L.; JSNKIRWICZ, S. V.; LEVOT, R.; SANGSTER, D. F. Insolubilization of biologically active materials with novel radiation graft copolymers. *Radiat. Phys. Chem.*, v. 25(4-6), p. 509-516, 1985.
- [59] MORGAN, R. E.; MOORE, J. S. AND PHILLIPS, G. O. Effects of γ -irradiation on the staining of glycosaminoglycans with alcian blue. In : *J Histochem Cytochem*. v. 20(10), p. 831-832, , 1972.

- [60] SUGITASHI, A., TANAKA, M., KAWAHARA, T., TAKAGI, K. Antithrombogenicity of UK-immobilized polymer surfaces. ***Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs.***, v. 26, p. 274-78, 1980.
- [61] YU, JIAN-LI; JOHANSSON, S.; LJUNGH A. Fibronectin exposes different domains after adsorption to a heparinized poly(vinyl chloride) surface. ***Biomaterials.*** v. 18, p. 421-427, 1997.
- [62] WITCHERLE, O.; LIM, D. Hydrophilic gels for biological use. ***Nature.*** v. 9, p. 117, 1960.
- [63] YIGIT, F.; TEKIN, N.; ERKAN, S. AND GÜVEN, O. Determination of gelation doses of gamma-irradiated hydrophilic polymers by different methods. ***Radiat. Phys. Chem.*** v.43(4), p. 323-327, 1994.
- [64] CHAUDHURY, M. K. Interfacial interaction between low energy surfaces. ***Materials science and engineering.*** R16, p. 97-159, 1996.
- [65] CHOLAKIS, C. H.; SEFTON, M. V. Characterization of on immobilized heparin: heparin-PVA. In: ***Polymers as biomaterials.*** p. 305-360, 1984.
- [66] GRANT, D.; LONG, W. F.; MOFFAT, C. F. AND WILLIAMSON, F. B. Infrared spectroscopy of chemically modified heparins. ***The Biochemical Journal.*** V. 261, p. 1035-1038, 1989.
- [67] BATISTON, M. Modificação superficial de polietileno de baixa densidade através de enxertia química e fotoquímica para fins biomédicos. São Paulo: 1995. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia Química-UNICAMP/SP.
- [68] MERCHANT, Z. M.; KIM, Y. S.; RICE, K. G. AND LINHARDT, R. J. Structure of heparin-derived tetrasaccharides. ***The Biochemical Journal.*** v. 229, p. 369-377, 1985.

- [69] BENGELIN, G. T. The interaction of polymer surfaces with blood. **J. Polym. Symposium.** v.66, p. 419-428, 1979. Apud in: ALMEIDA, A. T. Obtenção de superfícies hemocompatíveis por meio da modificação de materiais poliméricos pela radiação ionizante. Dissertação (Mestrado). IPEN, 2000.
- [70] EL-SAYED, A.; HEGAZZY, A. M.; DESSOUKI, M. M.; EL-DESSOUKI AND NAEEM M. EL-SAWY. Crosslinked grafted PVC obtained by direct radiation grafting. **Radiat. Phys. Chem.** v. 26 (2), p. 143-149, 1985.
- [71] MILLER, D. R. AND MACOSKO, C. W. Network parameters for crosslinking of chains with length and site distribution. **J. Polym. Sci.: Part B: Polymer physics and physical chemistry.** v.26(1), p.1-54, 1988.
- [72] CHOLAKIS, C. H.; SEFTON, M. V. Characterization of on immobilized heparin: heparin-PVA. In: **Polymers as biomaterials.** p. 305-360, 1984.
- [73] RÄMBY, B; RABECK, J. F., **ESR spectroscopy in polymer research.** Springer-Verlag - Berlin Heidelberg, New York, 1977.
- [74] VEKSLI, A.; ANDREIS, M.; RAKVIN, B. ESR-spectroscopy of polymer heterogeneity. **Progress in Polymer Science.** V. 25, P. 949-996, 2000.
- [75] HILL, D. J. T.; O'DONNELL, J. H. AND POMERY, P. J. AND SANGSTER, D. F. **Polymer Handbook.** Eds. BRANDRUP, J. AND IMMERGUT, E. H. Third edition. John wiley & Sons, 1989.
- [76] FLORY, P. J. JUNIOR-RHENER, J. Statistical Mechanics of cross-linked polymer networks. **J. Chem. Physics.** v. 11(11), p. 521-526 (1943).
- [77] TRELOAR, L.R.G. The elasticity and related properties of rubber. **Rubber chemistry and technology.** v. 47(3), p. 625-696, 1974.
- [78] OKANO, T.; KATAOKA, K. Effect of hydrophilic and hydrophobic microdomains on mode of interaction between block polymer and blood platelets. **J. Biomed. Mat. Res.** v. 15, p. 393-402, 1981.

- [79] ZAHARAN, A. H.; HEGAZY, E. A. AND EZZ-ELDIN, F. M. Radiation effects on poli(vinyl chloride) - I. Gas evolution and physical properties of rigid PVC films. *Radiation Phys. Chem.* v. 26(1), p. 25-32, 1985.
- [80] MILLER, A. A. Radiation chemistry of poly(vinyl chloride). *J.Phys. Chem*, v. 63, p. 1755-1759, 1959.
- [81] PANZARINI, L. C. G. A. Efeito da radiação ionizante no poli(cloreto de vinila) nacional. São Paulo: 1996. Dissertação (Mestrado) - IPEN-CNEN/SP.
- [82] SEDERAL, L. C.; VAN DER DOES, L.; EUVERMAN, B. J. AND BANTJES, A.; KLUFT, C. AND KEMPEN, H. J. H. Hydrogels by irradiation of a synthetic heparinoid polyeleetrolyte. *Biomaterials*. v. 4, p. 3-8, 1983.
- [83] JOOYANDEH, J. S.; MOORE, R. E.; MORGAN, R. E AND PHILLIPS, G. O. Chemical effects of γ -irradiation of aqueous solutions of heparin and keratan sulphate. *Radiation Research*. v. 45, p. 455-461, 1971.
- [84] MAGNANI, A. ALBANESE, A. TEMPESTI, F. Heparinized polyurethane surface through ionic bonding of heparin. *The Intern. J. Artif. Organs*. v.14(8), p. 499-507, 1991.
- [85] MALORNI, W.; MATARRESE, P.; RIBANESE, R.; PARADISI, S. AND DONELLI, G. Antioxidant N-acetyl-cysteine increasing cell adhesion capability could facilitate the biocompatibility processes. *Biomaterials*. v. 17(9), p.921-928, 1996.
- [86] MOORE, J. S.; PHILLIPS, G. O. AND RHYS, D. Radiation protection of heparin in the solid state. *Radiat. Res.*, v. 50, p. 479-490, 1972.
- [87] NEVILLE, G. A.; MORI, F.; RACEY, T. J.; ROCHON, P.; HOLME, K. R. AND PERLIN, A. S. Chemical composition, particle size range, and biological activity of some low molecular weght heparin derivatives. *J. Pharm. Sci.* v. 79 (4), p. 339-343, 1990.

- [88] STIVALA, S. S.; HERBST, M.; KRATKY, O.; PILZ, I. Physico-chemical studies of fractionated bovine heparin V. Some low-angle X-ray scattering data. *Arch. Biochem. and Biophys.* v. 127, p. 795-802, 1968.
- [89] MATHUR, A. M. AND SCRANTON, A. B. Characterization of hydrogels using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biomaterials*. V. 17(6), p. 547-557, 1996.
- [90] DELLANEY, S. R.; LEGER, M. AND CONRAD, E. Quantitation of the sulfated disaccharides of heparin by high performance liquid chromatography. *Analytical biochemistry*. v. 106, p. 253-261, 1980.
- [91] GALLAGHER, J. T. AND WALKER, A. Molecular distinctions between heparan sulphate and heparin. *The Biochemical Journal*. v. 230 (3), p. 665-674, 1985.
- [92] URBANSKI, J. et al. – “*Handbook of analysis of synthetic polymers and plastics*” 1977, John Wiley & Sons, New York.
- [93] MADDAMS, W. F. Spectroscopic and chemical investigations of PVC structure. In: *Degradation and stabilization of PVC* p.137-189. Owen, E. D. (ed.), Elsevier Applied Science publishers, london and New York.
- [94] HAGA, T. Journal of applied polymer science. v. 27, p. 2653, 1982.
- [95] SILVERSTEIN, R.M., CLAYTON BASSER, G., T. C. MORRIL; *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. Guanabara-Koogan, 5^a ed. p. 86-152, , 1994.
- [96] NORMA ASTM D 3421-75. Standard recommended practice for extraction and analysis of plasticizer mixtures from vinyl chloride plastics.
- [97] MIYAMA, H.; HARUMIYA, N.; MORI, Y.; TANZAWA, H. *A new antithrombogenic heparinized polymer*. v. 11, p. 251-265, 1997.

- [98] GEHRING, J. The influence of ionizing radiation (beta/gamma) on various polymers based on the result of the cytotoxicity test. *Radiat. Phys. Chem.* v.46(4-6), p. 617-622, 1995.
- [99] STIVALA, S. S.; HERBST, M.; KRATKY, O. AND PILZ, I. Physico-chemical studies of fractionated bovine heparin V. Some low-angle X-ray scattering data. *Archives of biochemistry and biophysics*. v. 127, p. 795-802, 1968.