

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA METALÚRGICA E DE MINAS

Tese de doutorado

**“Análises do envelhecimento acelerado
e da ação estabilizadora do ácido ascórbico
na degradação oxidativa do polietileno
de ultra-alto peso molecular
para aplicação biomédica”**

Autora: Magda Francisca Gonçalves Rocha

Orientador: Prof. Herman Mansur, Dr.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA METALÚRGICA E DE MINAS
Curso de Pós-graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas

Magda Francisca Gonçalves Rocha

Análises do envelhecimento acelerado e da ação estabilizadora do ácido ascórbico na degradação oxidativa do polietileno de ultra-elevada massa molar para aplicação biomédica

**Tese de doutorado apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas
da Universidade Federal de Minas Gerais.**

Área de concentração: Ciência e Engenharia de Materiais

Orientador: Prof. Herman Sander Mansur, Dr.

Belo Horizonte
Escola de Engenharia da UFMG
Maio de 2009

AGRADECIMENTOS

A Deus que, conduzindo-me com mãos firmes, deu-me a necessária segurança para trilhar novos caminhos.

Ao professor e orientador Herman Sander Mansur, o seu estímulo, apoio e orientação tornou possível a formulação deste trabalho.

À instituição que nos recebeu confiando na seriedade e compromisso do trabalho.

Aos professores, colegas e equipe de apoio da Escola de Engenharia Metalúrgica de Minas Gerais que muito contribuíram para a realização deste estudo.

Aos meus pais – Elena e Celito (in memoriam) por se manterem fiéis às suas crenças inabaláveis sobre os limites infinitos dos seus filhos.

Aos meus irmãos Marco e Márcia, obrigada pelo estímulo e apoio.

Aos meus sobrinhos queridos Vítor, Isadora e Camila que me lembram sempre o que é ser criança.

Às empresas Meta Bio I Industrial Ltda (Brasil) e Ticona Engeneering Polymer (USA), pela doação das amostras.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE TABELAS	vii
ÍNDICE DE EQUAÇÕES	viii
ABREVIATURAS	x
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVO GERAL	17
2.1 Objetivos Específicos	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 Polietileno Convencional e Polietileno Reticulado	18
3.2 Biocompatibilidade e Biofuncionalidade	21
3.3 Propriedades Mecânicas	22
3.4 Desgaste do PEUAPM	24
3.4.1 Mecanismos de Desgastes	26
3.4.2 Origem do Desgaste	28
3.5 Oxidação do PEUAPM	29
3.5.1 Oxidação e Cristalinidade	31
3.5.2 Fenômeno de surgimento da banda branca	32
3.6 Relação Tipos de Implantes e Desgaste	33
3.7 Caracterização	35
3.7.1 Caracterização Cristalográfica por Difração de Raios-X	35
3.7.2 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier	36
3.8 Espécies Ativas do Oxigênio	44
3.8.1 Radical Superóxido ($O_2^{\cdot-}$)	45
3.8.2 Radical Hidroperoxila (HO_2^{\cdot})	46
3.8.3 Radical Hidroxila (OH^{\cdot})	46
3.8.4 Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2)	46
3.9 Substância Estabilizadora da Oxidação do PEUAPM	48
3.9.1 Ácido Ascórbico	48
3.9.2 Estabilidade Oxidativa	50
3.9.3 Resposta Celular ao Implante	52
3.10 Produção de Óxido Nítrico por Macrófagos	55
4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	58
4.1 Materiais e Métodos	58
4.2 Confecção dos Corpos de Prova	60
4.3 Caracterização do PEUAPM controle	60
4.4 Caracterização de Prótese Recuperada	63

4.5	Envelhecimento Acelerado do PEUAPM.....	65
4.5.1	Envelhecimento Acelerado do PEUAPM com superfície modificada.....	67
4.6	Inibição da Oxidação.....	68
4.7	Resposta Inflamatória de Macrófagos.....	69
4.7.1	Citotoxicidade e Viabilidade Celular por Produção de Óxido Nítrico.....	70
4.8	Caracterização.....	71
4.8.1	Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho (FTIR).....	71
4.8.2	Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Energia Dispersiva.....	73
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	74
5.1	Caracterização do PEUAPM Controle.....	74
5.2	Envelhecimento Acelerado do PEUAPM.....	82
5.2.1	Envelhecimento Acelerado com Peróxido de Hidrogênio (H ₂ O ₂).....	82
5.2.2	Envelhecimento Acelerado em Peróxido de Benzoíla.....	105
5.2.3	Envelhecimento Acelerado do PEUAPM com superfície modificada.....	108
5.3	Caracterização do PEUAPM de Prótese Recuperada.....	110
5.4	Inibição da Oxidação do PEUAPM.....	118
5.5	Resposta inflamatória de macrófagos.....	121
6	CONCLUSÕES.....	137
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	138
8	CONTRIBUIÇÕES ORIGINAIS AO CONHECIMENTO.....	139
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	141

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1: Representação da cadeia polimérica rompida após irradiação e da combinação com O ₂ de modo a facilitar a degradação oxidativa do PEUAPM; a) ruptura da cadeia; b) a liberação de H; c) a formação de álcool ; d) a formação de carbonila; e) a formação de époxi. Adaptado de <i>The Journal of Bone and Joint Surgery</i> , 2001.	21
Figura 3.2: Mecanismo de desgaste abrasivo (adaptado de NEVELOS <i>et al.</i> , 2004).	27
Figura 3.3: Mecanismo de desgaste adesivo (adaptado de NEVELOS <i>et al.</i> , 2004).	27
Figura 3.4: Mecanismo de desgaste de terceiro corpo (adaptado de NEVELOS <i>et al.</i> , 2004).	28
Figura 3.5: Mecanismo de desgaste por fadiga (adaptado de NEVELOS <i>et al.</i> , 2004).	28
Figura 3.6: Modelo de implante condilar do joelho.	33
Figura 3.7: Modelo de implante condilar do joelho. Note a articulação tipo bola e soquete no lado medial e a articulação menos congruente no lado lateral.	35
Figura 3.8: Célula unitária ortorrômbica simples representativa do PEUAPM.	35
Figura 3.9: DRX do PEUAPM GUR 1020 (ROCHA <i>et al.</i> , 2006).	36
Figura 3.10: Gráfico de FTIR do PEUAPM irradiado a 15 Mrds e esterilizado por radiação gama em ar, com a indicação das bandas. Adaptado de SPIEGELBERG <i>et al.</i> , 1999.	38
Figura 3.11: Bandas de interesse na região do espectro mostrado na figura 3.10.	39
Figura 3.12: Mecanismo de interação de alta energia de radiação γ com o PEUAPM e a química da reticulação. Adaptado de BRACCO <i>et al.</i> , 2006.	43
Figura 3.13: Redução tetravalente do oxigênio molecular na mitocôndria até a formação de H ₂ O. Várias espécies reativas de O ₂ são formadas no processo.	45
Figura 3.14: Fórmula estrutural da vitamina C. Adaptado de DAVIES <i>et al.</i> , 1991.	48
Figura 3.15: Primeira ionização do ácido L-ascórbico. Adaptado de DAVIES <i>et al.</i> , 1991.	49
Figura 3.16: Interconversão das várias formas de vitamina C. Adaptado de DAVIES <i>et al.</i> , 1991.	50
Figura 3.17: Interconversão do L-ácido ascórbico / L- ácido dehidroascórbico. Adaptado de DAVIES <i>et al.</i> , 1991.	52
Figura 3.18: Morfologia de algumas células do sistema imune.	53
Figura 3.19: Esquema da consequência de ativação de macrófagos (M Φ) e produção de fator- α de necrose de tumor (TNF- α). Ativação de monócitos (Mn) pelos osteoclastos (OC) e início da reabsorção óssea ao redor da prótese. Adaptado de RENÓ <i>et al.</i> , 2006.	54
Figura 4.1: Fluxograma do procedimento experimental.	58
Figura 4.2: Fluxograma do caminho 1 (R1) seguido para a caracterização do PEUAPM. ...	60
Figura 4.3: Desenho ilustrativo das regiões do GUR1020 analisadas por DRX.	61
Figura 4.4: Fluxograma do caminho 2 (R2) seguido para a caracterização do PEUAPM-Re.	63
Figura 4.5: Esquema do PEUAPM-Re com destaque para as regiões analisadas (1) superior posterior-medial interna e (2) superior posterior- medial externa.	64
Figura 4.6: Esquema de corte da superfície externa (SE), subsuperfície (SS) e superfície interna (SI) do PEUAPM_ Re.	65
Figura 4.7: Fluxograma do caminho 3 (R3) seguido para a obtenção da oxidação do PEUAPM.	65
Figura 4.8: Fluxograma do caminho 4 referente à modificação física do PEUAPM.	67

Figura 4.9: Fluxograma do caminho 5 (R5) referente a inibição da oxidação do PEUAPM_Ox com ácido ascórbico.	68
Figura 4.10: Fluxograma do caminho 6 (R6) referente à resposta inflamatória com macrófagos.	69
Figura 5.1: Difratoograma do PEUAPM controle a distância de 0 cm (a), 1cm (b), 2cm (c), 3cm (d). Em detalhe sua estrutura ortorrômbica.	74
Figura 5.2: Imagens de MEV do PEUAPM referência em ampliação de (a) 50X; (b) 10000X e (c) 15000X.	77
Figura 5.3: Espectro típico de FTIR do PEUAPM controle.	78
Figura 5.4: Espectro de FTIR do PEUAPM destacando as faixas de interesse a 1330-1396 cm^{-1} e 1650-1850 cm^{-1}	80
Figura 5.5: Correlação entre o grau de cristalinidade por DRX versus FTIR do PEUAPM controle.	82
Figura 5.6: Espectro típico de FTIR do PEUAPM oxidado 21 dias em H_2O_2	83
Figura 5.7: Espectro de FTIR do PEUAPM oxidado por 14 dias, destacando as regiões de interesse (I) área de normalização e (II) a área de oxidação.	84
Figura 5.8: Espectro de FTIR do PEUAPM controle e oxidado com peróxido de hidrogênio no período de 0 a 120 dias.	85
Figura 5.9: Mecanismo de formação da carbonila. Adaptado de TADDEI <i>et al.</i> , 2006.	85
Figura 5.10: Espectro de FTIR do PEUAPM_Ox em peróxido de hidrogênio até 120 dias destacando o grupamento hidroperóxido.	86
Figura 5.11: Mecanismo de formação de outros produtos de oxidação do PEUAPM. Adaptado de TADDEI <i>et al.</i> , 2006.	88
Figura 5.12: Espectro de FTIR destacando outros produtos de oxidação do PEUAPM em peróxido de hidrogênio.	89
Figura 5.13: Esquema do processo oxidativo do PEUAPM. Adaptado de TADDEI <i>et al.</i> , 2006.	90
Figura 5.14: Gráfico proporção do grupamento carbonila relativo à oxidação do PEUAPM.	92
Figura 5.15: Gráfico proporção do grupamento álcool relativo à oxidação do PEUAPM.	93
Figura 5.16: Gráfico proporção do grupamento álcool não ligado ao H, relativo à oxidação do PEUAPM.	94
Figura 5.17: Gráfico proporção do grupamento transvinileno relativo à oxidação do PEUAPM.	94
Figura 5.18: Gráficos proporção do grupo gama-lactona relativo à oxidação do PEUAPM.	95
Figura 5.19: Gráfico de FTIR referente a absorção de bandas específicas no PEUAPM.	96
Figura 5.20: Gráfico índice de oxidação versus tempo do PEUAPM_Ox em H_2O_2	98
Figura 5.21: Gráfico comparativo dos I_{OX} entre PEUAPM controle, oxidado em H_2O_2 e recuperado de prótese falha.	99
Figura 5.22: Cinética do índice de oxidação do PEUAPM com H_2O_2	100
Figura 5.23: Gráfico de cristalinidade x oxidação x tempo obtido do PEUAPM_Ox em H_2O_2	103
Figura 5.24: Imagens de MEV obtidas do PEUAPM oxidado com H_2O_2 : (a) 7 dias 5000X; (b) 14 dias 5000X; (C) 28 dias 5000X e (d) 90 dias 10.000X.	104
Figura 5.25: Espectro típico de FTIR do PEUAPM oxidado em peróxido de benzoíla.	105

Figura 5.26: Espectro de FTIR do PEUAPM-Ox com peróxido de benzoíla destacando a banda de interesse 2800-3200cm ⁻¹	106
Figura 5.27: Espectro de FTIR do PEUAPM-Ox com peróxido de benzoíla destacando a banda de interesse 1400-1500cm ⁻¹	107
Figura 5.28: Espectro de FTIR do PEUAPM-Ox com peróxido de benzoíla.	107
Figura 5.29: Espectro de FTIR do PEUAPM_600 oxidado em H ₂ O ₂	108
Figura 5.30: Espectro de FTIR do PEUAPM_600 oxidado em H ₂ O ₂ enfatizando o grupamento carbonila.	109
Figura 5.31: Gráfico do índice de oxidação x tempo do PEUAPM_600.....	110
Figura 5.32: Imagem macroscópica da região póstero-medial (1) do PEUAPM recuperado evidenciando delaminações (b) e a banda branca (c).	111
Figura 5.33: Imagem de MEV em ampliação de 200X do PEUAPM recuperado evidenciando orifícios, delaminações e em destaque a zona branca.	112
Figura 5.34: Imagem de MEV em ampliação de 50X do PEUAPM recuperado evidenciando a zona branca de transição com o lado (a) representando a região mais oxidada e o lado (b) mais rugoso refere-se à região de menor oxidação.....	112
Figura 5.35: Gráfico de EDS do PEUAPM recuperado de prótese falha.....	113
Figura 5.36: Espectro típico de FTIR controle (a) e da região 1 do PEUAPM_Re (b).....	114
Figura 5.37: Espectro de FTIR do controle (a) e do PEUAPM_Re (b) destacando as bandas de interesse.	114
Figura 5.38: Espectro de FTIR controle (a) e do PEUAPM_Re (b) enfatizando a banda da carbonila.	115
Figura 5.39: Regiões analisadas do PEUAPM-Re . Região (1) póstero-medial interna e região (II) póstero-medial externa.	116
Figura 5.40: Gráfico dos índices de oxidação das regiões analisadas do PEUAPM_Re: superfície da região 1 (supext_1); sub-superfície da região 1 (subsup_1); superfície da região 2 (supext_2); sub-superfície da região 2 (subsup_2); superfície da região 3 (supext_3); sub-superfície da região 3 (subsup_3)	116
Figura 5.41: Gráfico grau de cristalinidade versus regiões do PEUAPM_Re.....	118
Figura 5.42: Espectro global de FTIR do ácido ascórbico destacando as principais bandas.	119
Figura 5.43: Gráfico índice de oxidação versus tempo de amostras do PEUAPM inibidas com ácido ascórbico.	120
Figura 5.44: Gráfico de resposta da secreção de óxido nítrico pelas diferentes amostras.	122
Figura 5.45: Gráfico de resposta de macrófagos versus índice de oxidação.	123
Figura 5.46: Imagem de MEV de (a) amostras oxidadas 120 dias, (b) oxidadas 60 dias, (c) oxidada 45 dias e (d) região 2 de prótese recuperada.....	125
Figura 5.47: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 90 dias destacando a deposição de macrófagos em região de maior defeito.	126
Figura 5.48: Imagem de MEV do PEUAPM virgem não estimulado.....	126
Figura 5.49: Imagem de MEV do grupo controle celular não estimulado.	127
Figura 5.50: Imagem de MEV do PEUAPM virgem estimulado.....	128
Figura 5.51: Imagem de MEV do controle celular estimulado.	129
Figura 5.52: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 120 dias destacando prolongamento da membrana plasmática.	129
Figura 5.53: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 120 dias destacando aumento do volume celular.	130

Figura 5.54: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 60 dias destacando macrófagos com projeções citoplasmáticas.	130
Figura 5.55: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 60 dias destacando vesículas pinocíticas e emissão de pseudópodos.	131
Figura 5.56: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 45 dias destacando alterações da membrana citoplasmática e emissão de pseudópodos.	131
Figura 5.57: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 120 dias destacando a superfície com defeitos e presença de macrófagos.	133
Figura 5.58: Imagem de MEV da região superior pósteromedial interna superfície externa da prótese, destacando macrófagos ativados.	134
Figura 5.59: Imagem de MEV da região superior pósteromedial interna sub-superfície..	135
Figura 5.60: Imagem de MEV da região superior pósterolateral superfície-externa da prótese.....	135

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1: Propriedades do PEUAPM não reticulado e reticulado.....	22
Tabela 3.2: Modos de Vibração do FTIR para o PEUAPM.....	37
Tabela 3.3: Identificação das principais bandas no FTIR	37
Tabela 3.4: Energia de dissociação da ligação C-H por diferentes tipos de radicais.	43
Tabela 4.1: Propriedades do PEUAPM fornecidas pelo fabricante.....	59
Tabela 4.2: Tabela de nomenclatura abreviada das amostras.....	60
Tabela 5.1: Valores da Cristalinidade do UHMWPE obtidos por DRX.	75
Tabela 5.2: Identificação das Bandas no FTIR.....	79
Tabela 5.3: Grau de Cristalinidade do PEUAPM obtido por FTIR.	81
Tabela 5.4: Absorbância no FTIR para as intensidades específicas do PEUAPM.....	97
Tabela 5.5: Valores obtidos da secreção de NO para as amostras ensaiadas.	123

ÍNDICE DE EQUAÇÕES

Equação 3.1: Cálculo de índice de Oxidação.....	37
Equação 3.2: Cálculo de índice de Cristalinidade (FTIR, BRACCO, 2007).....	37
Equação 3.3: Reação de formação do radical superóxido.....	43
Equação 3.4: Reação de conversão do radical superóxido em H ₂ O ₂	43
Equação 3.5: Reação de conversão do radical hidroxila a partir do H ₂ O ₂	43
Equação 4.1: Cálculo de índice de Cristalinidade (FTIR, BRACCO, 2007).....	60
Equação 4.2: Cálculo de índice de Oxidação (ISO 5834-4).....	69
Equação 4.3: Cálculo do conteúdo da carbonila por intensidade de absorção.....	70
Equação 4.4: Cálculo do conteúdo de hidroperóxidos e alcoóis por razão de área.....	70
Equação 4.5: Cálculo do conteúdo de hidroperóxidos e alcoóis por intensidade de absorção	70
Equação 4.6: Cálculo do conteúdo de alcoóis não ligado ao hidrogênio por intensidade de absorção.....	70
Equação 4.7: Cálculo do conteúdo do trans-vinileno por intensidade de absorção.....	70
Equação 4.8: Cálculo do conteúdo da gama lactona por intensidade de absorção.....	70
Equação 5.1: Reação de catálise do H ₂ O ₂	81
Equação 5.2: Reação de oxidação do PEUAPM.....	81
Equação 5.3: Reação de oxidação do PEUAPM formando grupo carbonila	84
Equação 5.4: Reação de oxidação do PEUAPM formando grupo aldeído.....	85
Equação 5.5: Reação de oxidação do PEUAPM formando grupo vinileno.....	85
Equação 5.6: Reação de oxidação do PEUAPM formando grupo éster.....	85
Equação 5.7: Cálculo da absorção da carbonila por FTIR.....	90
Equação 5.8: Cálculo da absorção de hidroperóxidos e álcoois por FTIR.....	90

Equação 5.9: Cálculo da absorção de álcool não ligado ao H por FTIR.....	93
Equação 5.10: Cálculo da absorção do trans vinileno por FTIR.....	93
Equação 5.11: Cálculo da absorção da gama lactona por FTIR.....	93
Equação 5.12: Reação de catálise do ácido ascórbico.....	121
Equação 5.13: Reação do ácido ascórbico com H ₂ O ₂	121
Equação 5.14: Reação de formação do íon bicarbonato.....	121
Equação 5.15: Reação do ácido carbônico.....	121
Equação 5.16: Reação do ácido ascórbico com a água.....	121

ABREVIATURAS

AAOS	<i>American Associaty Orthopaedics Surgeons</i>
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AsC	Ácido Ascórbico
ASTM	<i>American Society Testing and Materials</i>
ATJ	Artroplastia Total de Joelho
ATP	Adenosina Trifosfato
DHA	Ácido Dehidroascórbico
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DRX	Difração de Raios-X
EAO	Espécies ativas de oxigênio
EDS	Espectroscopia de Energia Dispersiva
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
EtO	Gás Etileno
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	<i>Fourier Transformed Infrared</i>
GSH	Glutationa ou L-g-glutamil-L-cisteinil-glicina
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
IL	<i>Interleukin</i>
ITF	Interferon- γ
iNOS	Óxido nítrico sintase induzida ou indutível
ISO	<i>International Standardization for Organization</i>

K ₁	Primeira constante de dissociação de um ácido diprótico
K ₂	Segunda constante de dissociação de um ácido diprótico
LCA	Ligamento cruzado anterior
LCP	Ligamento cruzado posterior
LPS	Lipopolissacáride
MCP-1	Proteína monócito quimiotática
MIP-1	Proteína macrófago inflamatória
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MMP-9	Matrix Metalloproteinase - 9
Mn	Monócitos
MO	Microscópio Ótico
Mrads	Dosimetria de radiação gama
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
NO	(<i>Nitric oxide</i>) - Óxido nítrico
NOS	(<i>Nitric oxide synthase</i>) - Óxido nítrico sintase
nNOS	(<i>Nitric oxide neuronal synthase</i>) - Óxido nítrico sintase neuronal
OC	Osteoclastos
PEUAPM	Polietileno de ultra alto peso molecular
PB	Peróxido de Benzoíla
PG E ₂	Prostaglandina E ₂
pH	potencial hidrogeniônico
pK _a	logaritmo negativo da constante de acidez
PMN	Granulócitos Polimorfonucleados
SBOT	Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia

SOD Enzima superóxido dismutase

TKR *Total Knee Replacement*

TNF- α Fator alfa de necrose tumoral

UHMWPE *Ultra-high molecular weight polyethylene*

RESUMO

O polietileno de ultra elevado peso molecular (PEUAPM) tem sido um biomaterial amplamente utilizado como parte de próteses, tais como as endopróteses de joelho, que requerem uma superfície articular em função de suas excelentes qualidades mecânicas. Aproximadamente um milhão de próteses é implantado em todo o mundo anualmente. Dois dos principais problemas limitantes da durabilidade das próteses é o desgaste e a delaminação, ambos decorrentes principalmente da oxidação química do polietileno. Apesar do intenso foco em metodologias de envelhecimento acelerado para o PEUAPM nos últimos anos, ainda permanecem muitos debates sobre o caminho mais efetivo de envelhecimento acelerado deste material para simular o auto-envelhecimento e o envelhecimento *in vivo*. O objetivo desta pesquisa foi investigar e caracterizar a extensão da oxidação do PEUAPM através de espectroscopia de infravermelho, utilizando meio agressivo de peróxido de hidrogênio, por longo período de tempo, como agente de envelhecimento acelerado, assim como determinar a eficácia da ação inibidora do ácido ascórbico na oxidação deste polímero. Ensaio *in vitro* foram realizados no biomaterial a fim de se compreender como alterações na superfície química do PEUAPM interferem na interação celular e na resposta inflamatória. Os resultados obtidos mostraram que o peróxido de hidrogênio atuou eficientemente no envelhecimento acelerado do PEUAPM, resultando no aumento da taxa de oxidação determinada após diferentes períodos. Houve uma redução significativa da degradação oxidativa do PEUAPM, quando em presença de ácido ascórbico nas diferentes concentrações analisadas, mostrando que a vitamina C pode atuar como um potente agente antioxidante do PEUAPM. Resultados preliminares de ensaio *in vitro* para resposta de macrófagos apontaram para uma tendência ao aumento da secreção de óxido nítrico quanto maior o tempo de oxidação, influenciado pela superfície química do PEUAPM.

ABSTRACT

Ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) is a biomaterial widely used as part of prosthesis that requires articulating surfaces for its excellent mechanical qualities such as knee endoprosthesis for its excellent mechanical qualities. Approximately one million UHMWPE components are implanted worldwide on yearly basis. Two major problems limit the UHMWPE prosthesis life – wearing and delamination, both phenomena being mainly due to chemical oxidation of polymer. However, despite the intensive focus on ageing methodologies for UHMWPE over the last few years there are still remains much debate over the most effective way of accelerated ageing this material to simulate both shelf and in-vivo ageing. The aim of this study was to investigate and characterize by infrared absorption the accelerated degradation of UHMWPE under hydrogen peroxide aggressive medium for long period of time as well as to determine the antioxidant capacity from ascorbic acid in UHMWPE's oxidation. *In vitro* tests to evaluate the macrophage response to test materials were performed in order to investigate as the chemical surface alters the inflammatory response. Our results showed that the hydrogen peroxide acted efficiently in the oxidation of UHMWPE. The measure of oxidation index, determined after different times, resulted in increased rates of oxidation. There was also a decrease of oxidative degradation of UHMWPE with the addition of ascorbic acid showing that vitamin C can act as a potent antioxidant agent for UHMWPE. Preliminary results for macrophage response suggest that there is a trend to increased nitric oxide secretion with the time's oxidation, influencing by chemical surface of UHMWPE.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas três décadas o polietileno de ultra alto peso molecular (PEUAPM) tem sido um biomaterial amplamente utilizado como parte de próteses que requerem uma superfície articular, como por exemplo as próteses de joelho, em função de suas excelentes qualidades mecânicas (RENÓ *et al.*, 2006).

A degradação oxidativa tem sido considerada um fator prevalente na falha de componentes de PEUAPM, estando ligada a alterações na cristalinidade, devido a quebra de cadeias, e também associada a alterações nas suas propriedades, tais como diminuição da resistência à fadiga e produção de partículas de desgaste ao redor do sítio do implante (LEE *et al.*, 2000; BOSETTI *et al.*, 2003; ORAL *et al.*, 2006; JIN *et al.*, 2006; WILLE *et al.*, 2006; BRACCO *et al.*, 2007).

Aproximadamente um milhão de componentes de PEUAPM é implantado anualmente em todo o mundo. O método mais comum de esterilização do PEUAPM é por irradiação gama que resulta em formação de radicais livres, tornando o PEUAPM instável. Dois dos principais problemas limitantes da durabilidade das próteses é o desgaste e a delaminação, ambos decorrentes principalmente da oxidação química do polietileno. O desgaste causa a liberação de partículas que desencadeiam uma reação de macrófagos provocando inflamação crônica e osteólise, enquanto delaminação, decorrente de sobrecarga mecânica, altera macroscopicamente a superfície do PEUAPM. Estes episódios levam ao afrouxamento asséptico e falha da prótese. Revisão cirúrgica é normalmente a única opção neste estágio, mas é um procedimento inconveniente e de elevado custo (LU *et al.*, 2002).

Tem sido publicado no campo de biomateriais que a superfície química exibe um importante papel na interação celular, especificamente aquelas células envolvidas na resposta inflamatória e este aspecto deve ser considerado nas aplicações do PEUAPM. O polietileno oxidado é um estado inerente que existe nos componentes de PEUAPM utilizados em substituição articular total. As alterações na superfície potencialmente influenciam o estado estrutural das partículas, a natureza dos oxidantes, sua taxa de

liberação assim como a cinética da reação de degradação, e o modo pelo qual elementos biológicos do ambiente do implante atuam no material (LEE *et al.*, 2000).

Sabe-se que o uso do PEUAPM para fins ortopédicos apresenta grandes problemas: (i) abrasão na superfície do componente polimérico em contato com componentes metálicos/cerâmicos, (ii) a fratura do componente do quadril e do platô tibial. A solução para o último problema tem sido a esterilização em ambiente inerte; entretanto a oxidação originada durante o complexo processo de fabricação do PEUAPM ainda ocorre em muitas próteses. Logo, para que se prolongue a vida útil dos implantes é necessário que eles sejam estabilizados (RENÓ *et al.*, 2004). Uma opção é misturar o PEUAPM com alfa-tocoferol. Contudo, não se sabe o quão eficiente é este mecanismo para estabilizar o PEUAPM irradiado a elevadas doses e envelhecido, e se sua estabilidade é mantida após o envelhecimento (ORAL *et al.*, 2005).

A despeito do intenso foco nos últimos anos em metodologias de envelhecimento acelerado para o PEUAPM, ainda permanece debate sobre o método mais efetivo de envelhecimento deste material, com o intuito de simular ambos autoenvelhecimento e o envelhecimento *in vivo*. (LU *et al.*, 2002).

Diante do exposto, esta pesquisa tem como objetivo avaliar o potencial oxidativo do peróxido de hidrogênio no processo de envelhecimento acelerado do PEUAPM, a fim de compreender o fenômeno de degradação oxidativa que ocorre *in vivo* e analisar o efeito inibidor de radical livre do ácido ascórbico neste mecanismo.

2 OBJETIVO GERAL

- Este trabalho tem como objetivo compreender o fenômeno de degradação oxidativa do PEUAPM através do estudo de sua oxidação acelerada em peróxidos, obtida em diferentes tempos, e propor medidas de ação estabilizadora com inibidor natural de radicais livres.

2.1 Objetivos Específicos

- Avaliar o índice de oxidação do PEUAPM, após envelhecimento acelerado com peróxidos, caracterizados por espectroscopia no infravermelho e técnicas complementares.
- Propor modelo de oxidação acelerada do PEUAMP em meio com elevada concentração de peróxido de hidrogênio.
- Avaliar a eficácia do ácido ascórbico como inibidor da oxidação do PEUAPM.
- Realizar a caracterização biológica do UHMWPE controle, oxidado em peróxido de hidrogênio e obtido de prótese recuperada, através de testes *in vitro* para a sua citotoxicidade.
- Caracterizar o PEUAPM, retirado após revisão de prótese falha, por MO, MEV, FTIR e relacionar os resultados obtidos com os grupos controle, oxidados e estabilizados com vitamina C, a fim de compreender o mecanismo de oxidação do PEUAPM.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Polietileno Convencional e Polietileno Reticulado

O número de artroplastias articulares tem aumentado rapidamente em todo o mundo nos últimos 10 anos. Somente nos Estados Unidos mais de 500.000 artroplastias primárias de quadril e joelho são realizadas anualmente em pacientes com mais de 65 anos. Cerca de 80.000 próteses são revisadas a cada ano, representando mais de 10% de todas as cirurgias realizadas domesticamente. Mundialmente, a taxa de revisão cirúrgica apresenta porcentagem similar. Para os americanos, o custo de substituição destas prótese falhas é maior que 2 bilhões de dólares anualmente. Embora estes procedimentos cirúrgicos sejam comuns e geralmente bem sucedidos, o tempo de vida de uma artroplastia de joelho com o polietileno de ultra-alto peso molecular (PEUAPM) é frequentemente limitada a 10-15 anos. Dados recentes mostram que o número de revisões cirúrgicas aumenta na mesma taxa que as cirurgias primárias e que a maioria destas revisões são devidas à falha da prótese principalmente em função de debris ou da falha do polímero de sustentação. (RENÓ *et al.*, 2004; SHORT *et al.*, 2005; AFFATATO *et al.*, 2005 ; CITTERS *et al.*, 2007; GOSWAMI, *et al.*, 2008).

Uma molécula de polietileno de ultra-alto peso molecular ou polietileno convencional consiste de numerosas unidades de repetição de monômeros-etileno. A estrutura principal da molécula é a ligação covalente C-C. No estado sólido, moléculas de PEUAPM são arrançadas nas regiões ordenadas e desordenadas, ou seja, região cristalina e amorfa (WANG *et al.*, 1998; RIMNAC *et al.*, 2005). Na região cristalina, as cadeias são orientadas com a cadeia central, ou seja, direção C-C orientada perpendicularmente em relação à conformação da cadeia da interface. A área dobrada da interface é significativamente maior que o comprimento da cadeia dobrada, a qual leva a forma lamelar característica para cada cristalito. Na região amorfa não existe conformação regular da cadeia molecular, mas cadeias adjacentes são interconectadas através de ligações secundárias e, ocasionalmente,

ligações cruzadas. Conexões entre regiões cristalina e amorfa são possíveis através de ligações moleculares (WANG *et al.*, 1998).

A nova geração de polietileno reticulado representa uma classe alternativa emergente de PEUAPM, na qual o denominador comum é uma apreciação da importância do aumento da reticulação e diminuição da oxidação degradativa com a finalidade de reduzir o desgaste (AAOS, 2002). Existem diferentes processos de reticulação que incluem: 1) aquecimento acima ou abaixo da temperatura de fusão do PEUAPM; 2) fonte de radiação; 3) nível da dose e 4) ponto final da esterilização. Esses processos, entretanto, alteram a estrutura química do polímero afetando propriedades mecânicas estáticas e características de fadiga.

The International Standard Organization-ISO define o PEUAPM como tendo uma massa molar de pelo menos 1 milhão g/mol, que resulta em um grau mínimo de polimerização de $n \approx 36.000$ por cadeia. O PEUAPM usado em aplicações ortopédicas possui uma massa molar entre 2 e 6 milhões g/mol com grau de polimerização entre 71.000 e 214.000. É um polímero da família do polietileno, fabricado pela consolidação de resina sob elevada pressão a temperatura acima da temperatura de fusão, aproximadamente 135°C, com porcentagem de cristalinidade de 58% a 75% dependendo da resina. Nessa forma, o material não é reticulado. O PEUAPM pode ser esterilizado por exposição a 25-40 kGy de radiação gama em atmosfera inerte. Esterilização em atmosfera inerte previne o oxigênio de interagir com o PEUAPM durante o armazenamento. Isso resulta em baixo nível de reticulação e minimiza a quantidade de degradação oxidativa ocorrida anteriormente à implantação. No PEUAPM virgem, as lamelas orientam-se aleatoriamente na região amorfa do polímero (RIMNAC *et al.*, 2005).

O PEUAPM altamente reticulado é produzido por meio de exposição do PEUAPM não reticulado a elevadas doses de radiação ionizante (> 40 kGy de radiação gama) que em seguida é submetido ao processamento térmico pós-irradiação. O processamento térmico é realizado no PEUAPM irradiado com o escopo reduzir radicais livres e minimizar o potencial de oxidação pós-irradiação. A consequência da combinação da reticulação ao tratamento térmico é a interferência nas propriedades mecânicas e na microestrutura do

PEUAPM. O recozimento é o processo térmico pós-irradiação que ocorre abaixo da temperatura de fusão e a refusão ocorre acima desta. Vale ressaltar que o processo térmico pós-irradiação, independente da temperatura, ocorre em pressão ambiente. Comercialmente, a resina de polietileno reticulado varia em doses de 40 kGy até 100 kGy, e esses tratamentos podem ser acompanhados por aquecimento do material acima da sua temperatura de fusão (135°C) ou recozimento do polímero abaixo da sua temperatura de fusão (RIMNAC *et al.*, 2005; GENCUR *et al.*, 2003).

O PEUAPM utilizado na artroplastia total de joelho (ATJ) resulta da polimerização do gás etileno em um pó de resina fina de tamanho micrométrico e sub-micrométrico. Ele é consolidado com o uso de conformação mecânica por extrusão ou técnicas de compressão (AAOS, 2002). Irradiação, com a finalidade de esterilizar o PEUAPM, rompe a cadeia polimérica e cria radicais livres, que combinam ao O₂ do ambiente. Esse processo, ilustrado na **Figura 3.1**, facilita a continuação da degradação oxidativa do polímero. Irradiação em atmosfera inerte provoca desidrogenação considerável do polietileno devido à quebra da ligação C-H, à difusão do H e à formação de ligações químicas C=C, e produz efeito de ligações cruzadas da cadeia polimérica resultando em uma rede de carbono de alta densidade (AAOS, 2002).

O PEUAPM possui cadeias extremamente longas e bastante emaranhadas, propriedade distintiva de outros polímeros. Dentre as vantagens oferecidas por este polímero, destacam-se propriedades excelentes de deslizamento, resistência ao impacto e à fadiga e compatibilidade satisfatórias (WANG *et al.*, 1998).

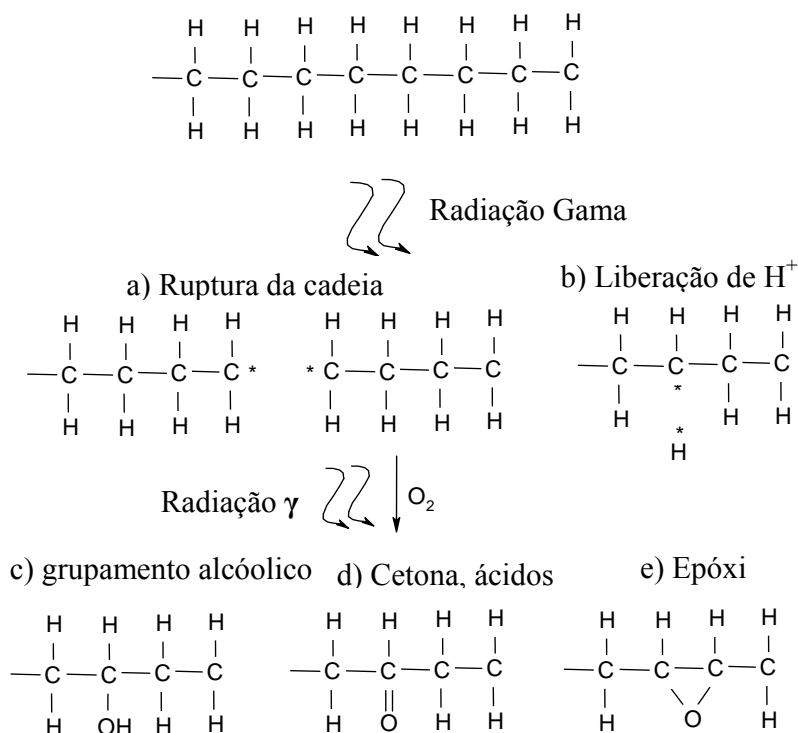


Figura 3.1: Representação da cadeia polimérica rompida após irradiação e da combinação com O₂ de modo a facilitar a degradação oxidativa do PEUAPM; a) ruptura da cadeia; b) a liberação de H; c) a formação de álcool ; d) a formação de carbonila; e) a formação de épxi. Adaptado de *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 2001.

3.2 Biocompatibilidade e Biofuncionalidade

A biocompatibilidade é uma propriedade relativa à capacidade do material e de seus produtos de degradação serem tolerados pelos tecidos adjacentes sem causar dano ao organismo a curto e à longo prazo. Para que um material possa ser considerado implantável, ele deve atender aos seguintes requisitos fundamentais (RAVAGLIOLI, 1992):

- O material não deve causar efeitos deletérios no local do implante ou no sistema biológico.
- Os tecidos não podem causar degradação do material gerando produtos não toleráveis ou alteração funcional do mesmo.
- O material deve ter características funcionais adequadas para cumprir, com êxito, a função desejada, pelo tempo desejado.
- O material deve ser esterilizável.

Os requisitos fundamentais para o sucesso dos novos materiais devem incluir, além das propriedades mecânicas e físico-químicas, avaliação e resposta específica dos mediadores bioquímicos. São questionamentos frequentes: “Estes materiais irão induzir respostas rápidas e encapsulamento? O material irá sofrer resposta de corpo estranho? Induzirá resposta imune? As células serão capazes de aderir, proliferar, diferenciar em contato com o biomaterial?” Por outro lado, temos o desafio de trabalhar em ciência dos materiais modificando as propriedades dos materiais em relação às propriedades mecânicas, estrutura química, massa molar, origem dos monômeros, ligações cruzadas, morfologia de superfície, porosidade, capacidade de degradação e sua toxicidade (SEAL *et al.*, 2001).

3.3 Propriedades Mecânicas

Propriedades como deformação, limite de escoamento, fratura e fadiga do PEUAPM convencional e reticulado determinam o sucesso à longo prazo dos implantes ortopédicos. Avaliar a influência das propriedades mecânicas do material no desgaste é tarefa rotineira. Propriedades mecânicas e microestrutura são parâmetros chave para projetar polímeros com melhor resistência à fadiga. Oxidação do componente tibial do PEUAPM pode ser causada pela tensão imposta durante as atividades diárias ou por alterações pós-irradiação. Além disto, isto sugere que em termos de falha por delaminação, a oxidação do PEUAPM reduz o limite operacional do material. Um método para reduzir a grande deformação plástica na superfície durante o movimento parece ser a reticulação (SIMIS *et al.*, 2006; ORAL *et al.*, 2006; KURTZ *et al.*, 2005). A **Tabela 3.1** resume os valores das principais propriedades mecânicas do PEUAPM.

Tabela 3.1: Propriedades do PEUAPM não reticulado e reticulado.

Propriedade (20°C)	PEUAPM não reticulado	PEUAPM reticulado	Referências
Cristalinidade	45-60 (%)	46-51(%)	a, b, c
Tensão de escoamento	20-23 (MPa)	19-24 (MPa)	a, b
Tensão final na ruptura	42-44 (MPa)	47-19 (MPa)	a, c
Modulo de elasticidade	0,8-1,6 (GPa)	433-334 (MPa)	a, c, d
Alongamento até a ruptura	330-525 (%)	320-540 (%)	a, d

a) PRUITT, 2005; b) KURTZ *et al.*, 2005; c) SIMIS *et al.*, 2006; d) RIMNAC *et al.*, 2005.

Melhorar a resistência à deformação plástica que beneficia o comportamento de desgaste ocorre em detrimento de outras propriedades mecânicas. Limite de resistência à tração, ductilidade, módulo de elasticidade, tenacidade e resistência à propagação de trincas são degradadas em altas doses de reticulação (BERGNTROM *et al.*, 2005).

Para RIES (2005) as degradações nas propriedades de fratura indicam que o PEUAPM altamente reticulado não deveria ser utilizado em aplicações nas quais elevadas tensões são esperadas. Baixo grau de reticulação pode vir a ser mais apropriado ao ser projetado para o desgaste e a fadiga, em se tratando de substituição total da articulação do joelho.

Na prótese de joelho, o principal mecanismo de geração de partículas é a delaminação do PEUAPM, sob forças severas de cisalhamento abaixo da superfície articular. A delaminação ocorre via processo de fratura por fadiga, na qual micro-trincas na superfície e sub-superfície são formadas em decorrência de uma mistura de forças compressivas e trativas abaixo da superfície. Como as trincas propagam paralelamente à superfície articular, pequenos flocos de PEUAPM são dilacerados pelo movimento de deslizamento cíclico e são liberados nos tecidos ao redor. As variações na resistência à propagação de trincas por fadiga têm sido relacionadas com mudanças nas condições de carregamento e no tamanho da trinca, com o grau de cristalinidade, a massa molar e a esterilização por radiação gama. Embora haja evidências clínicas que sustentem o mecanismo de fratura por fadiga como causador de defeitos na superfície, a iniciação do processo de fratura nesse material resistente ocorre em função da existência de trincas (PASCAUD *et al.*, 1997).

A presença de um aspecto plástico na superfície da fratura dúctil é atribuída à habilidade do PEUAPM em se submeter a grandes deformações e em dissipar energia (ORAL *et al.*, 2006). As superfícies de fratura do PEUAPM podem apresentar estrias perpendiculares à direção de propagação da trinca, aspecto de fratura dúctil e grande quantidade de dobras salientes. As dobras e as estrias na superfície são características associadas à alta ductilidade, enquanto as partículas fragmentadas podem ser indicativas da natureza frágil da fratura. As dobras na superfície são provavelmente resultantes da superfície instável causada pela grande deformação plástica localizada. Elas aparecem em menor quantidade

ou encontram-se ausentes em elevadas doses de irradiação, além de estarem relacionadas à menor ductilidade do polímero, imposta pelo aumento da densidade de ligações cruzadas (ORAL *et al.*, 2006).

3.4 Desgaste do PEUAPM

O PEUAPM permite o deslizamento contra superfícies de aço ou outros materiais com baixo coeficiente de desgaste e um coeficiente de fricção moderado (GONGDE *et al.*, 2004). Infelizmente a natureza cíclica da carga de contato na superfície articular pode causar vazios, delaminação e mudanças na cristalinidade do polímero, com formação de bilhões de sub-micro partículas de polietileno anualmente. Como resposta ao corpo estranho, pode ocorrer osteólise, reabsorção óssea e degradação do componente ao longo do implante causando seu afrouxamento. Em relação à análise dos debrís, relatos corroboram no sentido que o tamanho e a forma diferem entre os dois tipos de polietileno. Debrís produzidos pelo polietileno reticulado são menores em relação aos produzidos pelo PEUAPM convencional. Além disto, os debrís do PEUAPM convencional apresentam-se na forma de partículas fibrilares e aglomeradas (AFFATATO *et al.*, 2005).

Segundo CHUN-HSIUNG *et al.* (2002), a redução do tamanho e do número das partículas de debrís é de fundamental importância para solucionar o problema da osteólise e da falha dos implantes nas próteses de joelho. O tamanho das partículas é importante para controlar a natureza da resposta celular *in vivo*, embora o mecanismo desta resposta ainda não seja totalmente compreendido. Partículas grandes, entre 10 e 100 μm de diâmetro, são “engolfadas” por células gigantes enquanto partículas pequenas, menor que 10 μm de diâmetro, são fagocitadas por macrófagos. Estes podem provocar uma resposta histológica e fisiológica nas quais as células tornam-se aumentadas e liberam fatores potencialmente osteolíticos e inflamatórios. INGHAM e FISHER (1998) demonstraram não ser a quantidade de desgaste o fator determinante da resposta biológica para os debrís, mas a quantidade de desgaste dentro de um tamanho crítico variando entre 0,2 e 0,8 μm , necessário para ativar macrófagos. SCOTT *et al.* (2004) sugeriram que partículas finas de desgastes poderiam induzir uma maior resposta de macrófagos frente a partículas maiores.

Esse fenômeno é particularmente importante para novos materiais de sustentação como o PEUAPM reticulado.

A descrição clássica de estado de desgaste adesivo é que a força de cisalhamento interfacial deva exceder à resistência de cisalhamento da superfície mais macia até a transferência do material para a face contrária mais dura, ou liberada da superfície mais macia para tornarem-se partículas de desgaste livres. Se as superfícies são efetivamente lubrificadas com fluido articular, desgaste adesivo torna-se pouco provável. Questiona-se, pois, por que este tipo de desgaste acontece frequentemente em articulações artificiais. Acredita-se não ser a articulação artificial do tipo polietileno/metalo lubrificada tão efetivamente quanto deveria (SHIBATA *et al.*, 2005).

Segundo GISPERT *et al.* (2006) as superfícies com desgaste do PEUAPM observadas por MEV mostraram que desgaste abrasivo/adesivo e debris do PEUAPM podem ser detectados na maioria das amostras testadas, independente do tipo de superfície para as quais o PEUAPM desliza e independente do tipo de lubrificante. Em algumas regiões, evidenciaram uma estrutura tipo finas ondulações na superfície do PEUAPM, já relatadas por outros autores. Esta estrutura é atribuída ao processo de acumulação de deformação plástica causado pelo deslizamento contínuo do contra-corpo durante o teste de desgaste.

A maneira mais séria de lesão nos componentes tibiais é a trinca da camada de PEUAPM e a delaminação que ocorre quando trincas na sub-superfície crescem próximas e paralelas à superfície e então, aumentam até promoverem a delaminação. A profundidade da delaminação é aproximadamente 0,5-1,5 mm, segundo LANDY AND WALKER (1986). De modo geral é aceito que esta forma de desgaste é devido ao mecanismo de falha por fadiga (KELLY *et al.*, 2001).

Os mecanismos de desgastes nas próteses de joelho são dependentes da carga entre as superfícies de contato e o contato cinemático interfacial, que consiste de um modelo cíclico multidirecional de movimento e de uma quantidade relativa de rolamento versus deslizamento. O PEUAPM tem também uma propriedade interessante de orientação de

esforço principal preferencial e um modelo de desgaste dependente multidirecional (LAURENT *et al.*, 2003).

Desenhos modernos de próteses de joelho imitam as condições naturais da articulação do joelho e, então, submetem-se à complexa cinemática e cinética durante o movimento. Uma vez que a articulação deve transmitir forças elevadas e permitir a mobilidade para a função normal, desgaste do polietileno e lesões são as principais razões de falha. Durante a marcha o fêmur rola, desliza e roda sobre o platô tibial. Elevadas velocidades de escorregamento durante a marcha, mais especificamente na fase de choque do calcanhar, aumentam o movimento de deslizamento da interface tíbio-femoral e podem produzir um maior volume de partículas de desgaste. Estudos recentes têm apontado que especificamente a combinação da força de contato, a velocidade de deslizamento e a distância, refletem sobre o resultado do desgaste. Sugere-se que os resultados não possam ser explicados somente pelo efeito da distância de deslizamento e que a taxa de desgaste do PEUAPM é sensível a outros parâmetros, tais como a magnitude do movimento de cisalhamento multi-direcional e a razão da cinemática de contato rolamento/deslizamento em combinação com a carga aplicada (SCHWENKE *et al.*, 2005).

Progressos significativos ocorreram nos últimos anos na compreensão da cinemática das próteses de joelho e no desempenho de testes de desgaste *in vitro* de tais próteses, em simuladores. Entretanto, devido à complexa cinemática da articulação do joelho, pesquisas adicionais são necessárias para se compreender as interações multifatoriais que levam ao desgaste dos componentes protéticos. O mecanismo de desgaste do PEUAPM é de particular interesse em virtude do seu grande uso como material de suporte nas próteses de joelho (LAURENT *et al.*, 2003).

3.4.1 Mecanismos de Desgastes

De acordo com NEVELOS *et al.* (2004), são quatro os mecanismos de desgastes atuando sobre as superfícies articulares do joelho:

a) Desgaste abrasivo

A esta forma de desgaste é atribuída a remoção do material de uma superfície para a outra. Pontos locais altos ou asperezas nas superfícies do material duro penetrará o material macio e produzirá partículas de desgaste, **Figura 3.2**.

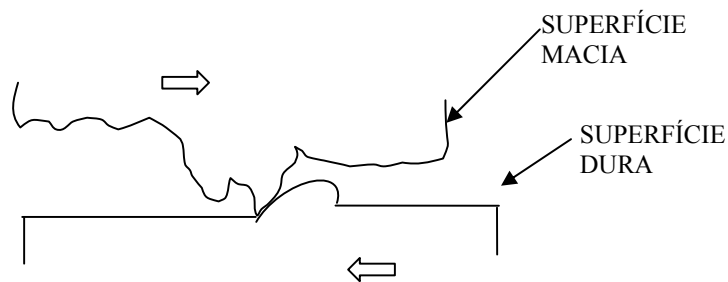


Figura 3.2: Mecanismo de desgaste abrasivo (adaptado de NEVELOS *et al.*, 2004).

b) Desgaste Adesivo

Como o nome sugere, no desgaste adesivo ocorre uma ligação localizada de duas superfícies. A força de fixação é maior que o limite de resistência do material, e um pequeno pedaço deste material é removido de uma superfície e fixado à outra, **Figura 3.3**.



Figura 3.3: Mecanismo de desgaste adesivo (adaptado de NEVELOS *et al.*, 2004).

c) Desgaste de terceiro corpo

É essencialmente um tipo de desgaste abrasivo onde, ao invés de uma lesão áspera da superfície, a lesão é causada por uma partícula presa entre as duas superfícies (como uma partícula de cimento ósseo), **Figura 3.4**. Este terceiro corpo torna-se embutido no PEUAPM e provoca arranhaduras na superfície metálica que levaria, então, à aceleração do desgaste abrasivo.

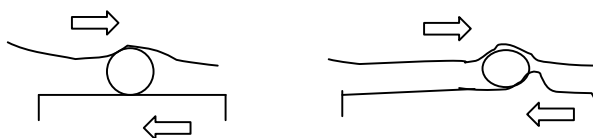


Figura 3.4: Mecanismo de desgaste de terceiro corpo (adaptado de NEVELOS *et al.*, 2004).

d) Desgaste por fadiga

Solicitação na sub-superfície do PEUAPM que pode levar à propagação de trincas e pedaços de partículas vindos da superfície para a sub-superfície, **Figura 3.5**. Elevada solicitação na sub-superfície também pode levar ao desgaste por terceiro corpo entre as duas superfícies articulares, acelerando o processo de desgaste.

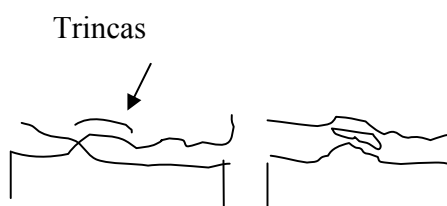


Figura 3.5: Mecanismo de desgaste por fadiga (adaptado de NEVELOS *et al.*, 2004).

3.4.2 Origem do Desgaste

Partículas de desgaste do PEUAPM de tamanho micro e sub-micro, referidas como debris, causam reações inflamatórias levando à reabsorção óssea, ou osteólise, e à falha da prótese. O acúmulo de debris nos tecidos peri-protético desencadeia uma resposta celular com a liberação de substâncias bioquímicas, que parece ser a responsável pelo desenvolvimento de lesões císticas, levando ao afrouxamento da prótese. A geração de debris tem duas origens principais: 1) o processo de desgaste adesivo, abrasivo e de desgaste de terceiro corpo ocorrendo *in vivo*; 2) liberação de partículas que são inerentes à microestrutura do PEUAPM. O primeiro paradigma da geração de debris foi estudado do ponto de vista puramente mecânico. O esforço combinado de simulação da articulação *in vitro*, estudos de modelos de análise de elementos finitos e numéricos, esclareceram as causas de diferentes

mecanismos de desgaste no PEUAPM numa escala macroscópica definindo a falha deste material nas próteses totais. Este estudo procurou definir a causa da geração dos debrís pelo acúmulo de grande quantidade de deformação plástica. Foi sugerido que deformação em grande escala, a textura, rupturas na superfície e fraturas dentro dos componentes do PEUAPM em movimento cíclico repetido, poderiam causar falha macroscópica do material, eventualmente levando à falha do implante. Estes estudos, contudo, não explicam a causa inicial da geração de partículas de desgaste do PEUAPM. O segundo paradigma da geração dos debrís foi estudado do ponto de vista do material. O exame microscópico da morfologia nanoestrutural de debrís do PEUAPM recuperado foi comparado com a morfologia nanoestrutural do pó do PEUAPM virgem, e a morfologia de secção de amostras fabricadas de pó do PEUAPM virgem. Estes estudos não foram, contudo, suficientes para esclarecer a causa inicial da origem dos debrís do PEUAPM (HO *et al.*, 2002).

3.5 Oxidação do PEUAPM

A degradação oxidativa tem sido considerada um fator prevalente na falha de componentes de PEUAPM. Muitos estudos (LEE *et al.*, 2000; BOSETTI *et al.*, 2003; ORAL *et al.*, 2006; JIN *et al.*, 2006; BRACCO *et al.*, 2007) têm mostrado que a oxidação do componente articular de PEUAPM em próteses articulares provoca a instabilidade do implante. É consenso que a degradação oxidativa deste polímero ocorre em função da consolidação da resina a elevadas temperaturas e pressão, da esterilização por radiação gama, devido ao armazenamento dos componentes de PEUAPM irradiados e ainda em função do ambiente implantado. Embora a exposição a elevadas temperaturas (200-250°C) e pressão (200-400KPa) durante o processamento seja de curta duração, mesmo assim o PEUAPM se torna mais susceptível às reações de oxidação.

O processamento do PEUAPM é problemático devido a sua elevada massa molar. O fato de métodos normais de processamento como injeção não poder ser usado devido à sua elevada viscosidade, o polietileno é moldado por compressão ou por extrusão. Estudos revelam ainda que a técnica por extrusão favorece mais a oxidação do PEUAPM que a técnica por compressão. A elevada massa molar também é um problema durante a fusão da resina do PEUAPM que possui partículas da ordem de 50-250 µm. A fim de se obter uma

boa fusão, as partículas devem não somente estar em contato uma às outras, mas também é necessário que as cadeias poliméricas interdifundam-se através de suas fronteiras. O contato físico entre as partículas é controlado principalmente pela pressão na fusão e pela viscosidade do polímero fundido. A difusão é controlada pelo mecanismo de reptação e, o tempo de reptação para cadeias poliméricas aumenta drasticamente com a massa molecular. A massa molar média do PEUAPM utilizado em componentes protéticos é de 5 000 00 g/mol e serão necessários mais de 10 dias para se completar a reptação à 180°C. Devido à impossibilidade de se despendem um tempo tão elevado durante o recozimento, alguma memória da resina permanecerá no PEUAPM processado. (COSTA *et al.*, 2002).

BRACCO *et al.* (2007) afirmaram que alguns estudos demonstraram que macrorradicais alquil têm muita mobilidade e seriam capazes de reagir com as imperfeições presentes no PEUAPM, em muito pequena quantidade. Estes resíduos de catálise Ziegler-Natta exibiriam um importante papel no processo radicalar da oxidação.

Segundo (LEE *et al.*, 2000; RIMNAC *et al.*, 2005; GENCUR *et al.*, 2003) a radiação gama produz radicais livres no PEUAPM que podem levar à ruptura da cadeia polimérica. Este fato se deve provavelmente à reação destes radicais livres produzidos, com o oxigênio do ambiente. Alterações nas propriedades mecânicas do PEUAPM, tais como diminuição na resistência à fadiga e a produção de partículas de desgaste ao redor do implante têm sido relacionadas à oxidação. O efeito destes debris e sua capacidade de estimular respostas inflamatórias que conduzem à osteólise tem sido foco de muitos estudos envolvendo macrófagos, monócitos, e estudos com animais. Também tem sido bem documentado em estudos sobre a interação polímero/célula que a oxidação da superfície polimérica tem efeito significativo na capacidade do material para elucidar diferentes respostas celulares.

O PEUAPM oxidado é um estado inerente que existe nas próteses articulares que utilizam este polímero como suporte. Assim sendo, estudos que investiguem a interação de partículas de PEUAPM com células e tecidos devem considerar o efeito desta superfície química em seus modelos, uma vez que a interação e a função celular são influenciadas

pelo estado de oxidação da superfície e pelos produtos de degradação liberados destes materiais (LEE *et al.*, 2000).

De acordo com COSTA *et al.* (2002) a oxidação de amostras de PEUAPM esterilizadas com radiação gama apresenta um perfil de oxidação onde o maior valor acontece imediatamente abaixo da superfície e diminui em direção ao centro do volume do material. Já amostras esterilizadas com gás etileno (EtO) têm oxidação máxima no centro do volume enquanto suas superfícies são menos oxidadas.

DALBORG *et al.* (2007) afirmaram em seus estudos sobre o perfil de distribuição da oxidação em amostras de PEUAPM, que em estágios iniciais da oxidação a carbonila apresenta baixos níveis de concentração, ao contrário do que ocorreria com os hidroperóxidos. Em estágios avançados de oxidação, encontraram elevados níveis de carbonila e níveis baixos de hidroperóxidos.

3.5.1 Oxidação e Cristalinidade

Segundo DALBORG *et al.* (2007) a cristalinidade de amostras irradiadas com raios gama é maior na mesma região onde ocorre a oxidação. A oxidação é menor na superfície do PEUAPM e aumenta para um máximo em torno de 2mm de profundidade do volume do material. A cristalinidade também diminui da superfície para o volume, seguindo a tendência da oxidação.

COSTA *et al.* (2002) estudando a oxidação do PEUAPM em próteses revisadas de quadril e esterilizadas com EtO afirmaram que o cálculo da cristalinidade através de dados obtidos do FTIR evidenciou um aumento da mesma na região onde ocorreu a oxidação. Os autores concluíram que as áreas de maior cristalinidade e de maior oxidação foram as mesmas. Neste estudo afirmaram ainda que a oxidação aparece como uma banda branca que é visível macroscopicamente, e que uma má consolidação destas amostras seria a sua provável causa. O surgimento de uma banda branca seria, então, o primeiro estágio de um processo de degradação que envolve algum tipo de rearranjo de moléculas. Em seguida ocorrerá uma mudança mensurável da cristalinidade e, finalmente, acontecerá a oxidação.

3.5.2 Fenômeno de surgimento da banda branca

A quebra de partículas de PEUAPM parece ocorrer antes da oxidação e pode-se assumir que este fato seja um pré-requisito para a degradação oxidativa. A quebra de partículas parece depender da forma do material, uma vez que ela não é distribuída aleatoriamente sobre a superfície de suporte do PEUAPM (COSTA *et al.*, 2002). O processamento por compressão produz menos tensão interna que o por injeção, mas sabe-se que os blocos moldados por compressão ainda assim apresentam tensão interna. Esta é a razão pela qual, nos últimos anos, os blocos de PEUAPM têm sido submetidos ao aquecimento antes de usinados. A etapa de usinagem é considerada uma importante fonte de distribuição de degradação. Se a cristalinidade altera com o tempo, então, sabe-se que se cria tensão na parte polimérica. Estes autores mostraram que a cristalinidade do PEUAPM recuperado de próteses de quadril foi alterada em algumas regiões onde não havia oxidação. Isto sugere que a cristalinidade aumenta não só como resultado da oxidação, mas também devido a algum outro fator. As partículas da superfície não quebraram em suas bordas e, então, nenhuma oxidação pôde ser encontrada. O oxigênio ultrapassa esta região enquanto difunde para o interior do PEUAPM. Uma explicação para a oxidação na área onde estas partículas quebram, é que há uma maior disponibilidade de oxigênio livre. Entretanto, este fato não é suficiente para possibilitar que o PEUAPM inicie a oxidação por si mesmo. Acredita-se que algum tipo de iniciação aconteça, provavelmente, decorrente dos radicais oriundos da ruptura de cadeias. Sabe-se, porém, que uma tensão muito elevada é requerida para romper uma cadeia polimérica. Um outro fator frequentemente mencionado como iniciador da oxidação é a presença de elementos catalisadores.

Estudos de BLAKEY e GEORGE (2001) sobre o alcance da oxidação em PEUAPM demonstraram que uma molécula reativa muito pequena seria a responsável pelo aumento da oxidação nas poliolefinas e propuseram que estas espécies originariam de uma depolimerização da cadeia polimérica. A partir das análises realizadas dos produtos de oxidação do PEUAPM recuperados de próteses de quadril os autores concluíram que a oxidação acontece de acordo com um comportamento termo-oxidativo normal, com

formação de hidroperóxidos secundários, cetonas e em menor extensão também para os ácidos e ésteres (COSTA *et al.*, 2002).

3.6 Relação Tipos de Implantes e Desgaste

JOHN INSALL (1973) desenhou o que se tornaria o protótipo das substituições articulares do joelho, o implante condilar total. Esse foi o primeiro desenho a incluir a substituição das três superfícies articulares do joelho: o fêmur, a tibia e a patela. O componente condilar e tibial metálico são comuns a todos os modelos usualmente cimentados. Um pedaço do PEUAPM é fixado ao platô tibial metálico e articula-se ao componente condilar femoral como ilustra a **Figura 3.6** (MILLER, 2005).

Nesse tipo de implante, a cartilagem gasta na superfície do fêmur, da tibia e da patela é substituída por próteses de ligas metálicas e de polietileno inseridas entre a articulação (fêmur e tibia). O PEUAPM suporta o peso do corpo e permite ao fêmur deslizar sobre a tibia provocando desgaste à longo prazo (AAOS, 2001).

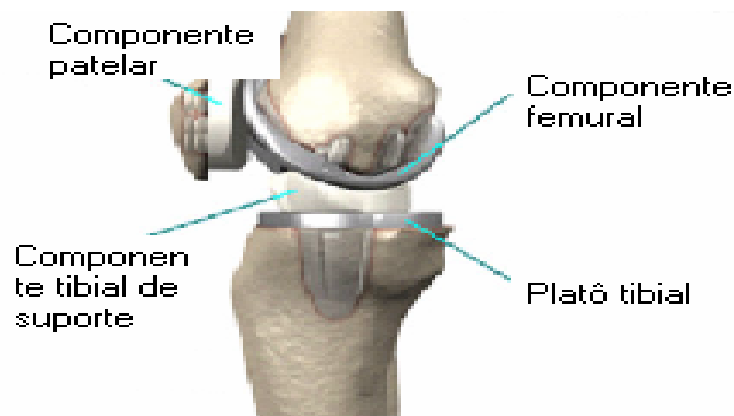


Figura 3.6: Modelo de implante condilar do joelho.
Adaptado da AAOS (2004).

Há mais de 2 décadas, novos modelos de próteses de joelho têm sido introduzidos. O componente modular, sistema que permite a conversão do modelo que mantém o ligamento cruzado posterior (LCP) para o modelo que o substitui e sistemas que incorporam a revisão do implante e instrumentação. Estes sistemas permitem maior flexibilidade ao cirurgião,

mas também introduzem problemas em potencial tais como desgaste da interface modular e menor atenção para as diferenças no balanceamento entre os modelos que mantêm o ligamento cruzado posterior e os que o sacrificam. Osteólises têm sido associadas com ambos os modelos; o que mantém ou substitui o LCP. O desenvolvimento da osteólise é multifatorial e inclui partículas de desgastes de superfícies não articulares em desenhos modulares, desgastes de superfícies articulares, pós-impacto com modelos que substituem o LCP, fixação por cimento e o polietileno. Desenho do implante e as variáveis cirúrgicas acentuam o potencial de geração de debris (CALLAGHAN *et al.*, 2004).

A geometria das superfícies de suporte influencia o grau de debris do PEUAPM gerado pela prótese. Desgaste do PEUAPM não somente estimula indiretamente a reabsorção do osso abaixo do platô tibial, mas também pode resultar num aumento da instabilidade da prótese de joelho e no carregamento excêntrico daquele suporte. Uma perda significativa de osso abaixo do suporte do platô tibial aumenta o risco de fratura desta estrutura. Osteólise é acelerada pelo PEUAPM de menor espessura ou com lesão, e pela presença de sinais de solicitações na prótese. A fratura do suporte tibial pode ser diminuída pelo uso de uma prótese bem projetada com PEUAPM de alta qualidade com pelo menos 8mm de espessura, um bom balanceamento dos ligamentos, e remoção de debris de terceiro corpo no final da cirurgia (CHATTERJI *et al.*, 2005).

Uma superfície de suporte de PEUAPM, lisa, plana e sem constrição, é mais predisposta ao desgaste rápido. Articulações planas permitem contato pontual e carregamento na borda, que resulta num esforço de contato muito elevado e excede o limite de resistência do PEUAPM levando ao desgaste excessivo da periferia. Nos implantes que preservam o LCP, o lado medial do PEUAPM parece ser a região de maior desgaste. Isto se deve ao fato do côndilo lateral ser mais elevado neste modelo de prótese e assim, submetendo o lado medial a um carregamento excêntrico e excessivo, ilustrado na **Figura 3.7**. Este fenômeno de elevação condilar e a cinemática anormal nas artroplastias do joelho tendem a promover o desgaste prematuro do PEUAPM (CHATTERJI *et al.*, 2005).

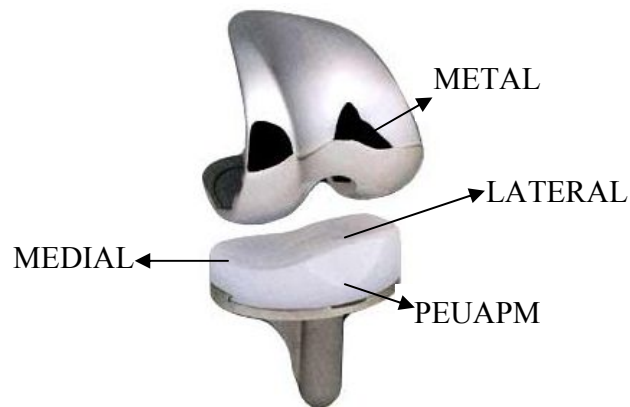


Figura 3.7: Modelo de implante condilar do joelho. Note a articulação tipo bola e soquete no lado medial e a articulação menos congruente no lado lateral.
Adaptado da AAOS (2004).

3.7 Caracterização

3.7.1 Caracterização Cristalográfica por Difração de Raios-X

Ao analisar os padrões de difração do polietileno é necessário conhecimento acerca da estrutura. O cristal de polietileno é apresentado em detalhes na **Figura 3.8**, onde os parâmetros a , b e c são os parâmetros do reticulado do PEUAPM. Trata-se de uma estrutura ortorrômbica com os lados a , b e c diferentes entre si e todos os ângulos entre os eixos do cristal são de 90° . O eixo c do cristal é paralelo ao eixo da cadeia de moléculas e o comprimento do eixo c da célula unitária é o comprimento associado com o monômero C_2H_4 (MANSUR, 2005; ROCHA *et al.*, 2006).

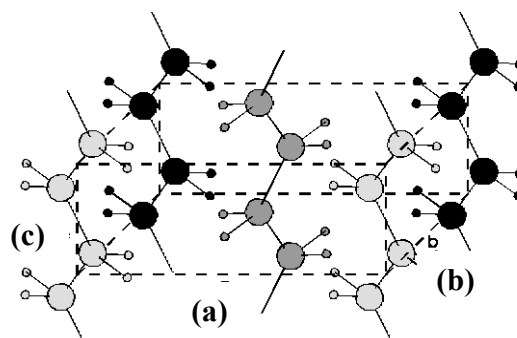


Figura 3.8: Célula unitária ortorrômbica simples representativa do PEUAPM.

A **Figura 3.9** apresenta características com padrões de difração compatíveis ao material semicristalino, não obstante a porcentagem de cristalinidade relativa ser de 50% (ROCHA *et al.*, 2006). A porcentagem média de cristalinidade esperada é de 45 a 60% (BAKER *et al.*, 2000; PRUITT, 2005).

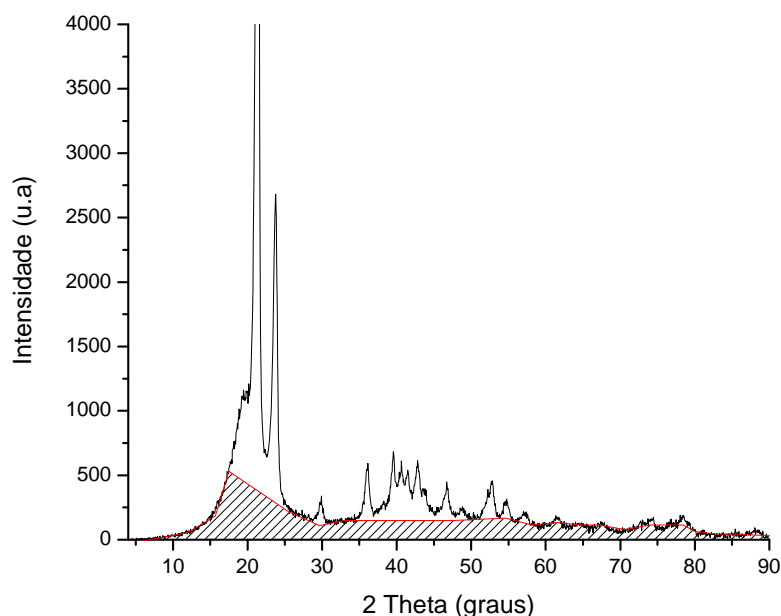


Figura 3.9: DRX do PEUAPM GUR 1020 (ROCHA *et al.*, 2006).

3.7.2 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

A Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier tem sido considerada um instrumento útil para o cálculo de variações da cristalinidade em amostras não homogêneas, onde uma elevada resolução espacial é requerida. O PEUAPM contém produtos de degradação tais como cetonas, grupos ácidos e ésteres, identificados pela espectroscopia de absorção de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). A oxidação torna o material frágil e com diminuição de suas propriedades mecânicas. Sendo assim, pesquisadores na área ortopédica focalizam na caracterização físico-química da degradação valendo-se de medidas de densidade, de calorimetria e de FTIR (MEDEL *et al.*, 2005).

SHIBATA e TOMITA (2005) obtiveram o índice de oxidação e de cristalinidade do UHMWPE, servindo-se da espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier.

As **Tabelas 3.2** e **3.3** apresentam síntese dos principais modos de vibração ao FTIR no PEUAPM.

Tabela 3.2: Modos de Vibração do FTIR para o PEUAPM

Grupo	cm ⁻¹	Referências
C-H	v 3000-2800	Coates (2000) Torrise <i>et al</i> (2004)
C-H	δ 1500-1300 v _{sim} C-H 2880-2865	Coates (2000) Torrise <i>et al</i> (2004)
-CH ₃	δ _{assim} C-H 1470-1430 δ _{sim} C-H 1470-1430 v _{assim} C-H 2935-2915	Coates (2000)
CH ₂	δ C-H 1485-1445	Coates (2000)
CH-	δ -(CH ₂) _n rocking 750-720 v C-H 2900-2880 δ C-H 1350-1330 ou 1370-1360	Coates (2000) Chappa <i>et al</i> (2005)
-CH ₃ especiais	Metoxi; metil éter O-CH ₃ ; v CH 2850-2815	Coates (2000)
C-C	1300-700 1640 e 965	Coates (2000) Torrise <i>et al</i> (2004)
C=C _v	1680-1320 1800-1700	Chappa <i>et al</i> (2005) Tretinnikov <i>et al</i> (1998)
O-H	v O-H polimérico 3400-3200	Coates (2000)
C-O-X	1150-1250	Tretinnikov <i>et al</i> (1998)
Anéis aromáticos	Acima 3000	Tretinnikov <i>et al</i> (1998)

Tabela 3.3: Identificação das principais bandas no FTIR

Localização da banda (cm ⁻¹)	Descrição
910	Grupo vinil terminal, relatado para reticulação e ruptura
965	Grupos trans-vinileno, relatado para reticulação
1303	Associada com região amorfa
1897	Associada com região cristalina
1700	Grupos carbonilas, relatado para oxidação

Fonte: Spiegelberg *et al.*, 1999.

Verificam-se estudos com o intuito de examinar o aparecimento de grupos radiolíticos encontrado no PEUAPM esterilizado e reticulado. O grupo mais frequentemente examinado é o grupo carbonila, associado à oxidação. A relação entre a reticulação e os produtos trans-vinilideno é conhecida há vários anos (TRETINNIKOV *et al.*, 1998; COATES, 2000; TORRISI *et al.*, 2004; CHAPPA *et al.*, 2005; BRACCO *et al.*, 2006).

SPIEGELBERG *et al.* (1999) afirmaram que pesquisadores encontraram uma relação linear entre o pico a 1897cm^{-1} e a cristalinidade, determinada por análises de Raios-X. Entretanto, os resultados são sensíveis à estrutura química do PEUAPM examinado, em particular a presença de cadeias ramificadas. As **Figuras 3.10** e **3.11** ilustram gráficos de FTIR do PEUAPM irradiado destacando-se picos de maior importância.

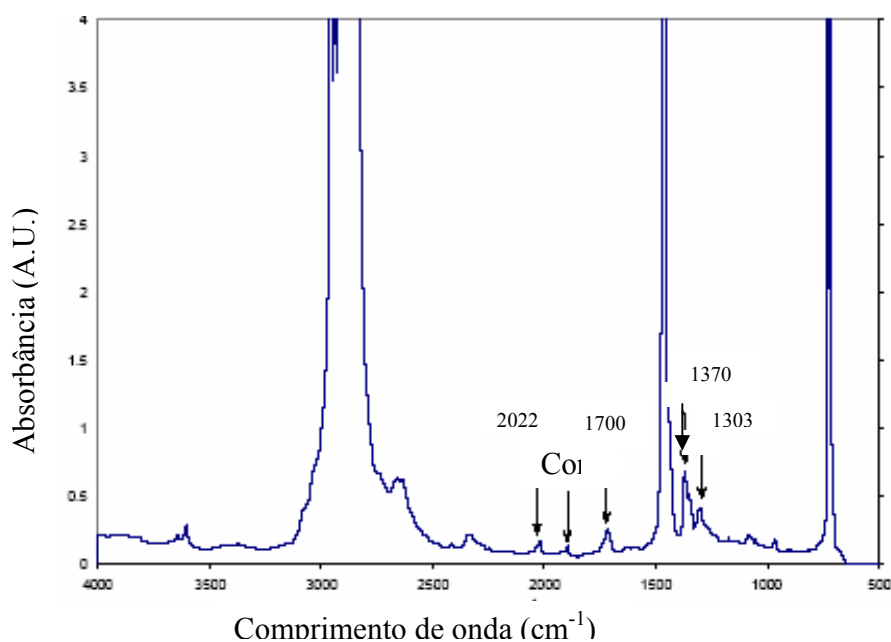


Figura 3.10: Gráfico de FTIR do PEUAPM irradiado a 15 Mrds e esterilizado por radiação gama em ar, com a indicação das bandas. Adaptado de SPIEGELBERG *et al.*, 1999.

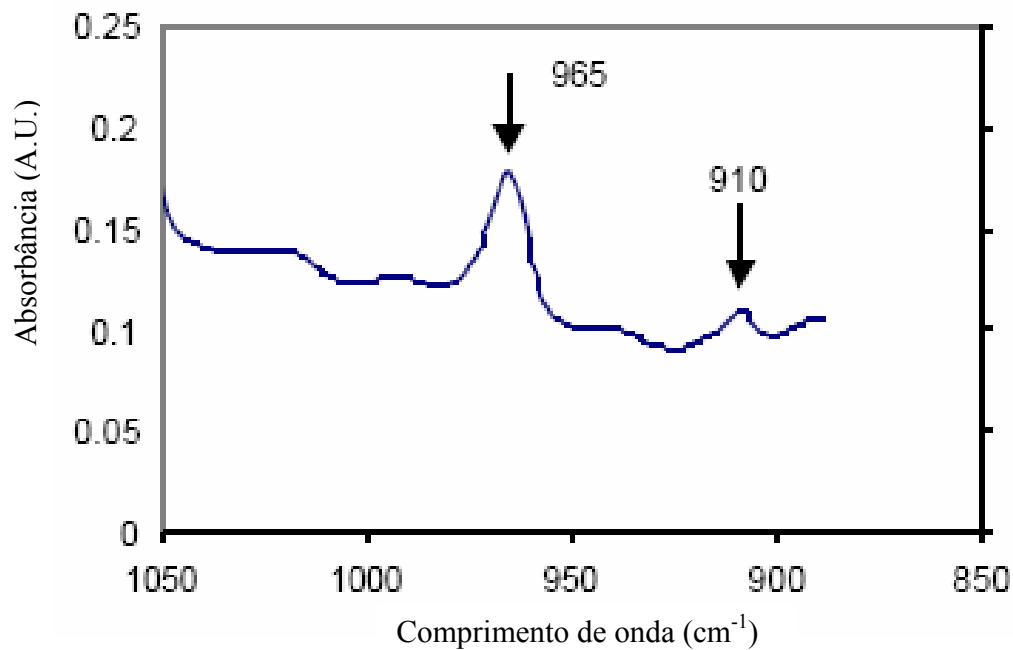


Figura 3.11: Bandas de interesse na região do espectro mostrado na figura 3.10. Adaptado de SPIEGELBERG *et al.*, 1999.

O índice de oxidação é definido como a razão da área sob vibrações da carbonila - variando de 1650 para 1850 cm^{-1} - e a área de absorvância do estiramento do metileno a 1370 cm^{-1} , **Equação 3.1**. O índice de cristalinidade é obtido da **Equação 3.2**, (BRACCO *et al.*, 2006; ORAL *et al.*, 2006; SHIBATA *et al.*, 2006; KURTZ *et al.*, 2006; CHAPPA *et al.*, 2005; WILLE *et al.*, 2002).

$$I_{Ox} = \frac{(1778 - 1689)\text{cm}^{-1}}{(1396 - 1330)\text{cm}^{-1}} \quad (\text{Eq. 3.1})$$

$$\% \text{ Cristalinidade} = \frac{A_{1896} / A_{1305} \times 100\%}{(A_{1896} / A_{1305} + 0,25)} \quad (\text{Eq. 3.2})$$

Onde A_{1305} é a banda de absorvância (obtido utilizando-se a linha base de 1370 para 1290 cm^{-1}) na região amorfa e A_{1897} a banda de absorvância (obtido utilizando-se a linha base variando de 1910 para 1870 cm^{-1}) na região cristalina, respectivamente.

Segundo (SPIEGELBERG *et al.*,1999; BRACCO *et al.*, 2007; DALBORG *et al.*, 2007), com o escopo de remover a interferência do tamanho da amostra nas análises do FTIR, pesquisadores normalizam a altura da banda ou a área da banda na vibração de interesse, com a banda de referência sendo insensível aos efeitos da radiação. Bandas de referências comumente usadas são a 1370cm^{-1} relativa ao estiramento do grupo CH_3 e 2022cm^{-1} , correspondente ao dobramento do grupo CH_2 .

Segundo KURTZ *et al.* (2006), o índice de oxidação pode ser calculado dividindo-se a área da banda de oxidação pela área da banda de normalização e o índice de trans-vinilideno é calculado dividindo-se a banda do trans-vinilideno pela área da banda de normalização. Nos cálculos, a área da banda de oxidação é a área integrada abaixo da banda da carbonila entre 1650 e 1850cm^{-1} . A área da banda do trans-vinilideno é a área integrada abaixo da banda vinil entre 950 e 980cm^{-1} .

WILLE *et al.* (2002) calcularam o índice de oxidação dividindo a área da banda da carbonila a 1740cm^{-1} , a absorbância C-O éster-carbonila a 1720cm^{-1} , C=O absorbância ceto-carbonila (limite de integração 1680 - 1780cm^{-1}), pela área da banda de vibração do metileno a 1370cm^{-1} (limite de integração 1330 - 1390cm^{-1}). Neste trabalho o percentual de cristalinidade foi medido usando FTIR e calculado pela comparação da área sob a vibração de 1897cm^{-1} , a fração cristalina, e a área sob a vibração de 1303cm^{-1} , a fração amorfa.

CHAPPA *et al.* (2005) selecionaram como referência a banda de absorbância do metileno a 1360 - 1370cm^{-1} , a qual depende da quantidade de material interceptado pelo feixe do infravermelho e é praticamente inalterada pela radiação, para comparações entre UHMWPE submetidos a diferentes modos de radiação. A normalização da banda de absorbância foi encontrada a 1367cm^{-1} .

CHAPPA *et al.* (2005) referem-se ao trabalho de TRETINNIKOV *et al.* (1998) o qual sugere que a vibração de estiramento a 1640cm^{-1} origina-se de locais insaturados contendo hidroperóxidos em posição α para grupos trans-vinilideno. A maioria dos produtos de

alterações químicas, induzida por radiação derivada do polietileno, possui bandas de absorção no espectro do infravermelho.

Os produtos de oxidação e ligações duplas citados por (TRETINNIKOV *et al.*, 1998) são relacionados:

- a) Ligações O-H (álcoois a $3420-3450\text{cm}^{-1}$, hidroperóxidos a $3380-3400\text{cm}^{-1}$, ácido carboxílico a $3100-3200\text{cm}^{-1}$) e espécies O-H (livres) com ligações não hidrogenadas (álcoois a 3600cm^{-1} , hidroperóxido a 3550cm^{-1});
- b) Espécies carbonilas (cetonas, ácidos, ésteres, etc.) a $1700-1800\text{cm}^{-1}$;
- c) Espécies C-O-X a $1150-1250\text{cm}^{-1}$;
- d) Produtos insaturados (C=C) a 1640 e $850-1000\text{cm}^{-1}$.

A compreensão do processo de ruptura da cadeia polimérica através da radiação utilizada para esterilizar o PEUAPM gera melhor interpretação do espectro do infravermelho, como ilustrado na **Figura 3.1**.

Um dos eventos radiolíticos durante a irradiação do PEUAPM é a formação de insaturação trans-vinil cuja presença pode ser quantificada pela banda de absorção à 965cm^{-1} no FTIR (TORRISI *et al.*, 2004; BRACCO *et al.*, 2006).

BRACCO *et al.* (2006) descreveram as alterações da radiação de alta energia com o UHMWPE. Segundo os autores, a interação da radiação de alta energia com o PEUAPM leva à ruptura das ligações C-C (reação 1) e C-H (reação 3) indicado na **Figura 3.12(a)** formando radicais H e macromoléculas primárias e secundárias.

Segundo BRACCO *et al.* (2006) somente macromoléculas secundárias podem ser detectadas; é assumido que no estado sólido macromoléculas primárias sofrem recombinação seguindo a reação 2. Macromoléculas secundárias levam a eliminação do hidrogênio por mecanismos intra (reação 5) e intermolecular (reação 6) **Figura 3.12(b)**, formando ligações duplas internas, ambas na fase amorfa e na fase cristalina.

Apesar de ser menos termodinamicamente favorável, a retirada de hidrogênio intermolecular é possível. A probabilidade de retirada de átomos H do PEUAPM diminui na ordem: alílico > terciário > secundário > primário, com uma razão de reatividade diretamente proporcional para a energia de dissociação de ligação, mostrada na **Tabela 3.4** (BRUNELLA *et al.*, 2007).

Formação de reticulação por desidrogenação entre duas macromoléculas secundárias (reação 7) **Figura 3.12(c)** têm sido sugerido em alguns estudos com a finalidade de explicar reticulação do polímero causada pela radiação, embora a reação seja bastante improvável em se tratando do polietileno no estado sólido, devido ao impedimento estérico.

Modelos de fase cristalina do PEUAPM apresentam a distância mínima entre dois átomos de C como ser de 5,6 Å, bem maior que o comprimento médio da ligação C-C (1,54Å). Sendo assim, a formação de H-reticulado é estericamente viável na fase cristalina.

Ligações duplas vinil são consumidas durante a irradiação quando elas reagem com macromoléculas secundárias, de acordo com a reação 8, a qual leva à formação de ramificações em forma de Y (Y-reticulado) **Figura 3.12(d)**.

Desde que o PEUAPM contenha na fase amorfa mais de um grupo vinil final por cadeia, a reação da primeira unidade vinil resulta em ramificações, enquanto as seguintes levam à reticulação. Logo, o grau de reticulação é dependente da quantidade de ligações duplas pendentes no polímero e da dose de absorção.

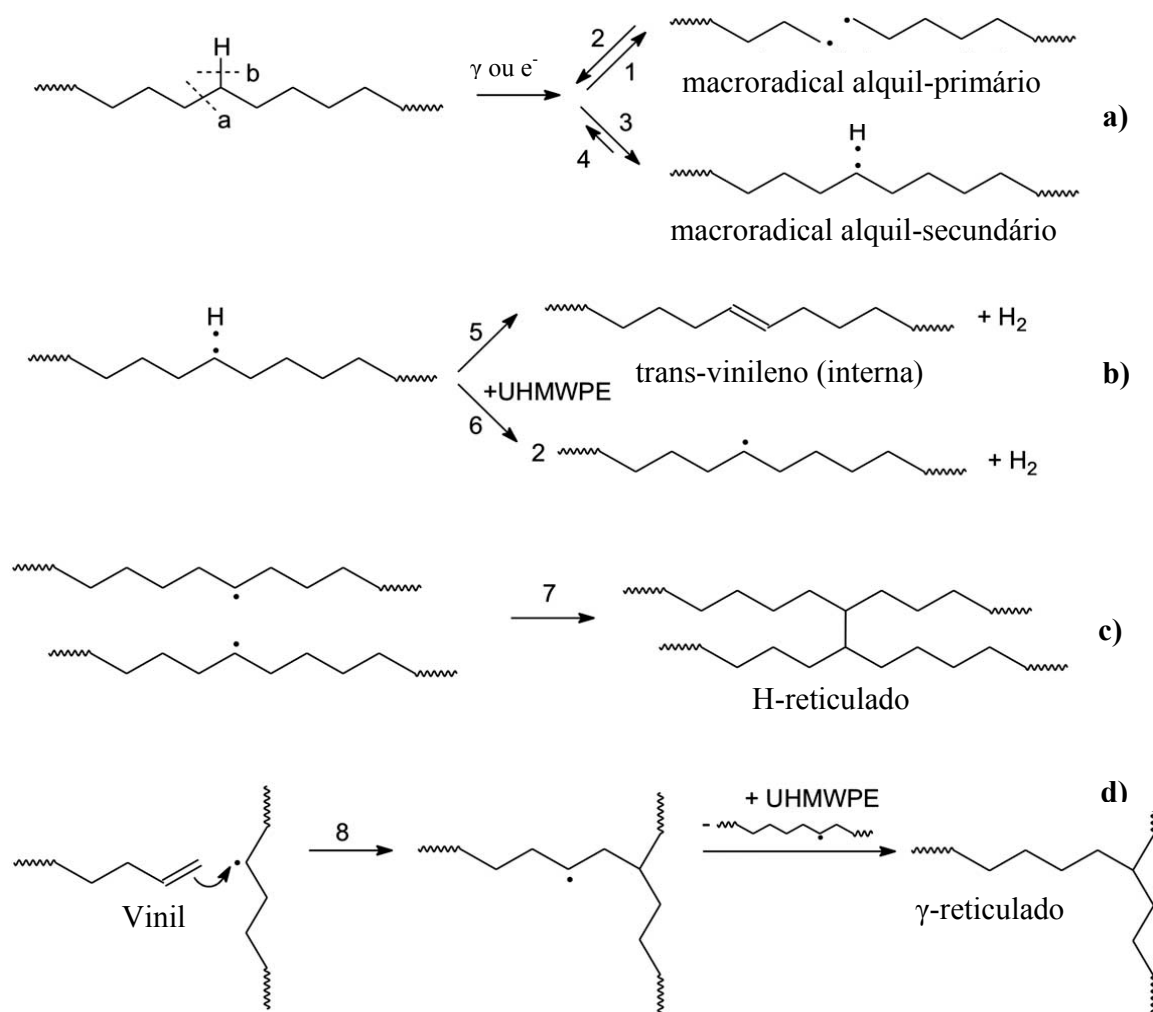


Figura 3.12: Mecanismo de interação de alta energia de radiação γ com o PEUAPM e a química da reticulação. Adaptado de BRACCO *et al.*, 2006.

Tabela 3.4: Energia de dissociação da ligação C-H por diferentes tipos de radicais.

Radical	Energia de dissociação da Ligação (kJ/mol)
CH ₃ CH ₂	422
CH ₃ CH·CH ₃	413
(CH ₃) ₃ -C·	397
CH ₂ =CHCH ₂ ·	359

Fonte: BRUNELLA *et al.*, (2007).

3.8 Espécies Ativas do Oxigênio

As espécies ativas de oxigênio (EAO) são caracterizadas por sua alta instabilidade eletrônica e capacidade de causar danos oxidativos em biomoléculas vitais como proteínas, DNA e lipídios (Bray *et al.* 2000; Larcher, 2000; Strohm *et al.* 2002; Apel & Hirt 2004).

As EAO são também produzidas nos seres aeróbios como produto de algumas vias metabólicas celulares, como por exemplo, respiração (Foyer & Noctor 2005). Tais processos ocorrem próximo à cadeia transportadora de elétrons localizada nas mitocôndrias. É estimado que mais de 2% do oxigênio consumido pela mitocôndria esteja envolvido na geração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Cakmak *et al.* 1993).

Outra via de formação de espécies ativas de oxigênio nas células é a redução tetravalente do oxigênio molecular à água, que requer quatro elétrons e pode gerar ao longo deste processo moléculas oxidativas, tais como o radical superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH^\cdot) e todas essas variações estão muitas vezes associadas a circunstâncias patológicas, incluindo reações inflamatórias. Este evento está mostrado na **Figura 3.13** e representado na **Equação 3.3**.

Diversas classes de moléculas são susceptíveis ao ataque de O_2 e acabam formando hidroperóxidos. Tais hidroperóxidos contribuem para a deteriorização e disfunção em células e membranas celulares.

Ao receber dois íons hidrogênio e um elétron, o radical superóxido se converte em peróxido de hidrogênio, cuja reação é catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD), conforme a **Equação 3.4**. Apesar do H_2O_2 ser uma molécula pouco reativa, ela pode ser considerada tóxica devido à sua capacidade de reagir com O_2^- , formando assim o radical hidroxila (OH^\cdot), que tem alto poder oxidativo. Essa reação é conhecida como Reação de Haber-Weiss- equação (**Equação 3.5**).

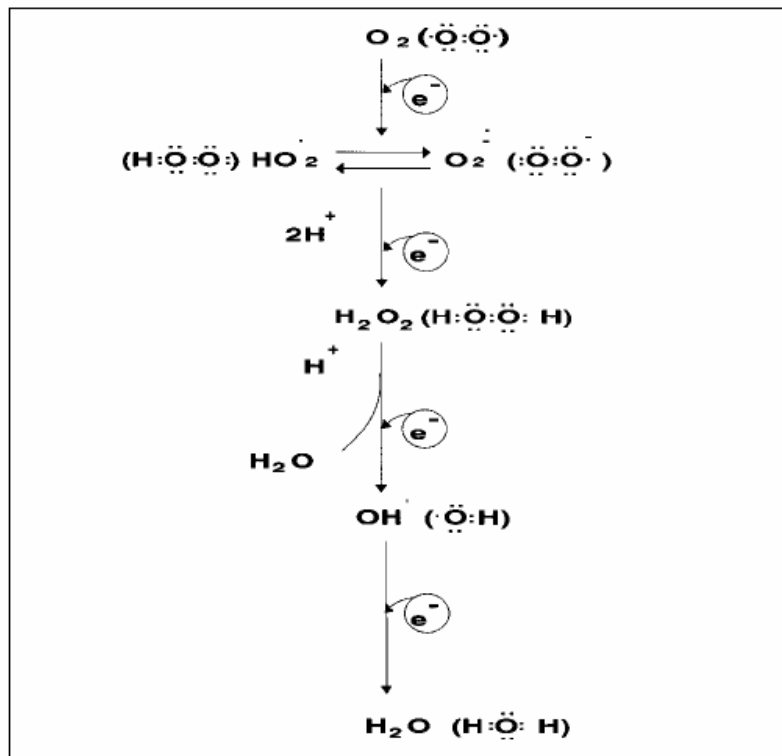
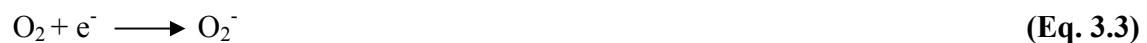


Figura 3.13: Redução tetraivalente do oxigênio molecular na mitocôndria até a formação de H_2O . Várias espécies reativas de O_2 são formadas no processo.

Fonte: FERREIRA *et al.* (2007).



3.8.1 Radical Superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$)

É formado após a primeira redução do O_2 . O radical superóxido ocorre em quase todas as células aeróbicas e é produzido durante a ativação máxima de neutrófilos, monócitos, macrófagos e eosinófilos. Apesar de ser considerado pouco reativo em soluções aquosas,

tem sido observado lesão biológica secundária a sistemas geradores de O_2^- (FERREIRA *et al.*, 2007).

3.8.2 Radical Hidroperoxila ($HO_2\cdot$)

Representa a forma protonada do radical superóxido. Existem evidências de que o hidroperoxila é mais reativo que o superóxido, por sua maior facilidade em iniciar a destruição de membranas biológicas.

3.8.3 Radical Hidroxila ($OH\cdot$)

É considerada a EAO mais reativa em sistemas biológicos. A combinação extremamente rápida do $OH\cdot$ com metais ou outros radicais no próprio sítio onde foi produzido confirma sua alta reatividade. É capaz de inativar várias proteínas ao oxidar seus grupos sulfidrilas (-SH) a pontes dissulfeto (-SS). Também pode iniciar a oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados das membranas celulares (lipoperoxidação).

3.8.4 Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2)

Apesar de não ser um radical livre, pela ausência de elétrons desemparelhados na última camada, o H_2O_2 é um metabólito do oxigênio extremamente deletério, porque participa da reação que produz o $OH\cdot$. O H_2O_2 tem vida longa, é capaz de atravessar camadas lipídicas, pode reagir com membrana eritrocitária e com proteínas ligadas ao Fe^{2+} . Assim, é altamente tóxico para a célula.

Cada vez é mais evidente o papel assumido do H_2O_2 no estresse oxidativo celular, quer como precursor de $OH\cdot$, a espécie radical diretamente responsável pela degradação de proteínas e do DNA, quer como agente oxidante do GSH (glutatião ou L-g-glutamil-L-cisteinil-glicina), principal tiol intracelular que participa direta ou indiretamente em numerosos fenômenos biológicos de vital importância para a célula. O H_2O_2 , não sendo um radical, trata-se de uma molécula estável e consegue difundir-se através das membranas biológicas. É formado por redução divalente do oxigênio molecular, por ação enzimática. A sua toxicidade pode ser direta ou indireta. De um modo direto, conduz à depleção do ATP,

do glutatião reduzido (GSH) e do NADPH, induz o aumento citosólico de Ca^{+2} livre (ativando, conseqüentemente, vários processos metabólicos dependentes do cálcio) e ativa algumas polimerases, conduzindo à morte celular. De um modo indireto, devido à quebra da ligação do peróxido por meio da reação de Fenton, conduzindo à formação do radical hidroxila. Por esta via induz a degradação de macromolecular: dos lipídios devido à peroxidação lipídica, dos açúcares devido à sua oxidação, proteínas devido à oxidação dos grupos tiol, e ácidos nucléicos devido à quebra da sua cadeia (MATOS *et al.*, 2005).

As EAO podem direcionar a produção de mais espécies reativas, particularmente através de processos endógenos, acontecendo em muitas células como conseqüência dos processos metabólicos. Também podem ser formadas pela exposição de células à radiação ionizante, pelo ciclo-redox químico presente no ambiente ou pela exposição a metais pesados (FERRONATTO *et al.*, 2006; FERREIRA *et al.*, 1997).

Apesar destes mecanismos, todos os organismos aeróbios estão continuamente expostos a oxidantes reativos, ocorrendo estresse oxidativo, onde a concentração destes oxidantes aumenta a capacidade de tamponamento antioxidante da célula. Por outro lado, os organismos aeróbios desenvolveram um sistema de defesas composto por uma série de substâncias antioxidativas, capaz de diminuir o poder oxidativo das EAO, garantindo sua sobrevivência ao longo do processo evolutivo. Entre as principais funções desse sistema, destaca-se a remoção de radicais livres, minimização na disponibilidde de pro-oxidantes como íons ferro e cobre e proteção de biomoléculas contra possíveis danos em suas estruturas (FERRONATTO *et al.*, 2006; FERREIRA *et al.*, 1997).

As células possuem sistemas de defesa enzimáticos e não enzimáticos para proteger seus constituintes celulares e manter o estado redox celular. Dentre os antioxidantes não enzimáticos pode-se citar a vitamina C e a vitamina E.

3.9 Substância Estabilizadora da Oxidação do PEUAPM

De acordo com ASTM F648-98, é proibido o uso de qualquer estabilizador ou antioxidante durante a fabricação do PEUAPM para aplicação em próteses. Todavia, mudança na ASTM 648 tornou possível a adição de antioxidantes, desde que sejam produtos apropriados aprovados pela Administração Federal de Alimentos e Medicamentos internacionalmente conhecida como *Food and Drug Administration* (FDA) (BRACCO *et al.*, 2004). A vitamina C é uma das substâncias possíveis por ser um produto natural, reconhecidamente seguro e aprovado mundialmente para o uso em alimentos e também no combate ao envelhecimento.

3.9.1 Ácido Ascórbico

Entre os antioxidantes solúveis em água, o ácido ascórbico (AsC), também conhecido como vitamina C (3-oxo-L-gulofuranolactona). É um ácido fraco, monobásico e um forte agente redutor. O ácido ascórbico é uma γ -lactona e está representado na **Figura 3.14** (DAVIES *et al.*, 1991).

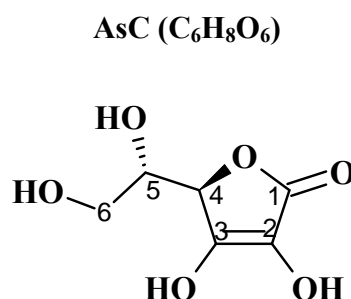


Figura 3.14: Fórmula estrutural da vitamina C. Adaptado de DAVIES *et al.*, 1991.

A sua natureza ácida em solução aquosa deriva da ionização do enol OH em C-3 (pKa 4,25) resultando em deslocamento do ânion ascorbato (AsC⁻) como mostra a **Figura 3.15**.

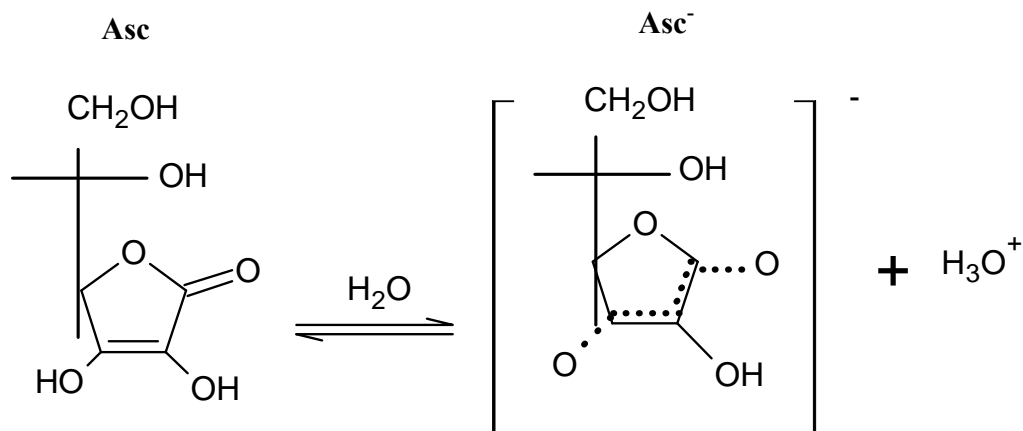


Figura 3.15: Primeira ionização do ácido L-ascórbico. Adaptado de DAVIES *et al.*, 1991.

O ácido ascórbico é um agente redutor e não pode diretamente promover oxidação. Entretanto, na célula a vitamina C pode ocorrer em várias diferentes formas, várias das quais, constituindo par redox, capaz de trazer ambos oxidação e redução de componentes de outros pares redox, dependendo do seu potencial redox relativo.

As várias formas fisiologicamente ativas de vitamina C estão representadas na **Figura 3.16**, mas não significando que todas as interconversões aconteçam *in vivo*. Sabe-se que ainda existe uma grande frustração com a incapacidade de se definir o verdadeiro papel bioquímico da vitamina C (DAVIES *et al.*, 1991).

O ácido ascórbico merece destaque especial devido a sua eficiente ação em capturar espécies ativas de oxigênio (EAO) na parte aquosa de célula, evitando assim o ataque às membranas lipídicas. É um agente antioxidante natural que, além da função de defesa, atua em sinergismo ou na regeneração da vitamina E, conhecida como α -tocoferol.

Segundo FERREIRA *et al.* (1997) a vitamina C é um antioxidante hidrossolúvel que pode neutralizar diretamente as EAO, porém, pode funcionar como pró-oxidante quando em dose elevada, ou quando exposta a metal levando à lipoperoxidação.

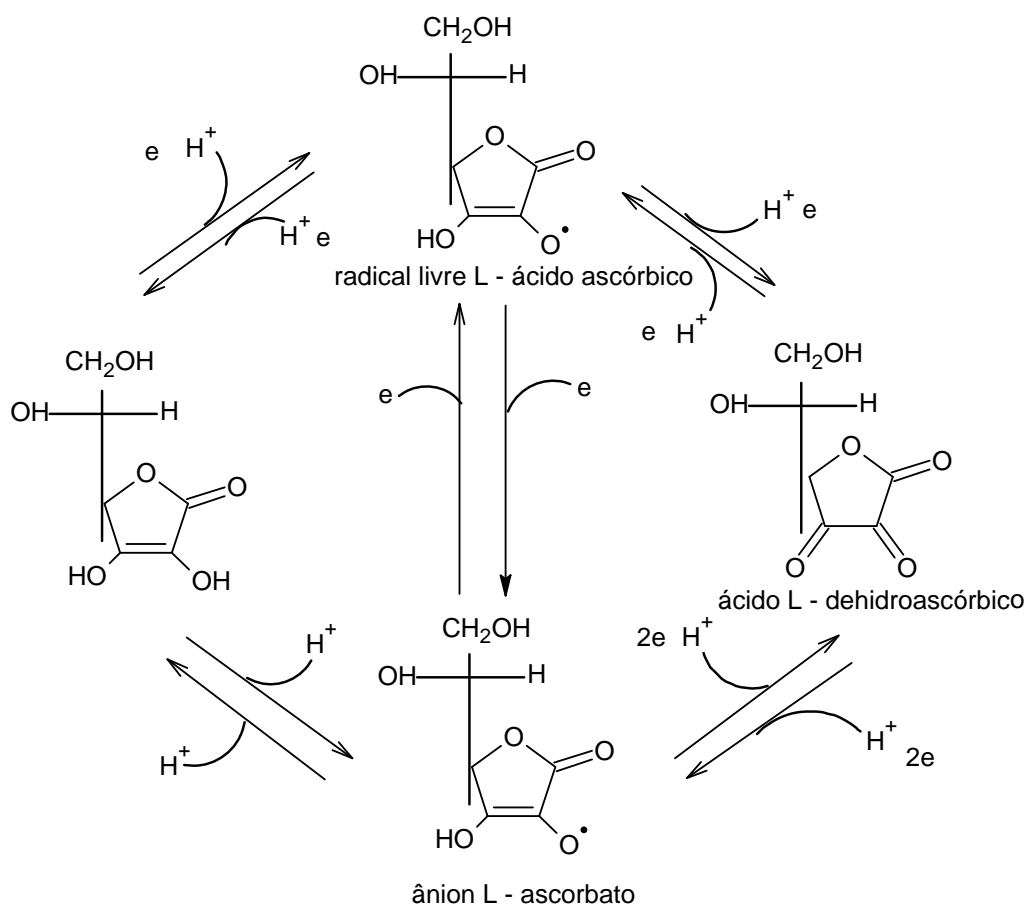


Figura 3.16: Interconversão das várias formas de vitamina C. Adaptado de DAVIES *et al.*, 1991.

3.9.2 Estabilidade Oxidativa

A atividade antioxidante é um parâmetro utilizado vastamente, em conjunto com outros, para caracterizar diferentes materiais. Esta atividade está relacionada com compostos capazes de proteger um sistema contra os efeitos danosos de processos ou reações que causam oxidação excessiva, envolvendo espécies reativas de oxigênio (FERRONATTO *et al.*, 2006).

Durante a medida da atividade antioxidante dois fatores devem ser levados em consideração. O primeiro é a eficiência do seqüestro do radical, que é determinada não apenas pela reatividade do antioxidante contra o radical, mas também pela sua concentração. O segundo fator está relacionado com o espectro de ação do antioxidante, por

sua vez modulado pela solubilidade: por exemplo, a vitamina C é um potente sequestrador de radicais hidrofílicos, mas não de radicais lipofílicos (FERRONATTO *et al.*, 2006).

Yoshida *et al.* (2003) afirmam que a potencialidade antioxidante de eliminadores de radicais *in vivo* é determinada por outros fatores como a localização, a concentração e a mobilidade no microambiente. A relativa atividade dos antioxidantes depende das condições experimentais e pode variar significativamente dependendo das condições de avaliação e dos métodos utilizado.

Segundo FERRONATTO *et al.* (2006) a atividade antioxidante *in vivo* é determinada por vários fatores, tais como sua reatividade frente ao radical, o número de radicais que consegue sequestrar, a destruição do radical gerado pelo antioxidante, a concentração e a mobilidade, a interação com outros antioxidantes e o sítio de geração e reatividade do radical.

O L-Ácido ascórbico é um potente agente redutor em solução aquosa, sendo que esta propriedade é muito menos evidente em meio não aquoso. O primeiro estágio de sua oxidação é prontamente reversível e forma o ácido dehidroascórbico (DHA). Este primeiro produto da oxidação ainda possui habilidade redutora, especialmente em solução alcalina, sendo degradativamente oxidado por, por exemplo, oxigênio molecular.

O DHA mostrou ser uma lactona, a qual se submeteu a uma lenta hidrólise para o ácido carboxílico estando em solução aquosa e, então, o processo redox poderia ser representado como mostra a **Figura 3.17**. O ácido ascórbico pode, de fato, ser oxidado para o seu L-ácido dehidroascórbico (DHA) por uma variedade de agentes oxidantes tais como o oxigênio molecular na presença de um catalisador (DAVIES *et al.*, 1991).

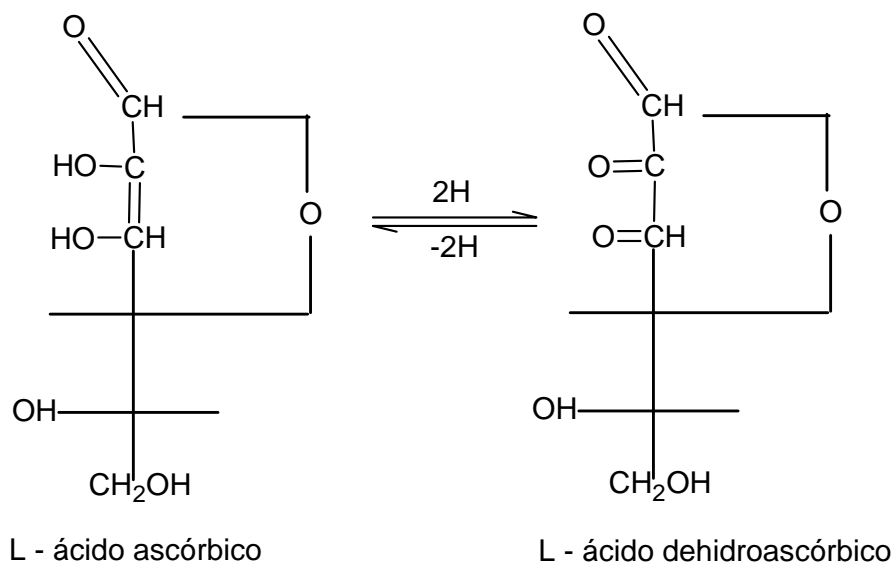


Figura 3.17: Interconversão do L-ácido ascórbico / L-ácido dehidroascórbico. Adaptado de DAVIES *et al.*, 1991.

3.9.3 Resposta Celular ao Implante

Macrófagos são componentes do sistema imune, fagócitos por excelência, envolvidos na apresentação de antígenos e na resposta imune inata. São capazes de produzir diversos produtos antimicrobianos, como radicais livres de oxigênio (num processo denominado explosão respiratória), óxido nítrico, citocinas e quimiocinas sendo que estas duas últimas são moléculas de sinalização para células do sistema imune. Determinam intensidade e duração das respostas. Derivados dos monócitos do sangue, estas células de tamanho relativamente grande estão presentes na maioria dos tecidos humanos.

Os neutrófilos, também conhecidos como leucócitos polimorfonucleados (PMN) devido ao formato característico de seu núcleo, são as células mais abundantes entre os leucócitos. Possuem meia vida curta (aprox. 6h no sangue e 1-2 dias nos tecidos) e grande capacidade fagocítica, além de secretarem citocinas, quimiocinas e moléculas antimicrobianas. Normalmente atuam como a primeira linha de defesa do corpo humano. Estas células estão representadas na **Figura 3.18**.

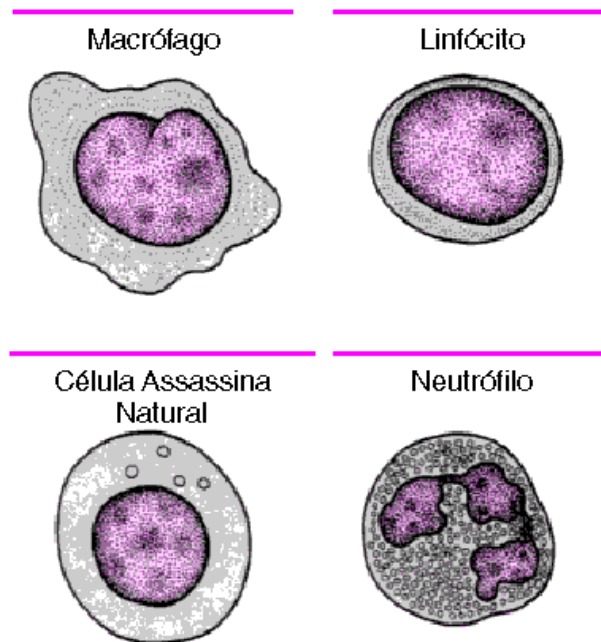


Figura 3.18: Morfologia de algumas células do sistema imune.

Como parte da resposta ao corpo estranho para implantes, os macrófagos são as células guardiãs que supervisionam e coordenam a resposta inflamatória, promovendo a cicatrização e a estabilidade do implante. A presença de debris na área perimplante leva a ativação e fagocitose destes debris pelos macrófagos os quais estimulam a liberação de uma variedade de mediadores como os radicais livres e o óxido nítrico, citocinas envolvidas no recrutamento de outras células inflamatórias para o local, tais como a proteína monócito quimiotática (MCP)-1, proteína macrófago inflamatória (MIP)-1 e também potentes mediadores da reabsorção óssea como a interleucina-1(IL-1), fator- α de necrose tumoral (TNF- α), prostaglandina E₂ (PG E₂) IL-6 (SETHI *et al.*, 2003). Após a implantação da prótese ocorre uma resposta inflamatória leucócito específica, mediada pela ativação de neutrófilos (85-90% de granulócitos), e este fenômeno é considerado a etapa chave no processo de cura. A adesão de neutrófilos e leucócitos na superfície artificial do PEUAPM através da camada protéica é fundamental na regulação das etapas da resposta inflamatória.

A **Figura 3.19** ilustra o esquema com as conseqüências da ativação de macrófagos pelos debris do UHMWPE na reação tecidual periférica (RENÓ *et al.*, 2006).

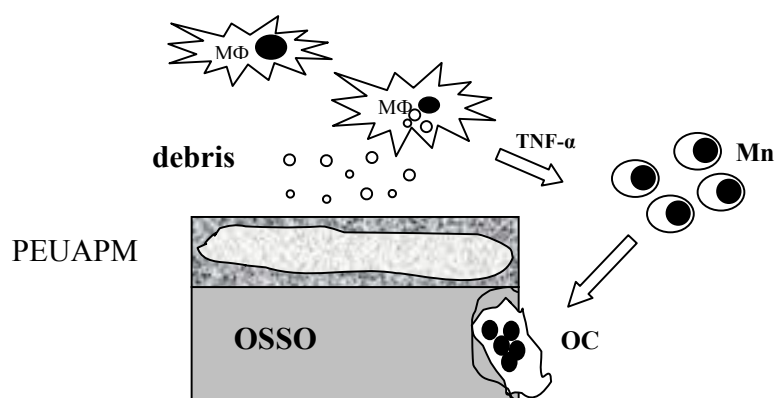


Figura 3.19: Esquema da consequência de ativação de macrófagos (MΦ) e produção de fator- α de necrose de tumor (TNF- α). Ativação de monócitos (Mn) pelos osteoclastos (OC) e início da reabsorção óssea ao redor da prótese. *Adaptado de RENÓ et al., 2006.*

De fato, após a adesão à superfície do biomaterial, podem ocorrer fagocitose, explosão respiratória e liberação de protease como a Gelatinase B ou MMP-9, promovendo assim, lesão nos tecidos periféricos. Além disto, muitos aspectos do processo inflamatório agudo e crônico são mediados pela liberação de oxidantes através da fagocitose, em função da sua habilidade em estimular a produção celular de citocinas. Durante o contato inicial entre o biomaterial implantado e o sangue, as proteínas adsorvem primeiro e plaquetas aderem à superfície de proteínas adsorvidas poucos segundos depois. Granulócitos polimorfonucleados (PMN) são encontrados na superfície do material depois de 10 minutos de exposição ao sangue e as células são ativadas em torno de 30 minutos após a esta exposição. Por isto, a ativação celular de granulócitos humanos é considerada um indicador para avaliar o risco de inflamação mediada por um biopolímero. O PMN pode tornar-se ativado diretamente através de alguns receptores ou através de mediadores derivados de plaquetas e produz espécies oxigênio reativas como parte desta ativação. Durante a explosão respiratória do PMN, íons superóxidos são gerados. Os metabólitos do oxigênio desempenham um importante papel na morte de microorganismos e são considerados moduladores de atividades celulares, tais como adesão celular e fagocitose. Evidências indicam que a superfície química do PEUAPM afeta a resposta inflamatória para o implante via adsorção seletiva de proteínas e ativação de receptores. A adsorção de proteína ocorre antes da adesão celular para a superfície implantada, e a natureza e a composição desta primeira camada de proteína adsorvida é de grande importância para a subsequente

ativação de PMN (SETHI *et al.*, 2003; RENÓ *et al.*, 2003; RENÓ *et al.*, 2004) usando fibroblastos, osteoblastos e células sanguíneas. Entretanto, poucos relatos existem sobre a ativação do PMN após contato com o PEUAPM (RENÓ *et al.*, 2003; SETHI *et al.*, 2003).

Dependendo dos diferentes processos de fabricação do polietileno, a reticulação do PEUAPM altera as ligações entre as cadeias moleculares, reduz a cristalinidade, altera o conteúdo de radicais livres do polímero e influencia significativamente a sua superfície e o seu volume. Não obstante estas mudanças nas características físico-químicas do polietileno, a resposta inflamatória do PEUAPM reticulado é ainda desconhecida. Acredita-se que pequenas alterações químicas não sejam suficientes para elucidar diferenças na responsividade dos macrófagos. Enquanto partículas não fagocitáveis são menos comuns nas próteses de quadril, nas próteses de joelho elas já são constantes em virtude da geração de debris de tamanhos maiores. Estes debris maiores são observados dentro das células gigantes do corpo estranho e é uma característica marcante da histopatologia ao redor da prótese de joelho (SETHI *et al.*, 2003).

3.10 Produção de Óxido Nítrico por Macrófagos

O modo como os macrófagos respondem ao biomaterial é dependente do tamanho do material. Partículas de material com dimensões menores que um único macrófago nucleado (normalmente em torno de 10µm de diâmetro) podem ser fagocitadas. Grandes partículas (entre 10µm e centena de micrometros) que são além da capacidade de fagocitose do macrófago, podem ser englobadas por células gigantes multinucleares ou células gigantes de corpo estranho. Materiais volumosos como aparelhos médicos, tais como, pinos, placas, suturas ou implantes de membranas formarão células gigantes de corpo estranho que se unirão à superfície do material e ficarão na superfície por toda vida útil do implante (JÚNIOR, 2008).

Os macrófagos também têm um papel importante na regeneração de tecidos. Os macrófagos secretam um espectro de citocinas e fatores de crescimento para regular o recrutamento, proliferação e a diferenciação celular que conduz a efetiva regeneração do tecido e a angiogênese. Mais recentemente, foi mostrado que macrófagos ativados por

citocinas liberadas por células T “*helper*” 1, produzem óxido nítrico (*nitric oxide* – NO) molécula gasosa que atua inibindo a respiração mitocondrial, a síntese de DNA e a atividade da enzima aconitase do ciclo de Krebs (JÚNIOR, 2008). Trata-se de um gás incolor, de meia vida média entre 3 e 60 segundos, moderadamente solúvel em água (semelhante ao oxigênio), que atravessa livremente membranas celulares (Coleman, 2001; Cerqueira & Yoshida, 2002). Sua molécula possui um elétron não pareado que reage facilmente com oxigênio, radicais superóxido e metais de transição (Cerqueira & Yoshida, 2002).

Sua síntese nas células de mamíferos acontece através da ação de uma enzima denominada Óxido Nítrico Sintase (NOS), que quebra a L-arginina em NO e L-citrulina, utilizando o oxigênio e NADPH, flavinas e outros cofatores gerando um produto intermediário, a L-hidroxiarginina. Esta última sofre outra reação de oxidação produzindo a molécula de NO e uma citrulina (JÚNIOR, 2008). A NOS pode ser encontrada em 3 isoformas (Cerqueira & Yoshida, 2002):

- nNOS – Óxido nítrico sintase neuronal. É constitutiva, encontrada em neurônios, células epiteliais, músculo esquelético, entre outros. Atua na regulação central da pressão sanguínea, no relaxamento dos músculos lisos e nos processos de vasodilatação.
- iNOS – Óxido nítrico sintase induzida ou indutível. É a única isoforma que não é constitutiva. É formada na membrana das células a partir de estímulos de citocinas e lipopolissacáride (LPS). Pode ser formada em células endoteliais, músculo liso vascular e células inflamatórias. Produz grande quantidade de NO. Atua contra parasitas e células tumorais e é associada a condições patológicas pelo alto volume de NO que produz.
- eNOS – Óxido nítrico sintase endotelial. É constitutiva e produz NO em níveis basais, mas pode ter esta produção alterada em resposta ao fluxo sanguíneo. Regula pressão sanguínea e contratilidade do músculo cardíaco. Expressa apenas em células endoteliais e em fibroblastos.

O NO possui um alto poder citotóxico, exibindo atividades citostáticas (inibe enzimas contendo ferro) e citocida (causa fragmentação do DNA) contra um amplo espectro de microrganismos patogênicos, mas também possui um importante papel regulatório e

protetor no organismo, sendo sua ação dependente da concentração em que é produzido (Cerqueira & Yoshida, 2002; Coleman, 2001).

Além desses papéis o NO media vários fenômenos, como vasorrelaxamento dependente do endotélio, citotoxicidade mediada por macrófagos, inibição da ativação, adesão e agregação plaquetária, relaxamento do corpo cavernoso peniano humano, regulação da pressão sanguínea basal, depressão sináptica em longo prazo, potencialização da transmissão sináptica em longo prazo, microcirculação medular e glomerular e prevenção de piloroespasmo em estenose pilórica hipertrófica infantil. A atividade do NO foi relatada em endotélio, cerebelo, nervos não adrenérgicos não colinérgicos, macrófagos, neutrófilos, rins, células epiteliais pulmonares, mucosa gastrintestinal e miocárdio.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

A **Figura 4.1** apresenta o fluxograma para o estudo da degradação oxidativa do PEUAPM em aplicações biomédicas.

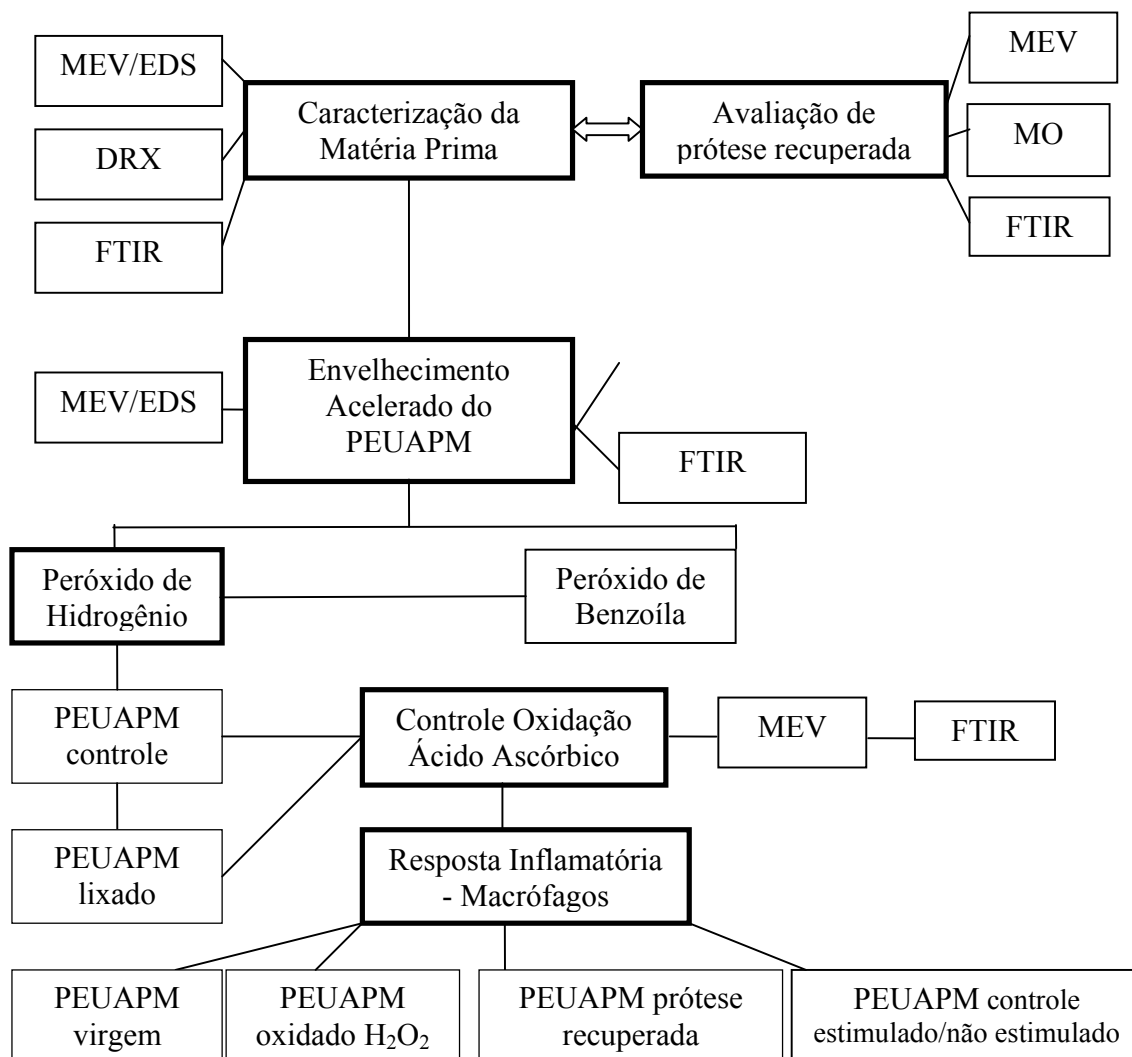


Figura 4.1: Fluxograma do procedimento experimental.

4.1 Materiais e Métodos

O polietileno de peso molecular ultra-elevado (PEUAPM) utilizado neste estudo é um material comercial, GUR 1020, doado pela Ticona Engineering Polymer (Estados Unidos),

recebido em forma de tarugo retangular, 22,5cm x 9,5cm x 9,0cm. Suas propriedades são apresentadas na **Tabela 4.1** conforme dados fornecidos pelo fabricante.

Tabela 4.1: Propriedades do PEUAPM fornecidas pelo fabricante.

<i>PEUAPM</i>	
Tipo de Resina	GUR 1020
Fabricante	Ticona
Método de fabricação	Extrusão
Massa molar média [g/mol * 10 ⁶]	5,166 a 5,415
Cristalinidade; DSC, (1 st , 20°C-160°C) [%]	66,89 a 70,23
Densidade [Kg/m ³]	934
Limite de Escoamento [MPa]	>23
Tensão na Ruptura [MPa]	>52
Alongamento até a ruptura [%]	>460
Módulo de Young [MPa]	>575
Temperatura de fusão DSC, 10K/min [°C]	137,5
Índice de oxidação da superfície e do volume; material armazenado 1 ano em ar (ASTM F2101-01)	0,00

Fonte: Ticona Engineering Polymer.

A amostra controle (PEUAPM), aquela que não foi submetida a nenhuma forma de irradiação, de tratamento térmico ou inibida com antioxidantes, foi denominada grupo controle. As amostras que apresentaram falhas (PEUAPM-Re) e que foram obtidas de revisão cirúrgica, foram doadas por cirurgiões ortopédicos especialistas em artroplastia total de joelho de diferentes serviços hospitalares de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

A história clínica dos pacientes não foi fornecida, porém o principal motivo da falha das próteses foi por infecção e afrouxamento. Estima-se que a vida útil das próteses implantadas foi em torno de 2 anos, sendo revisadas em 2001. Portanto, estima-se a durabilidade aproximada de 10 anos do PEUAPM_Re em estudo.

A **Tabela 4.2** resume como as amostras serão referenciadas ao longo do texto, conforme o tipo de tratamento recebido.

Tabela 4.2: Tabela de nomenclatura abreviada das amostras.

PEUAPM	Nomenclatura adotada neste estudo
Controle	PEUAPM
Recuperado	PEUAPM_Re
Oxidado	PEUAPM_Ox
Lixado e oxidado	PEUAPM_600
Inibido com ácido ascórbico	PEUAPM- C
Lixado e Inibido com ácido ascórbico	PEUAPM_600C

4.2 Confeção dos Corpos de Prova

Para as análises, foram preparadas lâminas em triplicata do PEUAPM, de espessura variando de 150 μ m-250 μ m, obtidas horizontalmente a partir da superfície do PEUAPM até uma profundidade de 0,5-2,0mm. A espessura das amostras foi avaliada por um micrômetro Mitotoyo (\pm 10 μ m). Depois de selecionadas, as lâminas foram mantidas em agitação na lavadora ultra - sônica com etanol seguido por água destilada durante 20 minutos, secas em ar e conduzidas para análises.

4.3 Caracterização do PEUAPM controle

O fluxograma da **Figura 4.2** refere-se aos procedimentos utilizados para a caracterização do PEUAPM controle seguindo o caminho 1 (R1).

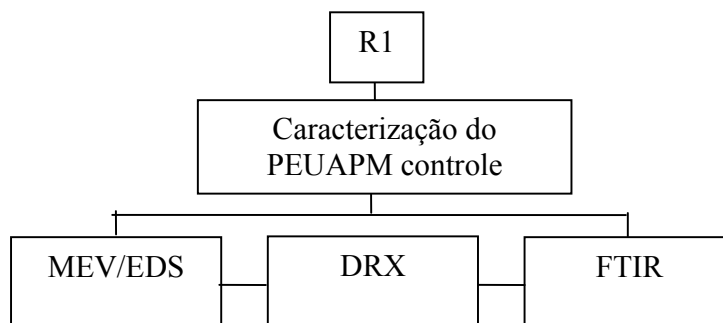


Figura 4.2: Fluxograma do caminho 1 (R1) seguido para a caracterização do PEUAPM.

Para a caracterização do PEUAPM por Difração de Raios-X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), as amostras foram preparadas de maneiras distintas.

Para a DRX blocos retangulares ($n=1$) com dimensões de 1,0cm x 1,0cm x 1,7cm foram obtidos horizontalmente do centro do tarugo (9,5cm x 9,5cm x 9,0cm) de PEUAPM a distâncias de 0cm, 1cm, 2cm, e 3cm a partir de sua superfície externa A e B, ilustrado na **Figura 4.3**.

Estas distâncias foram selecionadas a fim de que as análises alcançassem diferentes regiões até o volume do PEUAPM. Para as análises de MEV e FTIR, obtive-se lâminas em triplicata do PEUAPM, de espessura 150 μ m-250 μ m.

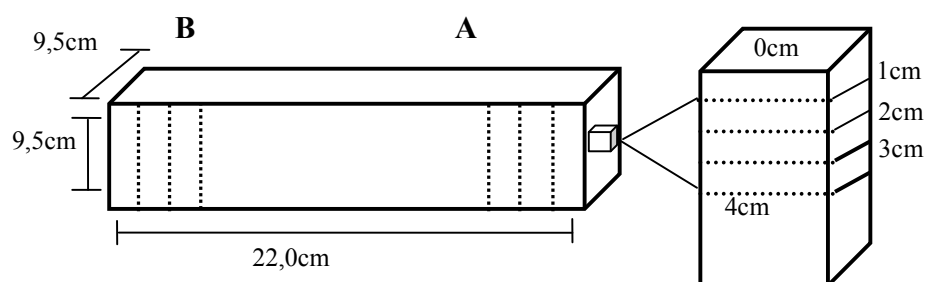


Figura 4.3: Desenho ilustrativo das regiões do GUR1020 analisadas por DRX.

A estrutura cristalográfica das amostras foi investigada por difratometria de raios-X realizada no Difrator Philips, modelo PW1710 utilizando radiação $\text{CuK}\alpha$ e cristal monocromador de grafita. A varredura foi realizada na faixa de 2θ compreendida entre 4 a 90° e passo de 0,6°. Depois de feita a leitura, a amostra foi girada a 90° e feito nova leitura a fim de se analisar a textura do material na difração de raios-X.

A cristalinidade das amostras foi calculada a partir dos difratogramas obtidos. Inicialmente foi escolhida a região que continha a maior parte dos picos (0°-85°). Em seguida, traçou-se uma linha reta entre os ângulos limites escolhidos, definindo o background. As regiões consideradas amorfas e cristalinas foram então separadas, através de uma linha que conecta os mínimos entre os picos correspondentes às reflexões cristalinas e que apresenta a forma

que seria esperada se o material fosse completamente amorfo. Através da integração das áreas entre estas curvas e o background foi possível estimar a cristalinidade das amostras. O cálculo da cristalinidade foi feito a partir da razão da área da região cristalina com a área total do gráfico, utilizando o programa Origin®, versão 7.0.

Utilizou-se o seguinte procedimento no cálculo da porcentagem de cristalinidade:

- Calculou-se separadamente a área da linha de base e a área total do gráfico;
- Dividiu-se a área da linha de base pela área total e multiplicou-se por 100 com a finalidade de se encontrar o conteúdo amorfo;
- Subtraiu-se de 100 a porcentagem de conteúdo amorfo, obteve-se o valor da cristalinidade em percentuais.

Imagens e análises químicas semi-quantitativas foram realizadas através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplada com espectroscopia de energia dispersiva de Raios-X (EDX).

A caracterização por espectroscopia de infravermelho foi feita na região do infravermelho médio com número de onda entre 650cm^{-1} a 4000cm^{-1} , pelo método de transmissão, com resolução de 4cm^{-1} e 64 varreduras por espectro (Spectrum 1000, Perkin Elmer). As bandas selecionadas para as análises foram em 1305cm^{-1} relatada para a região amorfa e em 1896cm^{-1} correspondente à região cristalina.

O índice de cristalinidade foi obtido da **Equação 4.1**, de acordo com BRACCO *et al.*, 2006):

$$\% \text{ Cristalinidade} = \frac{A_{1896} / A_{1305} \times 100\%}{(A_{1896} / A_{1305} + 0,25)} \quad (\text{Eq. 4.1})$$

Onde, A_{1305} é o pico de absorvância (obtido usando a linha base de 1370 para 1290cm^{-1}) na região amorfa e A_{1897} o pico de absorvância (obtido usando a linha base variando de 1910 para 1870cm^{-1}) na região cristalina, respectivamente.

4.4 Caracterização de Prótese Recuperada

O fluxograma da **Figura 4.4** ilustra o caminho 2 (R2) com os procedimentos utilizados para a caracterização do PEUAPM-Re.

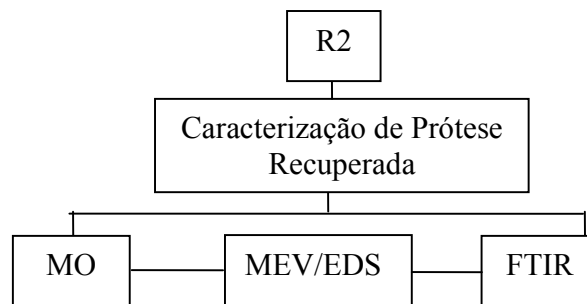


Figura 4.4: Fluxograma do caminho 2 (R2) seguido para a caracterização do PEUAPM-Re.

Para as análises amostras (n=1) do PEUAPM-Re foram obtidas de prótese falha recuperada onde as regiões de maior solicitação, referentes ao processo oxidativo, foram selecionadas para análises morfológicas e semiquantitativas com estereomicroscópio (MO), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia no infravermelho (FTIR).

As regiões analisadas póstero-medial interna (1) e póstero-medial externa (2) da superfície superior do UHMWPE estão ilustradas na **Figura 4.5**. A região póstero-medial interna da superfície inferior do polietileno foi analisada, porém não está demonstrada.

A observação visual da peça com o auxílio de um Estereomicroscópio Binocular da marca Opton modelo TIM-30, em aumentos de 20X e 40X, foi obtida com o intuito de identificar a presença de vestígios de usinagem, sinais de degradação e alteração de coloração.

Análises químicas semi-quantitativas do PEUAPM_Re foram obtidas através de microscopia eletrônica de varredura acoplada com espectroscopia de energia de elétrons. A investigação foi realizada sobre lâminas do PEUAPM-Re sem recobrimento para melhor identificação dos elementos químicos presentes.

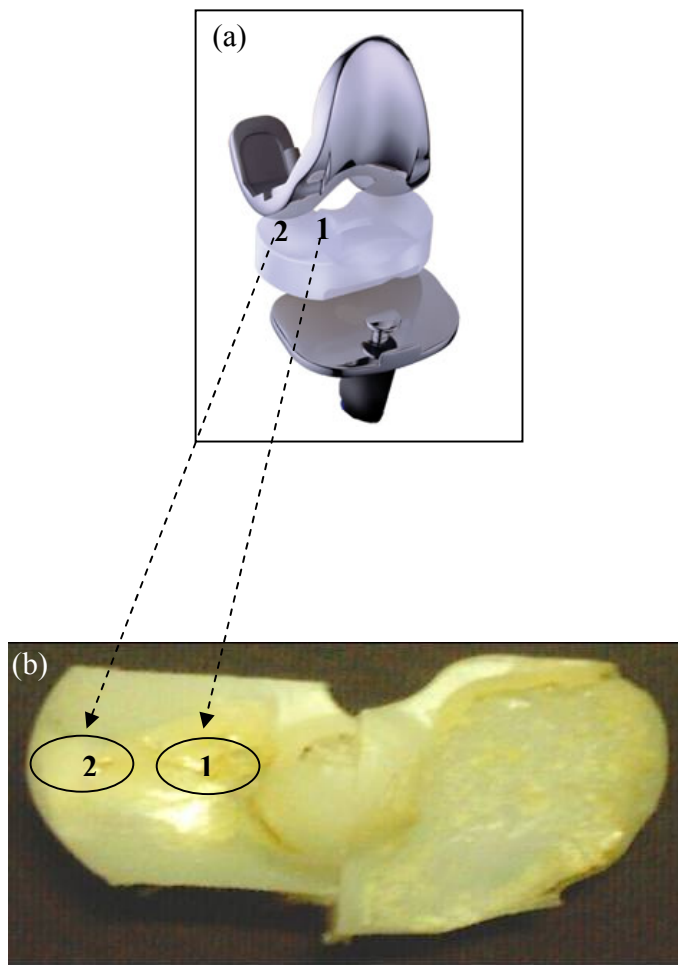


Figura 4.5: Esquema do PEUAPM-Re com destaque para as regiões analisadas (1) superior posterior-medial interna e (2) superior posterior-medial externa.

Para as análises de FTIR, lâminas de espessura em torno de 150-250 μm obtidas horizontalmente a partir da superfície do PEUAPM-Re. Foram analisadas a superfície externa a 0-0,5mm de profundidade, e a sub-superfície a 1-2mm, como esquematizado na **Figura 4.6**.

A caracterização por espectroscopia de infravermelho foi feita na região do infravermelho médio com número de onda entre 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} , pelo método de transmissão, com resolução de 4 cm^{-1} e 64 varreduras por espectro (Spectrum 1000, Perkin Elmer).

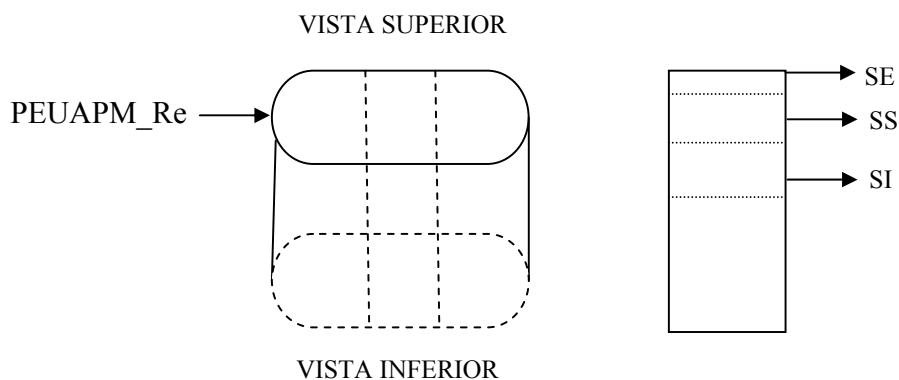


Figura 4.6: Esquema de corte da superfície externa (SE), subsuperfície (SS) e superfície interna (SI) do PEUAPM_Re.

4.5 Envelhecimento Acelerado do PEUAPM

O fluxograma da **Figura 4.7** ilustra os procedimentos para a obtenção da oxidação do PEUAPM. Foram utilizados os seguintes reagentes:

- Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) – (30% v/v) - Synth.
- Peróxido de Benzoíla ($C_{14}H_{10}O_4$) – (98%) e (25%) de água - Vetec.
- Acetona (CH_3)₂ CO - (99,5%) – Synth.
- Etanol (CH_3CH_2OH) – (95%) - Synth.

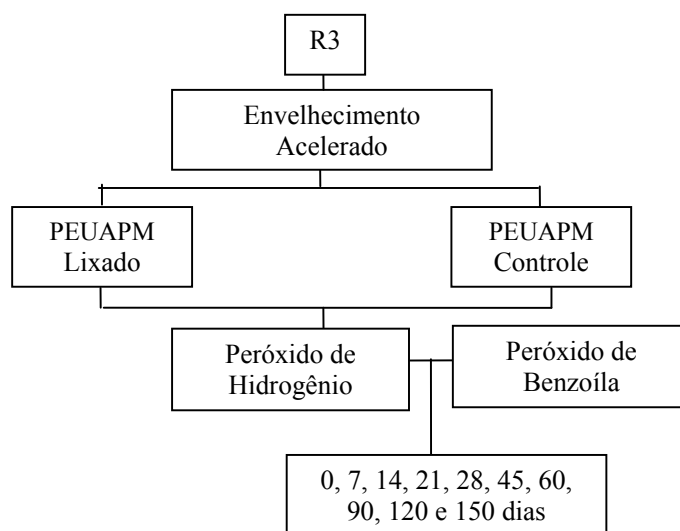


Figura 4.7: Fluxograma do caminho 3 (R3) seguido para a obtenção da oxidação do PEUAPM.

Lâminas em triplicata do PEUAPM foram submetidas ao ataque químico com diferentes oxidantes, sendo divididas em 2 grupos: o grupo 1 imersas em 30mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 30% v/v) e o grupo 2 imersas em 30 mL de solução acética de peróxido de benzoíla (PB 5% m/v).

As amostras controle foram imersas em 30mL de água destilada. Todas as amostras ficaram incubadas em banho a 37°C por tempos de 7, 14, 21, 28 e 60 dias. A reposição da solução foi feita a cada 5 dias a fim de garantir o poder oxidante dos reagentes. Completado o tempo de oxidação, as amostras foram lavadas em álcool e água destilada por 20 minutos, secas em ar ambiente e conduzidas para análises em FTIR.

Após cálculos do índice de oxidação do PEUAPM, a solução de peróxido de hidrogênio foi selecionada como o oxidante padrão da nossa pesquisa pelo seu maior poder oxidante nas condições experimentais.

O estudo da oxidação foi então conduzido até 150 dias com as lâminas do PEUAPM imersas em solução de H_2O_2 30% v/v.

Para o preparo das soluções foram adotados os seguintes procedimentos:

- Solução de Peróxido de Hidrogênio.

Mediu-se 100 mL de peróxido de hidrogênio como recebido em uma proveta e em seguida acrescentou-o a um béquer contendo as amostras de PEUAPM. O recipiente foi tampado com papel filme e armazenado em banho a 37°C.

- Preparo de 100mL de Solução Acética de Peróxido de Benzoíla a 5%

A solução de 5% em peso de peróxido de benzoíla (PB) em acetona foi preparada em frasco volumétrico. Assim, 6,8 g de PB foram dissolvidos em 100mL de acetona. Para preparar a solução de PB, usou-se um balão volumétrico que foi preenchido até a metade com acetona

e adicionou-se 6,8 g de PB vagarosamente e sob agitação lenta. Depois de garantido que todo PB estivesse dissolvido, completou-se o balão volumétrico com acetona e agitou-se para garantir a homogeneidade da solução. Para garantir o poder oxidante, a solução foi preparada e utilizada em seguida. Acrescentou-se 30 mL da solução em frascos erlenmeyer juntamente com as amostras de PEUAPM e foram armazenados em banho a 37°C.

4.5.1 Envelhecimento Acelerado do PEUAPM com superfície modificada

O aumento da rugosidade da superfície do PEUAPM foi obtido com o intuito de se avaliar o comportamento da degradação oxidativa do PEUAPM frente à maior densidade de defeitos. Blocos 1cm x 1cm do PEUAPM foram submetidos à modificação mecânica de suas superfícies através de lixamento com lixa d'água 600. Na seqüência, obteve-se lâminas em triplicata da superfície (0,5-2mm) do PEUAPM_600 com espessuras variando de 150-250µm.

As lâminas foram submetidas ao envelhecimento acelerado em peróxido de hidrogênio por período de 21, 28, 45, 60 e 90 dias. Os procedimentos de preparo da modificação da superfície do PEUAPM estão mostrados no fluxograma do caminho 4 (R4) da **Figura 4.8**.

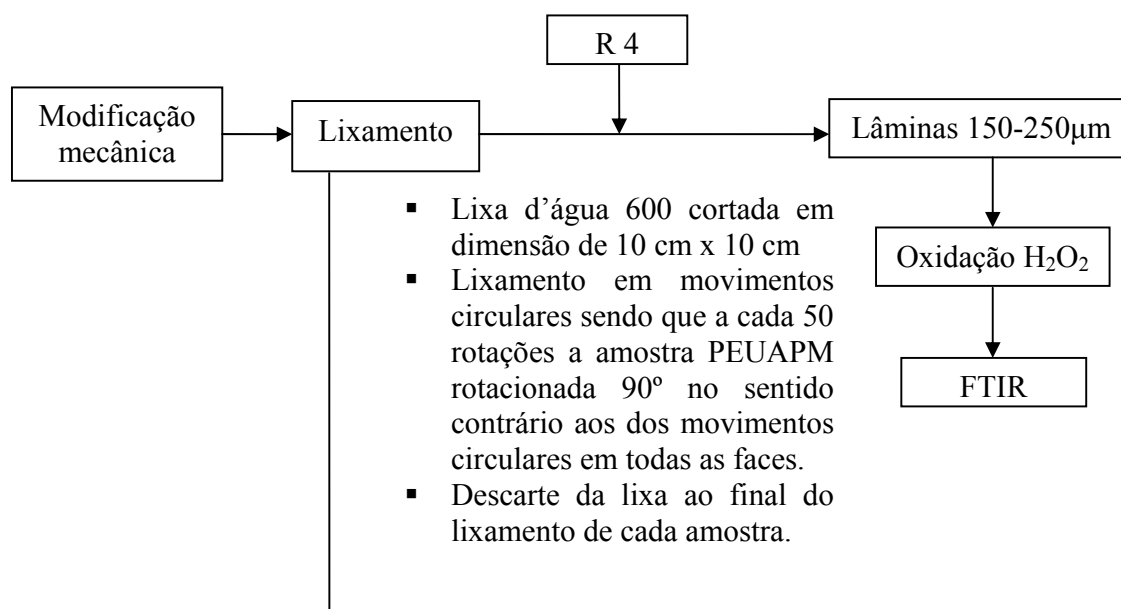


Figura 4.8: Fluxograma do caminho 4 referente à modificação física do PEUAPM.

4.6 Inibição da Oxidação

O fluxograma da **Figura 4.9** ilustra os procedimentos utilizados na inibição do PEUAPM_Ox. O reagente utilizado foi L-ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$)-(99%) Sigma-Aldrich.

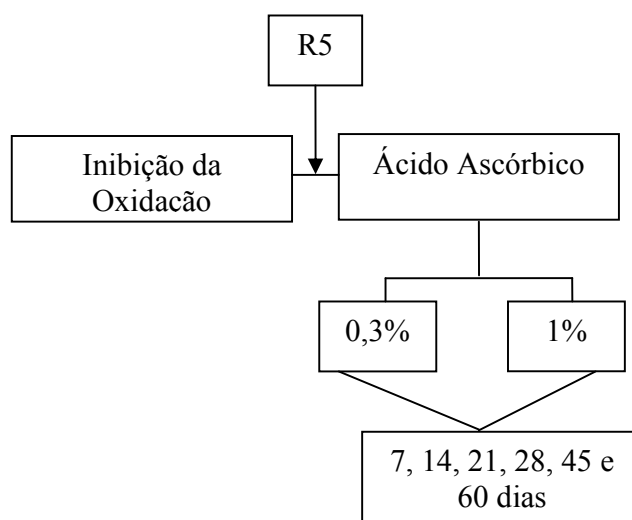


Figura 4.9: Fluxograma do caminho 5 (R5) referente a inibição da oxidação do PEUAPM_Ox com ácido ascórbico.

Solução com concentrações de 0,3%, e 1% de ácido ascórbico em solução de peróxido de hidrogênio 30% foi preparada e utilizada para avaliar o efeito estabilizador da vitamina C no processo oxidativo do PEUAPM com H_2O_2 . Os seguintes procedimentos foram adotados para o preparo das soluções:

- Preparo de 100mL de 0,3% de ácido ascórbico em solução H_2O_2 30%

A solução de 0,3% em peso de ácido ascórbico (AsC) em peróxido de hidrogênio foi preparada em frasco volumétrico. Assim, 0,303g de AsC foram dissolvidos em 100ml de H_2O_2 . Para preparar a solução de AsC usou-se um balão volumétrico que foi preenchido até a metade com a H_2O_2 e adicionou-se 0,303g de AsC sob agitação lenta. Depois de garantido que todo AsC estivesse dissolvido, completou-se o balão volumétrico com H_2O_2 e agitou-se para garantir a homogeneidade da solução. A solução foi em seguida transferida

para um béquer contendo as amostras de UHMWPE e armazenadas em banho a 37°C. O procedimento se repetiu para o preparo da solução a 1%, sendo que a massa de soluto utilizada foi 1,01g.

Lâminas em triplicata do PEUAPM controle foram imersas em soluções 0,3%, e 1% de ácido ascórbico em solução de peróxido de hidrogênio 30%.

Todas as amostras ficaram incubadas em banho a 37°C por tempos de 7, 14, 21, 28, 45 e 60 dias e a troca da solução foi efetuada a cada 5 dias para garantir o efeito inibidor do ácido ascórbico. Completado o tempo de experimento, as amostras foram lavadas em etanol e água destilada por 20 minutos, secas em ar ambiente e conduzidas para análises.

4.7 Resposta Inflamatória de Macrófagos

O fluxograma da **Figura 4.10** ilustra os procedimentos seguidos para a avaliação da resposta inflamatória com macrófagos.

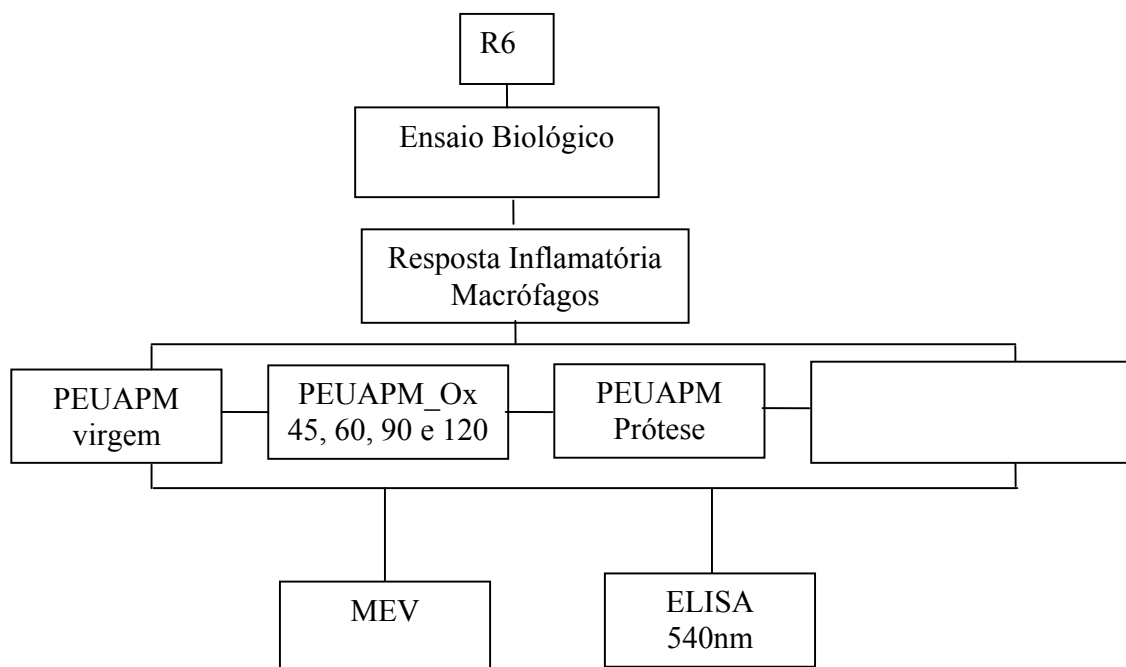


Figura 4.10: Fluxograma do caminho 6 (R6) referente à resposta inflamatória com macrófagos.

4.7.1 Citotoxicidade e Viabilidade Celular por Produção de Óxido Nítrico

O estudo da resposta inflamatória de macrófagos foi realizado no departamento de microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Amostras (n=3) do PEUAPM virgem, oxidadas com peróxido de hidrogênio nos tempos de 45, 60, 90, e 120 dias e amostras da região superior medial e lateral da prótese recuperada foram avaliadas quanto à resposta inflamatória de macrófagos através da secreção de óxido nítrico (NO).

Foram utilizados dois grupos controle: 1) controle positivo com células estimuladas com interferon- γ (ITF) + lipopolissacáride (LPS); 2) controle negativo com células não estimuladas, somente com o meio. Para os ensaios, lâminas de espessura variando entre 150-250 μ m com área média de 34mm² foram esterilizadas com gás etileno (EtO) por 48h e conduzidas para o ensaio biológico.

A citotoxicidade foi avaliada através de macrófagos retirados de camundongos linhagem C57BL/6 cinco dias após sacrificados. As células (1x10⁵) foram colocadas em todos os “pocinhos” e acrescentados os meios com e sem interferon- γ (ITF) + lipopolissacáride (LPS) nos “pocinhos” correspondentes. As células foram incubadas a 37°C em atmosfera úmida contendo 5% de CO₂ por 48h.

Após a incubação, extraiu-se 100ul do sobrenadante de cada “pocinho” para outra placa. Na placa de leitura de NO fez-se a curva padrão de NaNO₂ (a partir de 100uM) com 100ul e adicionou-se o branco da leitura. Em seguida, acrescentou-se o reagente Griess em todos os “pocinhos” e procedeu-se a leitura espectrofotométrica em comprimento de onda de 540 nm.

Antes de realizar as análises microscópicas, as amostras foram fixadas com solução aquosa de glutaraldeído 2% por 16 horas, desidratadas em solução etanol-água em concentrações (30%, 50%, 70% e 100%) e levadas para análise de microscopia eletrônica de varredura. As amostras foram recobertas com fina camada de ouro, a fim de torná-las condutoras ao feixe

elétrico usando baixa taxa de deposição e mantidas a uma distância máxima para prevenir danificações. As imagens foram obtidas usando voltagem de aceleração de 8kV.

4.8 Caracterização

4.8.1 Caracterização por Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

A caracterização espectroscópica foi feita na região do infravermelho médio com número de onda entre 400cm^{-1} a 4000cm^{-1} , pelo método de transmissão, com resolução de 4cm^{-1} e 64 varreduras por espectro (Spectrum 1000, Perkin Elmer). As bandas selecionadas para as análises foram em $1650\text{-}1850\text{cm}^{-1}$, onde a intensidade da absorção da carbonila (C=O) localizada próxima à banda 1720cm^{-1} é relatada para a oxidação, e em $1330\text{-}1396\text{cm}^{-1}$ relatada para a normalização. A banda a 2020cm^{-1} (τCH_2) foi usada como padrão interno haja vista ser praticamente insensível a pequenas alterações na estrutura do UHMWPE. Ainda na banda a 2020cm^{-1} todo o espectro foi normalizado para uma absorção de 0,05, baseado em pressupostos de que a absorção referência (2020cm^{-1}) foi aproximadamente proporcional à espessura das amostras que corresponde a um filme de espessura de $100\mu\text{m}$ e independe do nível de oxidação.

Definido os parâmetros acima citados, a razão da absorbância A_{ox}/A_{1300} (calculada como a área da banda) entre regiões do espectro a $1650\text{-}1850\text{cm}^{-1}$ e $1330\text{-}1396\text{cm}^{-1}$ (dobramento CH_2) foram utilizadas para estimar o grau de oxidação como uma composição total do grupamento carbonila. Logo, o cálculo do índice de oxidação foi calculado pela **Equação 4.2**, como recomendado pela *International Standardization For Organization (ISO) 5834-4* “Implants for surgery – Ultra-high molecular weight polyethylene – Part 4: Oxidation index measurement method”:

$$I_{Ox} = \frac{A_{ox}}{A_{norm}} \quad (\text{Eq. 4.2})$$

Onde, I_{ox} é o índice de oxidação; A_{ox} é a área oxidada e A_{norm} é a área normalizada.

Alguns índices foram utilizados para caracterizar a degradação oxidativa como o conteúdo de espécies múltiplas oxidadas, enquanto a altura da banda foi utilizada para estimar a oxidação como o conteúdo de uma única espécie oxidada.

O grau de oxidação da carbonila foi calculado como a razão da absorção do estiramento do grupamento cetônico ($\nu\text{C}=\text{O}$) a 1714cm^{-1} (calculada como a altura da banda) e a banda a 2020cm^{-1} (rotação do CH_2), conforme **Equação 4.3**.

$$I_{\nu\text{C}=\text{O}} = \frac{I_{1714}}{I_{2020}} \quad (\text{Eq. 4.3})$$

Onde I_{1714} = altura da banda relata para grupamento cetônico e I_{2020} = altura da banda referência τCH_2 .

A razão da absorbância da A_{3400}/A_{1300} entre as regiões do espectro a $3505\text{-}3290\text{cm}^{-1}$ e $1330\text{-}1396\text{cm}^{-1}$ foi utilizada para avaliar o conteúdo de hidroperóxidos ligados ao hidrogênio e álcoois, representada pela **Equação 4.4**.

$$I_{\nu\text{ROH}} = \frac{A_{3400}}{A_{1300}} \quad (\text{Eq. 4.4})$$

Onde I_{3370} = altura da banda relata para hidroperóxidos e álcoois.

A razão da absorbância I_{3370}/I_{2020} foi usada para quantificar a contribuição dos grupamentos hidroperóxidos e álcoois, representada pela **Equação 4.5**.

$$I_{\nu\text{OH}} = \frac{I_{3370}}{I_{2020}} \quad (\text{Eq. 4.5})$$

Onde I_{3370} = altura da banda relata para hidroperóxidos e álcoois.

As razões de absorbância I_{3605}/I_{2020} e I_{965}/I_{2020} foram usadas para avaliar o conteúdo de álcool não ligado ao hidrogênio e o conteúdo do trans-vinileno respectivamente, e estão representados nas **Equações 4.6 e 4.7**.

$$I_{\text{ROH}} = \frac{I_{3605}}{I_{2020}} \quad (\text{Eq. 4.6})$$

Onde I_{3605} = altura da banda relata para o grupamento álcool não ligado ao H.

$$I_{\text{CH}=\text{CH}} = \frac{I_{965}}{I_{2020}} \quad (\text{Eq. 4.7})$$

Onde I_{965} = altura da banda relata para o grupo trans-vinileno.

A razão de absorbância I_{1176}/I_{2020} foi usada para avaliar o conteúdo da gama-lactona conforme **Equação 4.8**.

$$I_{\nu\text{C}-\text{O}} = \frac{I_{1176}}{I_{2020}} \quad (\text{Eq. 4.8})$$

Onde I_{1176} = altura da banda relata para grupamentos ésteres e lactona.

A porcentagem de cristalinidade foi calculada comparando-se a vibração da área sob a vibração 1896cm^{-1} , a fração cristalina, e a área sob a vibração 1305cm^{-1} relativa à fração amorfa de acordo a **Equação 4.9** (DALBORG *et al.*, 2007; BRACCO *et al.*, 2007; COSTA *et al.*, 2002):

$$\% \text{ Cristalinidade} = \frac{A_{1896} / A_{1305} \times 100}{(A_{1896} / A_{1305} + 0,25)} \quad (\text{Eq. 4.9})$$

4.8.2 Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Energia Dispersiva

Imagens e análises químicas semi-quantitativas foram realizadas através de microscopia eletrônica de varredura acoplada com espectroscopia de energia de elétrons. Foi utilizado o equipamento JSM-6360LV, da JEOL, acoplado ao Espectrômetro Quest, da Thermo Noran. As imagens foram obtidas utilizando tensão de aceleração de 8kV para as lâminas do ensaio biológico e 10kV para as amostras oxidadas. Antes do exame as amostras foram cobertas com fina camada de ouro por aspersão, usando baixa taxa de deposição, refrigeradas e colocadas à máxima distância do alvo a fim de evitar danos às mesmas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do PEUAPM Controle

▪ Difração de Raios-X

A **Figura 5.1** ilustra o difratograma do PEUAPM controle evidenciando o pico cristalino com alargamento em sua base, confirmando o caráter semicristalino do PEUAPM. Em detalhe sua estrutura ortorrômbica, segundo (MANSUR, 2005; ROCHA *et al.*, 2006).

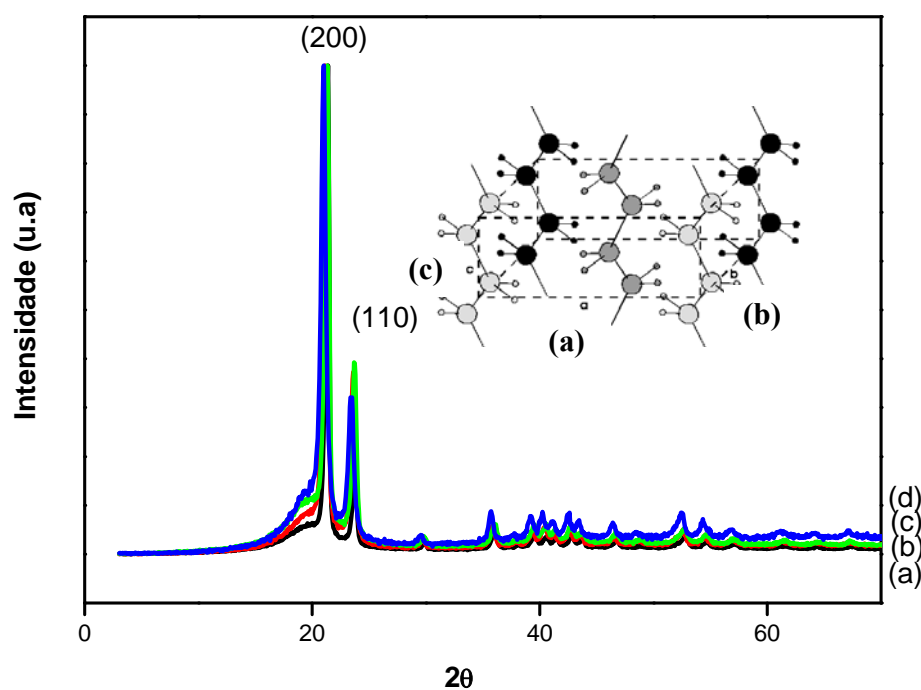


Figura 5.1: Difratograma do PEUAPM controle a distância de 0 cm (a), 1cm (b), 2cm (c), 3cm (d). Em detalhe sua estrutura ortorrômbica.

Os resultados de cristalinidade obtidos por DRX, mostrados na **Tabela 5.1**, apontam para diminuição da cristalinidade em direção ao volume do PEUAPM GUR 1020. Entretanto, a cristalinidade média obtida foi de 52% com variação de amplitude de 37%.

Tabela 5.1: Valores da Cristalinidade do UHMWPE obtidos por DRX.

AMOSTRAS	CRISTALINIDADE %
0 cm	77
0 cm com giro 90°	56
1 cm	54
1 cm com giro 90°	51
2 cm	49
2 cm com giro 90°	49
3 cm	40
3 cm com giro 90°	40
Variação de amplitude	37

Este valor médio de 52% de cristalinidade encontrada para o PEUAPM controle está de acordo com a literatura, onde a porcentagem esperada para a cristalinidade do PEUAPM virgem é de 45% a 70%. Portanto, o valor obtido está dentro da faixa aceitável para cristalinidade do PEUAPM controle (BAKER *et al.*, 2000; PRUITT *et al.*, 2005; DALBORG *et al.*, 2007).

A cristalinidade é um parâmetro importante a ser avaliado no processo de modificação química da superfície do PEUAPM, onde é esperado que o seu valor aumente à medida que evolui o processo oxidativo do PEUAPM submetido à irradiação gama (COSTA *et al.*, 2006; REGGIANI *et al.*, 2007; DALBORG *et al.*, 2007). Neste estudo acredita-se que não só os valores obtidos para a cristalinidade quanto a sua redução em direção ao volume estão de acordo com a literatura, já que o seu valor tende a ser maior em regiões com elevada densidade de defeitos, como parece ser a superfície externa (0cm) da amostra controle do PEUAPM, onde o valor da cristalinidade foi de 77%. Além disto, a amostra não submeteu-se à irradiação, não havendo portanto, ruptura da cadeia e aumento da cristalinidade.

No volume do material (1-2cm) a quantidade de imperfeições entre as partículas do PEUAPM tende a ser menor do que na superfície devido ao processamento por extrusão e, então, a cristalinidade reduz.

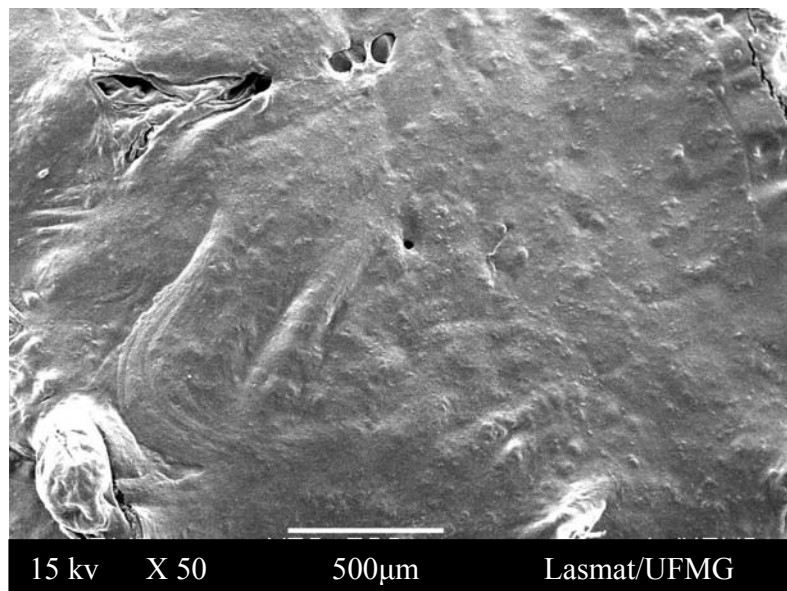
É sabido que a cristalinidade do PEUAPM virgem é muito elevada, em torno de 80%. É muito provável que quando estas partículas são fundidas juntas durante o processamento

por compressão, existam imperfeições entre as partículas da região amorfa que serão as responsáveis pela baixa cristalinidade do PEUAPM, em torno de 50% (COSTA *et al.*, 2002).

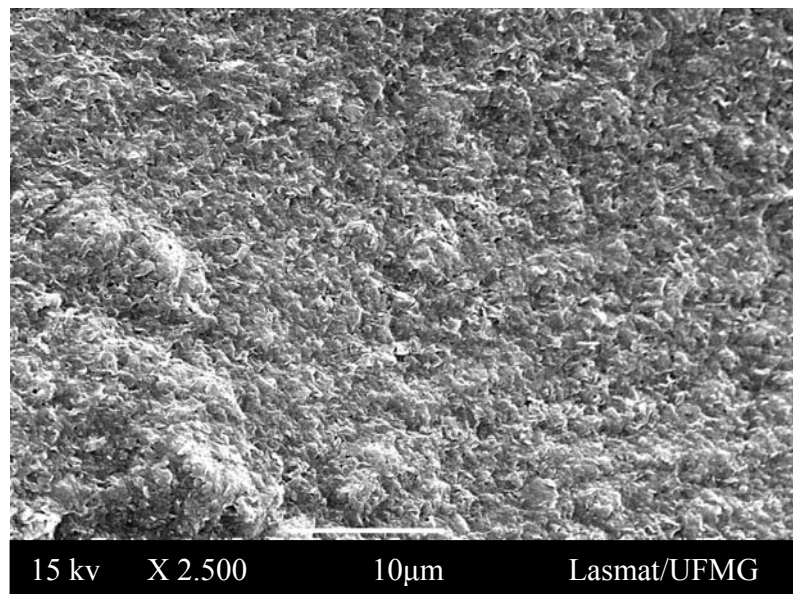
O processamento de amostras consolida as partículas da resina do PEUAPM e as alinha num arranjo ordenado e fechado, reduzindo algumas regiões amorfas e a natureza porosa das partículas virgens, limitando a propagação de oxigênio através do volume do PEUAPM. Isto mostra que amostras de PEUAPM mais consolidadas apresentam menor oxidação, mesmo após serem gama-irradiadas ou envelhecidas a elevadas temperaturas (>135°C). Desde que partículas não tenham sido processadas, as regiões amorfas permanecem intactas e permitem facilmente a difusão de oxigênio para reagir com radicais livres localizados na região amorfa do material (LEE *et al.* 2000).

▪ ***Microscopia Eletrônica de Varredura***

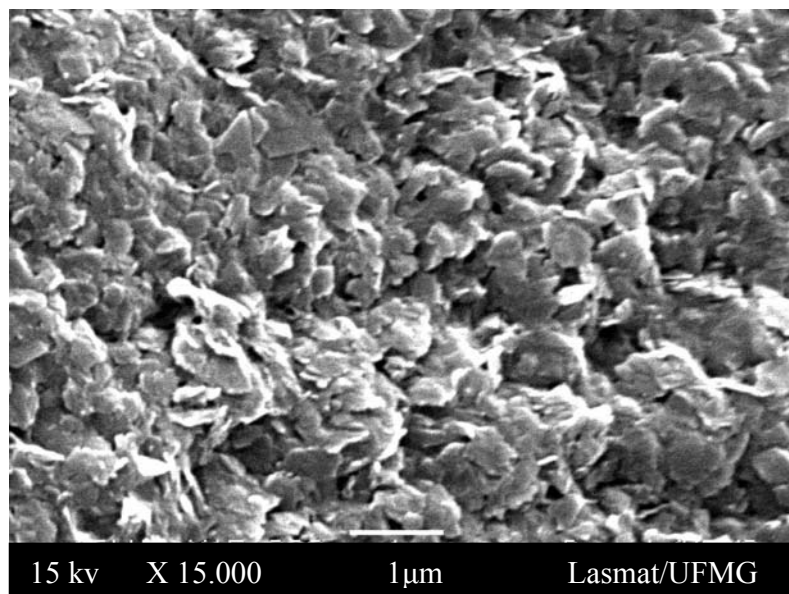
Nas imagens de microscopia eletrônica de varredura mostradas nas **Figuras 5.2 a-c** pode-se visualizar imagens do PEUAPM obtidas de lâminas do GUR1020.



(a)



(b)



(c)

Figura 5.2: Imagens de MEV do PEUAPM referência em ampliação de (a) 50X; (b) 10000X e (c) 15000X.

Um aspecto rugoso e homogêneo é apresentado na **Figura 5.2 a**, com presença de orifícios, delaminações e rasgaduras provavelmente provenientes do processo de preparação do material. Na **Figura 5.2 b** observa-se a presença de ondulações características de um material mais dúctil com grande capacidade de dissipar energia. Estas ondulações em maior

aumento **Figura 5.2 c** apresentam um aspecto de maior profundidade, com característica homogênea e regular tipo “escama de peixe”.

Estes resultados estão de acordo com a literatura (WILLE *et al.*, 2006; PRUITT *et al.*, 2005; BAKER *et al.*, 2000; VALENZA *et al.*, 2004; TADDEI *et al.*, 2002) onde obtiveram-se uma superfície morfológica similar, de caráter uniforme, com microestrutura predominantemente revelando uma forma tipo “onda” e altamente sensíveis ao tipo de carregamento. O aspecto em “escama de peixe” citado por (ROCHA e MANSUR, 2006) foi também identificado referindo-se ao PEUAPM GUR 1020 utilizado para aplicação biomédica.

▪ *Espectroscopia na Região do Infravermelho*

O espectro típico de infravermelho do PEUAPM pode ser observado na **Figura 5.3** com destaque para as principais bandas de interesse.

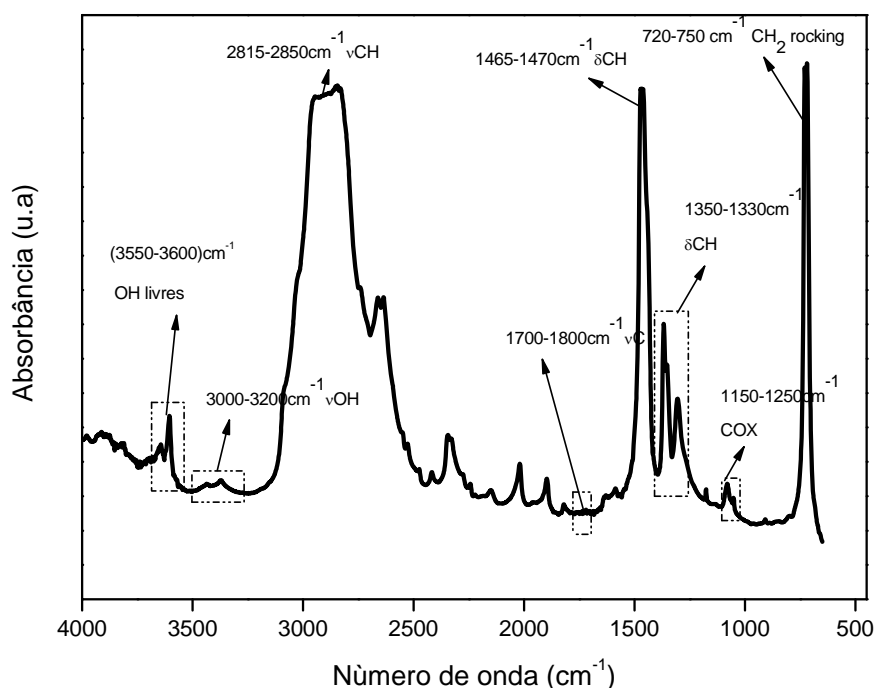
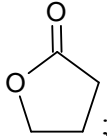


Figura 5.3: Espectro típico de FTIR do PEUAPM controle.

A **Tabela 5.2** indica os principais grupos químicos com os números de onda correspondentes às vibrações observadas ao infravermelho e relatadas para a degradação oxidativa do PEUAPM de acordo com (TADDEI *et al.*, 2006; BRACCO *et al.*, 2007).

Tabela 5.2: Identificação das Bandas no FTIR.

Localização (cm^{-1})	Grupo característico	Grupo funcional	Referências
1785 – 1680 1714-1720	Estiramento da carbonila	$\nu\text{C}=\text{O}$	TADDEI <i>et al.</i> , 2006; WILLE <i>et al.</i> , 2006
1080-1050	Estiramento de hidroperóxidos	$\nu\text{C}-\text{O}$	TADDEI <i>et al.</i> , 2006
3605	Álcoois não ligados ao hidrogênio	$\nu\text{O}-\text{H}$	TADDEI <i>et al.</i> , 2006
3435 – 3370	Hidroperóxidos ligados ao H e álcoois	$\nu\text{O}-\text{H}$ e R-OH	TADDEI <i>et al.</i> , 2006
3560-3530	Hidroperóxidos livres	$\nu\text{O}-\text{H}$	KUPPER <i>et al.</i> , 2004
3550-3230	Ligação hidrogênio	$\nu(\text{O}-\text{H}) \text{OH} \dots \text{OH}$	KUPPER <i>et al.</i> , 2004
3430	Estiramento do grupamento álcool	$\nu\text{O}-\text{H}$	REGGIANI <i>et al.</i> ; 2007
1778 e 1176	Gama-lactona e ésteres lineares longos	 ; $\nu\text{C}-\text{O}$ de lactonas	TADDEI <i>et al.</i> , 2006
1250-1150	Ésteres de cadeias longas	COX	KUPPER <i>et al.</i> , 2004
2020	Torção do grupo etil	$\tau\text{C}-\text{H}_2$	DALBORG <i>et al.</i> , 2007 ; COSTA <i>et al.</i> , 2002 ; BRACCO <i>et al.</i> , 2007
965	Transvinileno	CH=CH	WILLE <i>et al.</i> , 2006 BRACCO <i>et al.</i> , 2007
1896	Banda cristalina		DALBORG <i>et al.</i> , 2007 ; COSTA <i>et al.</i> , 2002
1305	Banda amorfa		DALBORG <i>et al.</i> , 2007 ; COSTA <i>et al.</i> , 2002

A **Figura 5.4** ilustra o espectro de FTIR do PEUAPM controle na faixa de $1200\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$ com destaque para a região (I) correspondente à área de normalização ($1330\text{-}1396\text{ cm}^{-1}$) e a região (II) área de oxidação ($1650\text{-}1850\text{ cm}^{-1}$). Nesta faixa de absorção não se observa aumento de intensidade de bandas relacionadas para a oxidação. De fato, a oxidação é um mecanismo complexo e depende de vários fatores, tais como, as condições de esterilização, tempo de armazenamento do PEUAPM antes de ser implantado e ainda o tempo de implantação (REGGIANI *et al.*, 2007). Baixos índices de oxidação e baixa intensidade das bandas relacionadas para a oxidação eram esperados já que o PEUAPM não foi submetido a nenhuma forma de tratamento além das condições ambiente a que está submetido.

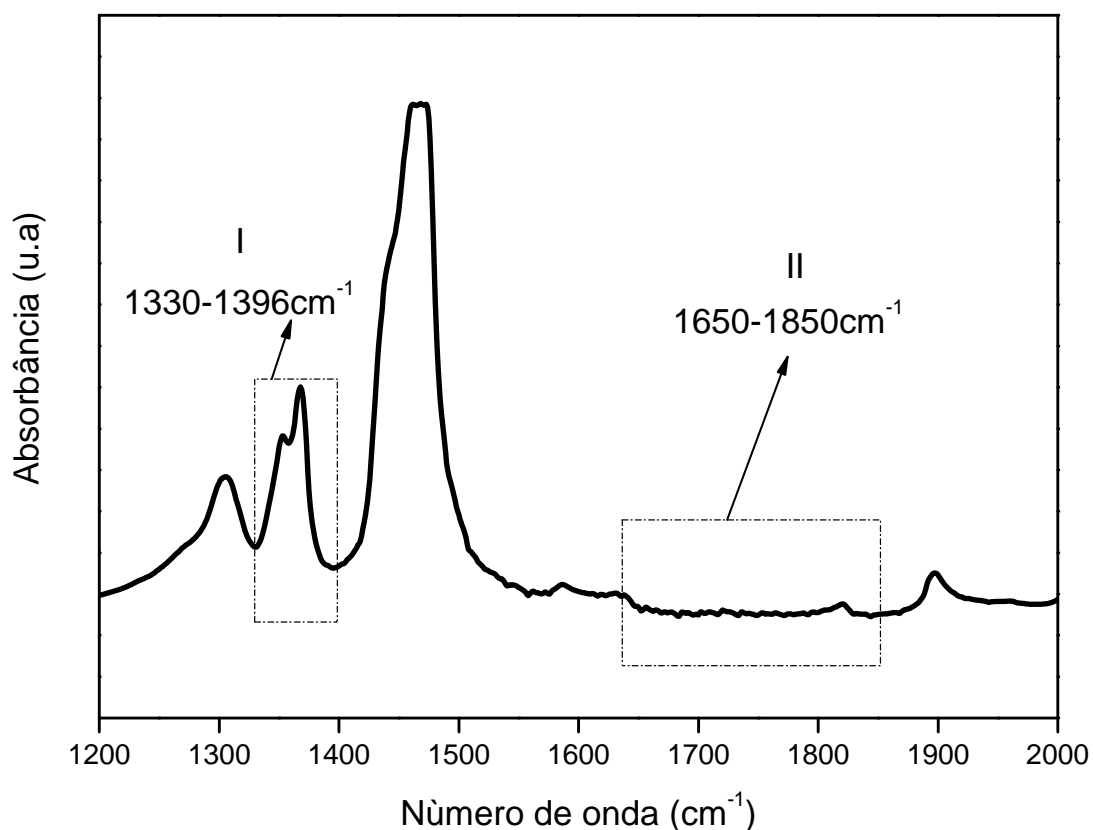


Figura 5.4: Espectro de FTIR do PEUAPM destacando as faixas de interesse a $1330\text{-}1396\text{ cm}^{-1}$ e $1650\text{-}1850\text{ cm}^{-1}$.

Foi levantada a hipótese de haver alguma oxidação na superfície das amostras do PEUAPM em virtude das condições de processamento ou de mecanismos físico-químicos. É sabido

que mecano-oxidação leva ao aumento da formação de ácidos (1713cm^{-1}) e grupos ésteres (1741cm^{-1}) enquanto grupos cetonas não são formados. Além disto, correlação entre nível de oxidação e condições de processamento não é fácil por causa da perda de informação no que se refere às ferramentas e métodos de usinagem utilizados nestas amostras (COSTA *et al.*, 1996). No espectro da **Figura 5.4** não foi identificado aumento das bandas de interesse. O índice de oxidação calculado para o PEUAPM através de FTIR, segundo a ISO 5834-4 (2005) foi de 0,03 (D.P. = 0,001) sendo considerado desprezível e ausente de oxidação baseado numa variação de 0,000-0,007 previamente relatada (WILLE *et al.*, 2006; MEDHEKAR, 2001).

Os resultados de cristalinidade obtidos por FTIR são mostrados na **Tabela 5.3**. Ao contrário dos resultados obtidos por DRX, os valores obtidos para a cristalinidade foram mais elevados com cristalinidade média de 74% e mantiveram-se praticamente constantes ao longo do volume do PEUAPM. Este fato pode ser explicado pelo fato das análises espectroscópicas no infravermelho do PEUAPM pelo modo transmissão, se darem mais ao nível da superfície do que do volume das amostras, uma vez que para a DRX a espessura das amostras foi de 1 cm e para as análises de FTIR eram lâminas variando de 100 a 150 μ .

Tabela 5.3: Grau de Cristalinidade do PEUAPM obtido por FTIR.

AMOSTRAS	CRISTALINIDADE %
0 cm	74
1 cm	73
2 cm	72
3 cm	75
Variação de amplitude	3

Entretanto, de modo a verificar os dados obtidos para cristalinidade, uma correlação dos resultados obtidos através de DRX (grau de cristalinidade) e FTIR (razão de intensidades I_{1896}/I_{1305}) foi realizada, conforme mostrado na **Figura 5.5**, indicando que uma boa correlação foi obtida, validando os dados de cristalinidade obtidos em ambas as avaliações.

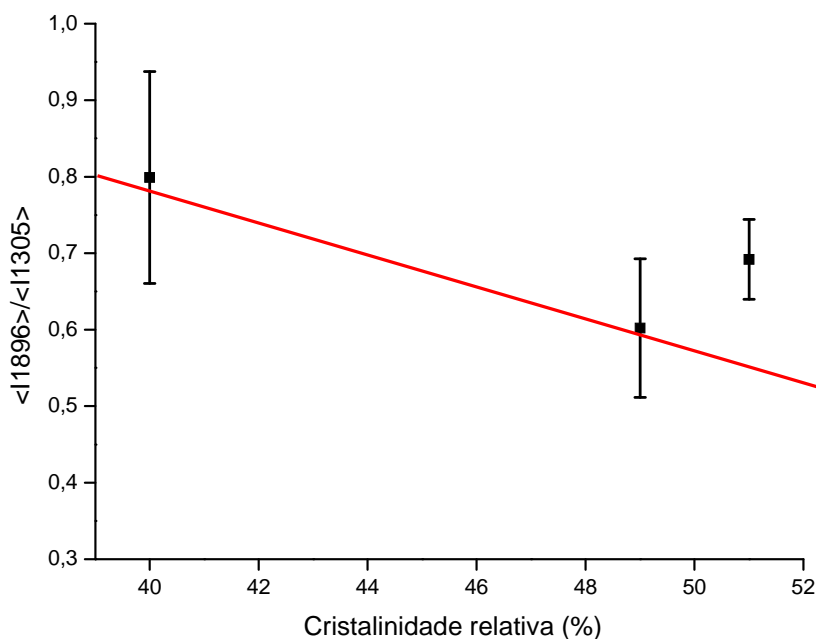


Figura 5.5: Correlação entre o grau de cristalinidade por DRX versus FTIR do PEUAPM controle.

5.2 Envelhecimento Acelerado do PEUAPM

5.2.1 Envelhecimento Acelerado com Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂)

O foco desta etapa da pesquisa foi nas alterações químicas ocorridas no PEUAPM durante o envelhecimento acelerado em peróxido de hidrogênio, onde a espectroscopia de infravermelho foi usada para calcular o índice de oxidação, identificar os grupos químicos funcionais presentes bem como a contribuição de cada espécie no processo de degradação oxidativa do PEUAPM. Este método é muito útil uma vez que o PEUAPM oxidado exibe importante absorção de bandas através destas medidas espectroscópicas.

Neste estudo assumiu-se que o oxigênio oriundo da catálise do peróxido de hidrogênio participa da etapa de iniciação do processo de degradação do PEUAPM, que ao reagir com o O₂ oxida-se formando o polietileno oxidado (PEox), conforme representado pelas **Equações 5.1 e 5.2:**



A molécula de oxigênio é uma espécie química altamente reativa. Segundo o modelo de Orbitais Moleculares, ela possui dois elétrons desemparelhados em um orbital de uma camada mais externa, chamado de orbital antiligante. Desta maneira, do ponto de vista da sua reatividade química o oxigênio se comporta como um diradical. Tendo dois elétrons não compartilhados, podemos esperar que o oxigênio reaja espontaneamente e muito rapidamente com qualquer radical livre que houver no meio, formando um radical peroxila (DE PAOLI, 2008).

A **Figura 5.6** mostra o espectro de FTIR típico para o PEUAPM oxidado com peróxido de hidrogênio por 21 dias, escolhido aleatoriamente, destacando as regiões de interesse.

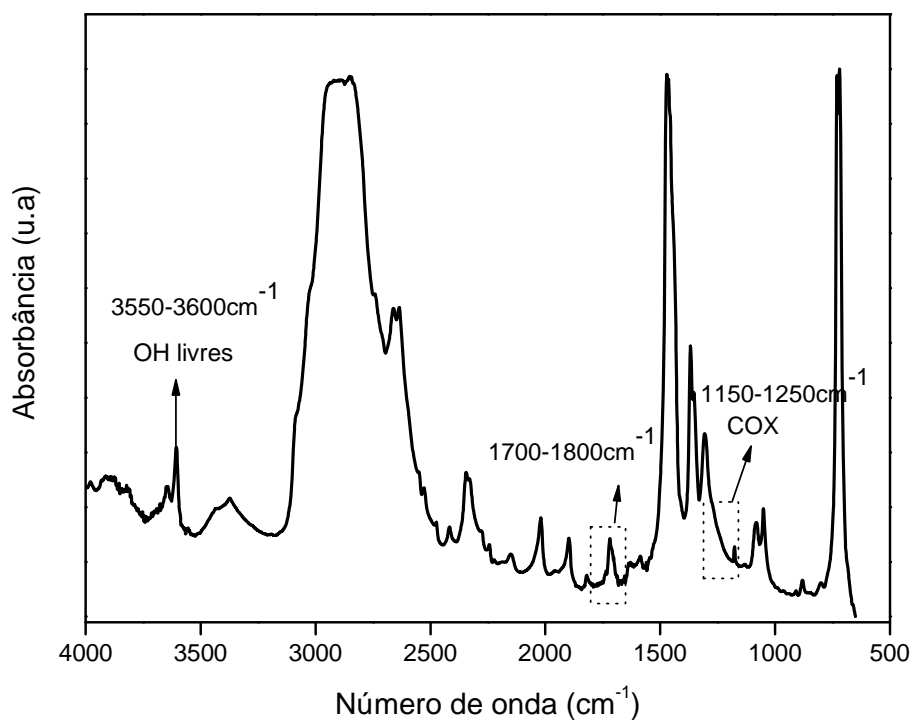


Figura 5.6: Espectro típico de FTIR do PEUAPM oxidado 21 dias em H₂O₂.

A **Figura 5.7** mostra o espectro de FTIR na faixa de 1200-2000 cm^{-1} destacando a região (I) correspondente à área de normalização (1330-1396 cm^{-1}) e a região (II) área de oxidação (1650-1850 cm^{-1}) do PEUAPM oxidado em peróxido de hidrogênio por 14 dias.

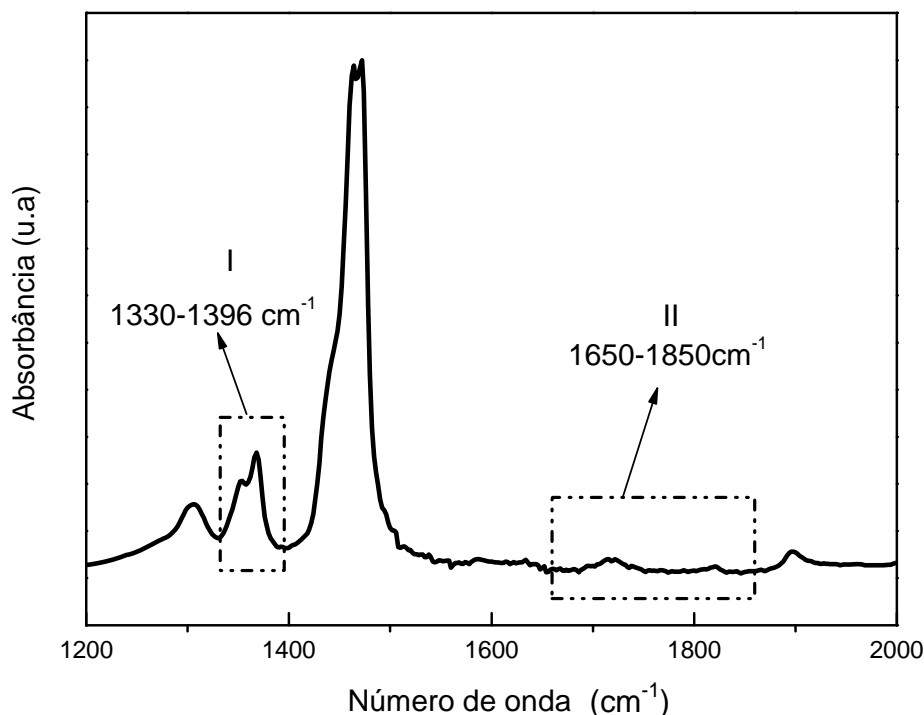


Figura 5.7: Espectro de FTIR do PEUAPM oxidado por 14 dias, destacando as regiões de interesse (I) área de normalização e (II) a área de oxidação.

No espectro da **Figura 5.8** observa-se o aumento de intensidade da banda localizada a 1714 cm^{-1} referente ao grupamento cetônico e relatada para a oxidação (BRACCO *et al.*, 2007; REGGIANI *et al.*, 2007; LEE *et al.*, 2000; COSTA *et al.*, 1998).

É evidente o aumento da absorção da banda a 1714 cm^{-1} em função do tempo de incubação em H_2O_2 até 120 dias.

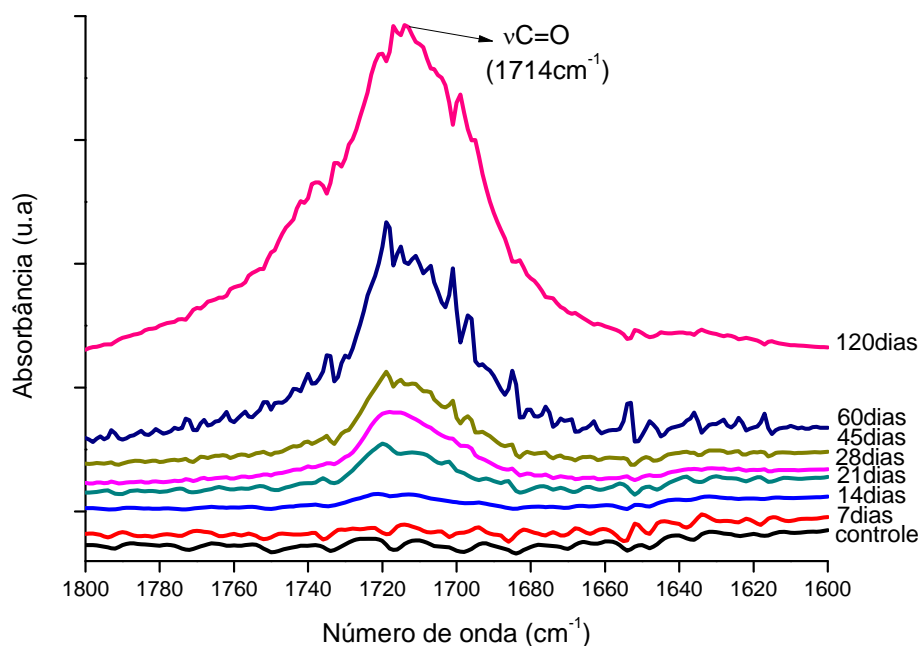


Figura 5.8: Espectro de FTIR do PEUAPM controle e oxidado com peróxido de hidrogênio no período de 0 a 120 dias.

A **Figura 5.9** mostra um esquema do mecanismo de formação da carbonila (TADDEI *et.al.*, 2006).

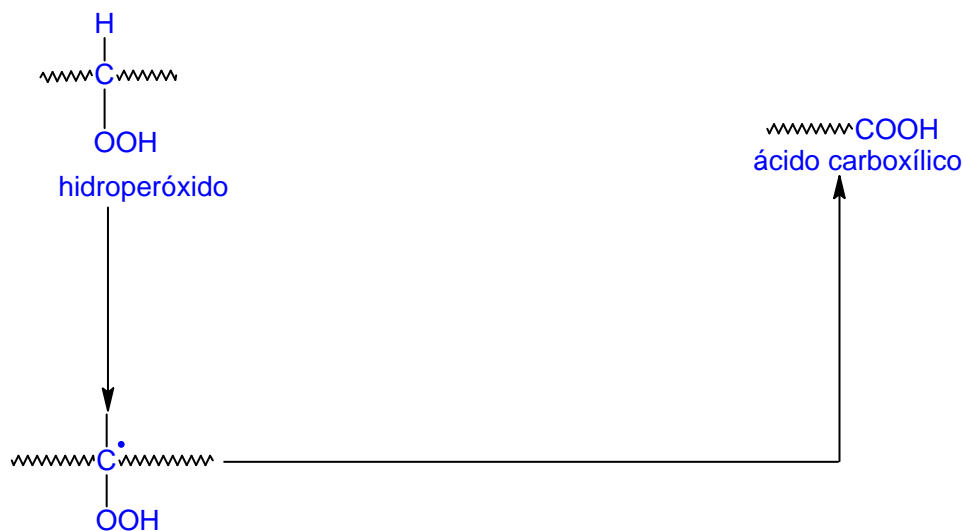


Figura 5.9: Mecanismo de formação da carbonila. Adaptado de TADDEI *et al.*, 2006.

A absorção a 1713 cm^{-1} tem sido atribuída na literatura aos ácidos formados durante a degradação térmica. Como o grupo carbonila aparece normalmente na maioria dos produtos

de degradação termo-oxidativa do PEUAPM e sua concentração, como determinado pelo índice da carbonila, pode ser referenciada para monitorar o progresso da oxidação (BRACCO *et al.*, 2007). A **Figura 5.8** pode ser suportada pela **Equação 5.3** com a formação do grupamento cetônico, em destaque (KRISTON *et al.*, 2008). A cadeia do PEUAPM está representada por PE e sua forma oxidada PEox.



O espectro de FTIR apresentado na **Figura 5.10** mostra a vibração do grupamento hidroperóxido (ν OH) ligado ao hidrogênio cuja absorção é a $3450-3350 \text{ cm}^{-1}$. Nota-se o alargamento desta região do espectro no período até 120 dias, provavelmente em função da catálise do H_2O_2 sendo convertido em radical hidroxila ($\bullet OH$).

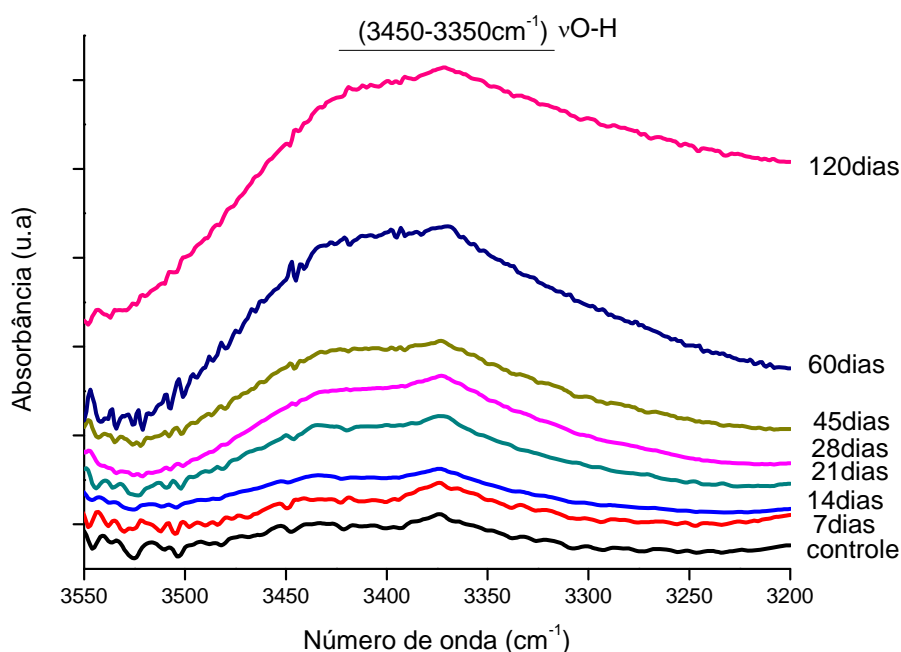


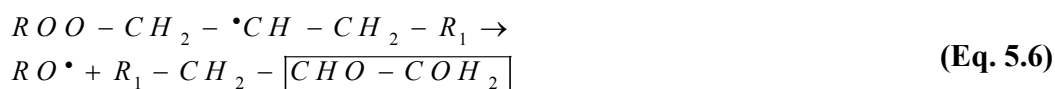
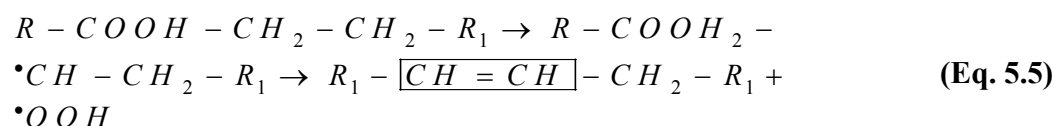
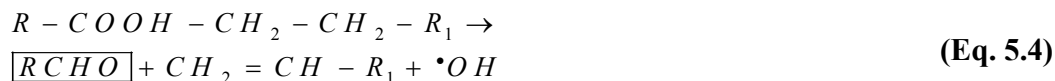
Figura 5.10: Espectro de FTIR do PEUAPM_Ox em peróxido de hidrogênio até 120 dias destacando o grupamento hidroperóxido.

Segundo COSTA *et al.* (1998) a concentração de hidroperóxidos secundários não é proporcional à concentração de carbonila. A decomposição de hidroperóxido forma radicais

alcoxila e hidroxila, os quais podem continuar o ciclo oxidativo se existe quantidade suficiente de oxigênio disponível. Isto indica que a formação de espécies carbonila não é capaz de explicar sozinha todo o processo real da oxidação, mas a formação de hidroperóxidos deve também ser levada em conta.

Segundo KUPPER *et al.* (2004) e KRISTON *et al.* (2008) na etapa inicial da degradação, macrorradicais são formados e reagem com o oxigênio do ar. Na sequência, radicais ROO[•] retiram hidrogênio do polímero resultando na formação de hidroperóxidos. Estes hidroperóxidos decompõem-se rapidamente, produzindo radicais altamente reativos, os quais aceleram o processo de oxidação.

Muitas reações são propostas na literatura para explicar os diferentes mecanismos de oxidação do PEUAPM. Neste estudo, selecionaram-se as **Equações 5.4, 5.5 e 5.6** destacando os grupos aldeídos, vinileno e éster, respectivamente, que parecem estar de acordo com os resultados obtidos e demonstrados na **Figura 5.10**. Tais reações são normalmente iniciadas por oxigênio presente em sítios fracos da cadeia polimérica.



A **Figura 5.11** ilustra os diferentes tipos de produtos formados decorrente da oxidação, tais como ésteres, cetonas e ácidos.

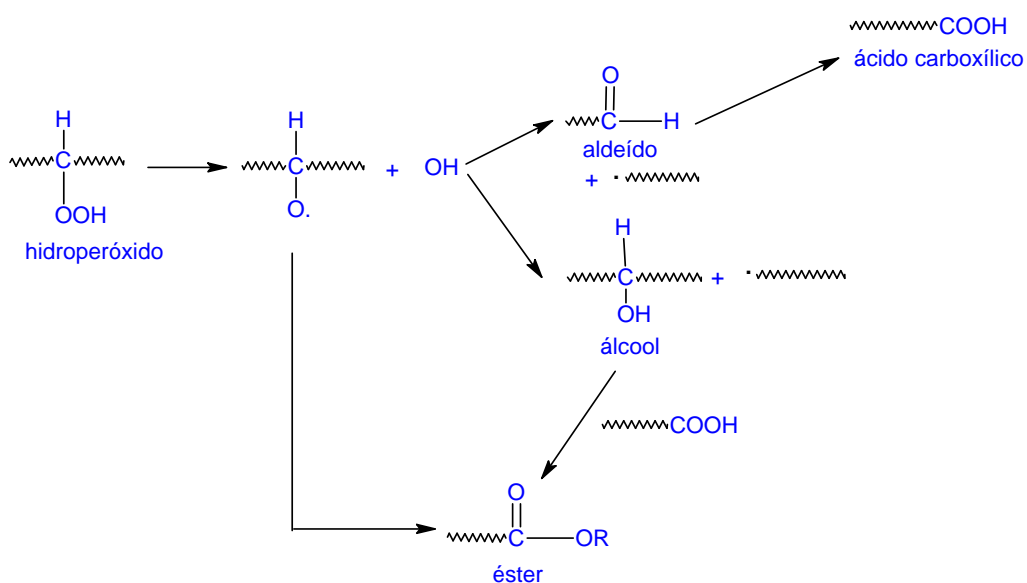
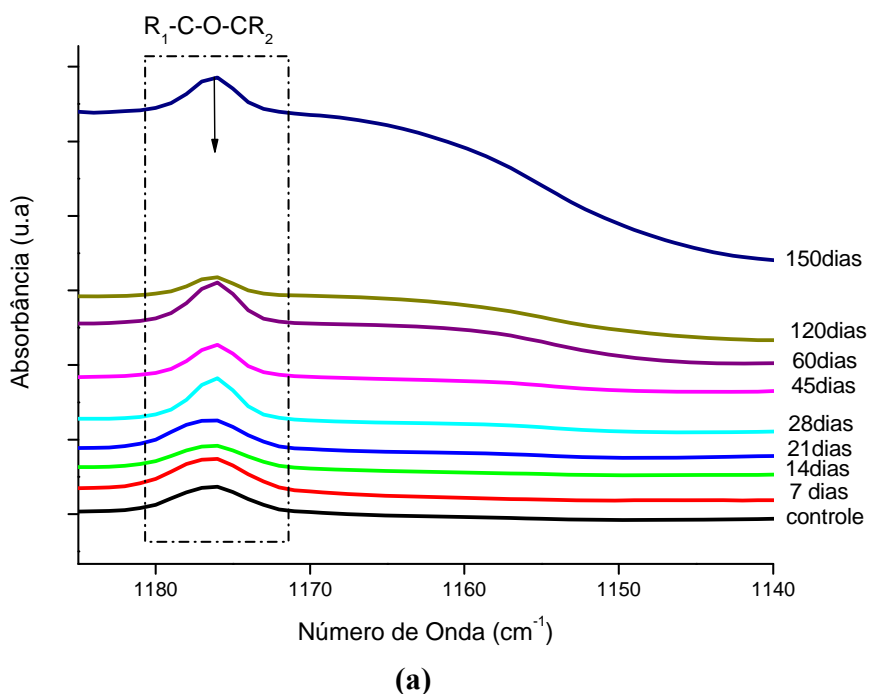


Figura 5.11: Mecanismo de formação de outros produtos de oxidação do PEUAPM. Adaptado de TADDEI *et al.*, 2006.

Outros produtos provenientes do envelhecimento acelerado do PEUAPM em H_2O_2 foram identificados. A **Figura 5.12 a** destaca a γ -lactona e o grupo vinileno na **Figura 5.12 b**.



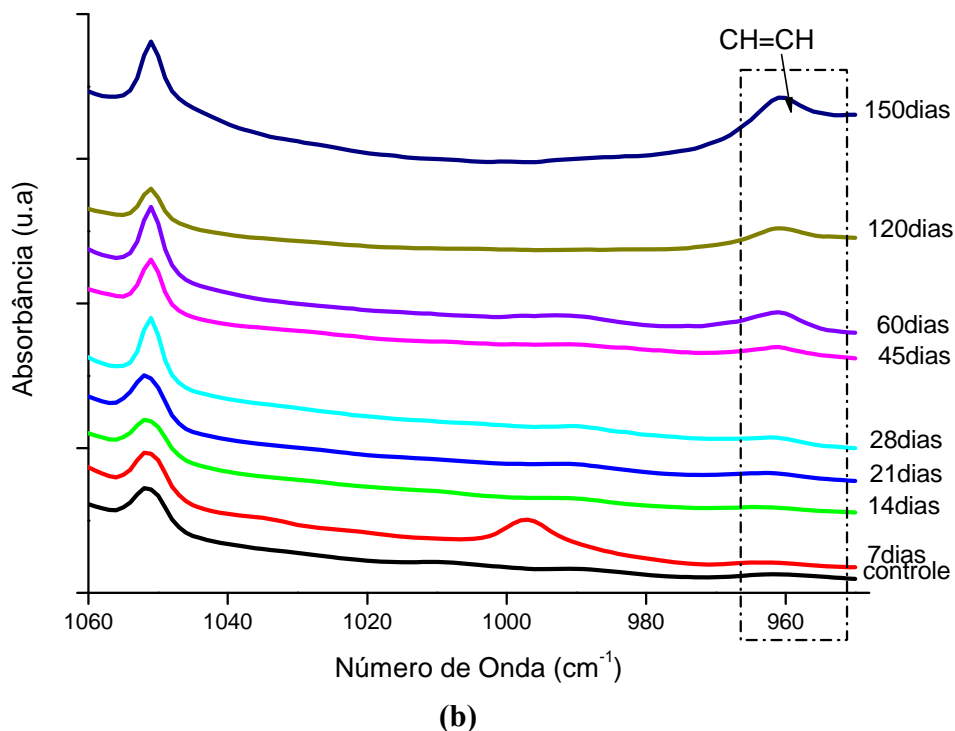


Figura 5.12: Espectro de FTIR destacando outros produtos de oxidação do PEUAPM em peróxido de hidrogênio.

A banda a 1176cm^{-1} relatada para o grupamento γ -lactona e a banda do trans-vinileno localizada a 960cm^{-1} mantiveram-se estáveis até 45 dias e a partir daí aumentaram suas intensidade até 150 dias.

Em função da complexidade da oxidação do PEUAPM, algumas sugestões preferenciais de rotas podem ser propostas na tentativa de explicar a distribuição dos produtos de oxidação observados em nossas amostras. É sabido que diferentes reações de oxidação podem acontecer, e que, os produtos da oxidação podem derivar-se de mais de uma destas rotas, como mostra a **Figura 5.13**.

Segundo COSTA *et al.* (1998) os dois primeiros macroradicaís formados pela ruptura da ligação C-C recombina-se devido à suas baixa mobilidade e regeneram a ligação C-C original na macromolécula do PEUAPM. O radical (I) provavelmente retira um átomo de H de uma segunda molécula de PEUAPM formando assim o radical macro-alquil secundário

Mais provavelmente, o átomo de H retira um segundo átomo de H do PEUAPM para formar o H₂ e um radical macro alquil secundário (II) intramolecular. Quando a retirada é feita de um metileno adjacente, uma ligação dupla (trans-vineleno) é formada, além do H₂. Se não há nenhum oxigênio dissolvido disponível no PEUAPM e dois macroradicaís alquil secundários estão próximos um do outro, eles podem unir-se e formar uma cadeia reticulada. O radical (II) pode reagir com o oxigênio formando peróxido secundário, o qual é provável retirar um átomo de H da segunda molécula de PEUAPM, levando assim à formação de hidroperóxido secundário e de um radical (II), responsável pela propagação do ciclo oxidativo.

Segundo KRISTON *et al.* (2008) o radical alquila é muito reativo, podendo decompor-se com a formação de grupos insaturados ou eles podem reagir com outro radical alquila por desproporcionamento, resultando na formação de grupos vinil. Neste caso a retirada de hidrogênio que ocorre na reação de desproporcionamento ou na de transferência de cadeia acontece em menor taxa do que a reação com o O₂. Por esta razão a reação de peroxidação é mais favorável.

As reações ou combinação de reações foram selecionadas a fim de satisfazerem as seguintes condições:

- Aumento no número dos grupos funcionais insaturados
- Aumento no conteúdo da carbonila
- Aumento no conteúdo dos hidroperóxidos

A degradação oxidativa, calculada enquanto a altura da banda, foi utilizada para estimar a oxidação como o conteúdo de uma única espécie oxidada, **Figuras 5.14 – 5.18**.

A **Figura 5.14** apresenta o gráfico com os valores relativos aos grupos carbonila, calculado como a razão da absorção do estiramento do grupamento cetônico ($\nu_{C=O}$) a 1714cm^{-1} (calculada como a altura da banda) e a banda a 2020cm^{-1} (torção do CH₂), conforme **Equação 5.7**.

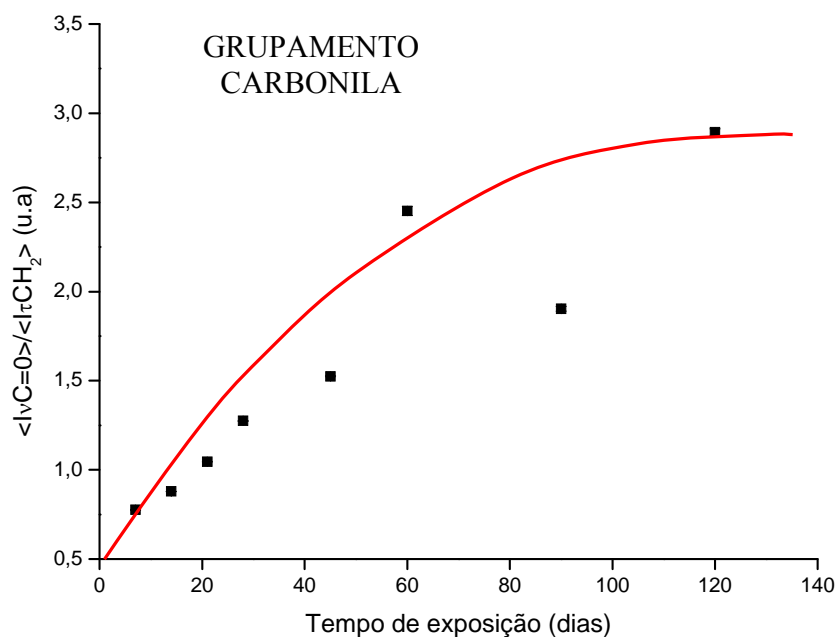


Figura 5.14: Gráfico proporcão do grupamento carbonila relativo à oxidação do PEUAPM.

$$I_{\nu c=o} = \frac{I_{1714}}{I_{2020}} \quad (\text{Eq. 5.7})$$

Onde I_{1714} = altura da banda relata para grupamento cetônico e I_{2020} = altura da banda referência τCH_2 .

A razão da absorbância I_{3370}/I_{2020} , **Figura 5.15**, foi usada para quantificar a contribuição dos grupamentos hidropéroxidos e álcoois, representada pela **Equação 5.8**.

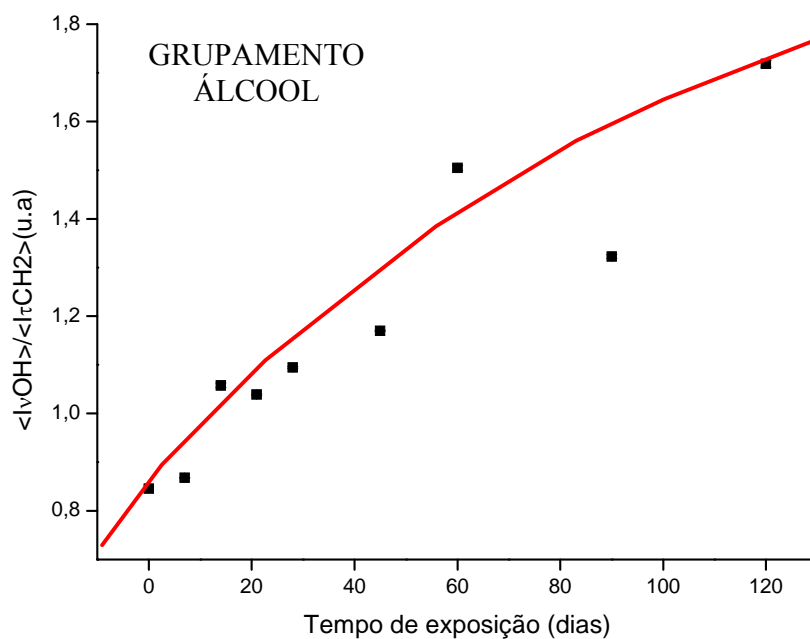


Figura 5.15: Gráfico proporcão do grupamento álcool relativo à oxidação do PEUAPM.

$$I_{\nu OH} = \frac{I_{3370}}{I_{2020}} \quad (\text{Eq. 5.8})$$

Onde I_{3370} = altura da banda relata para hidroperóxidos e álcoois.

As razões de absorbância I_{3605}/I_{2020} e I_{965}/I_{2020} , **Figuras 5.16 e 5.17**, foram usadas para avaliar o conteúdo de álcool não ligado ao hidrogênio e o conteúdo do trans-vinileno, respectivamente, e estão representados nas **Equações 5.9 e 5.10**.

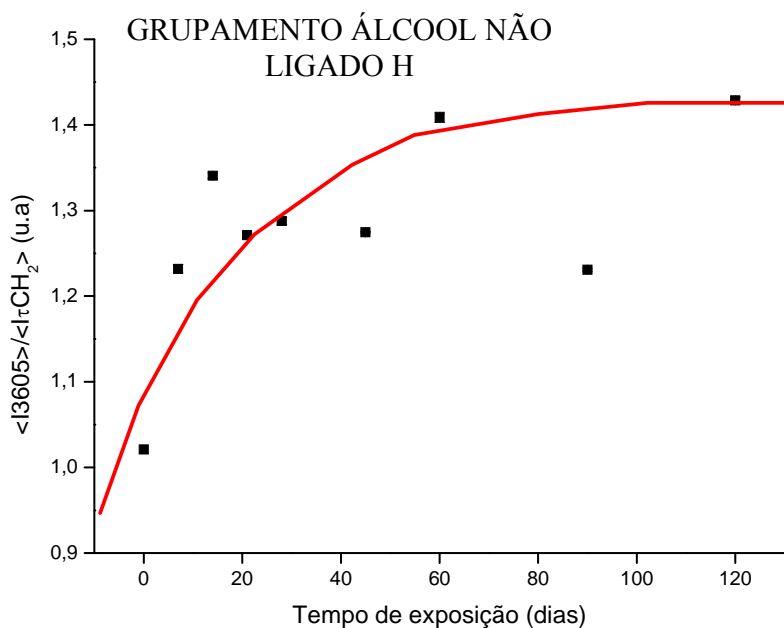


Figura 5.16: Gráfico proporcão do grupamento álcool não ligado ao H, relativo à oxidação do PEUAPM.

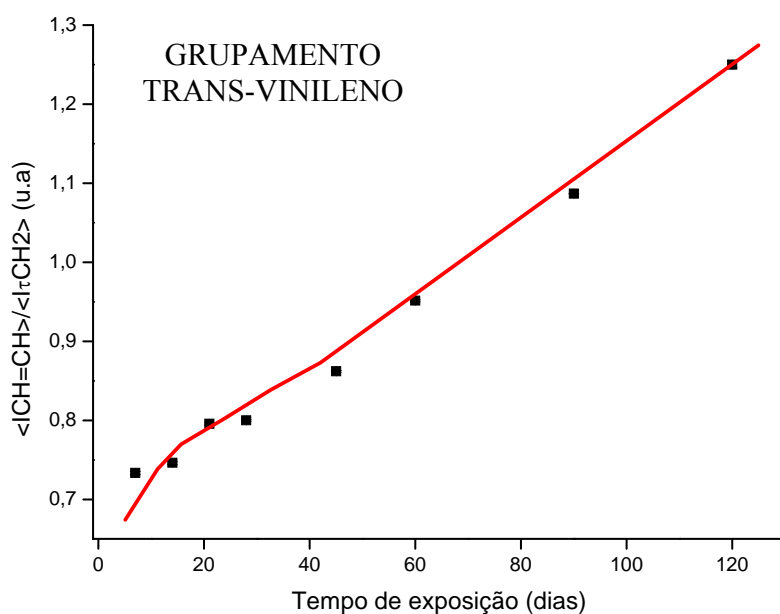


Figura 5.17: Gráfico proporcão do grupamento transvinileno relativo à oxidação do PEUAPM.

$$I_{ROH} = \frac{I_{3605}}{I_{2020}} \quad (\text{Eq. 5.9})$$

Onde I_{3605} = altura da banda relata para o grupamento álcool não ligado ao H.

$$I_{CH=CH} = \frac{I_{965}}{I_{2020}} \quad (\text{Eq. 5.10})$$

Onde I_{965} = altura da banda relata para o grupo trans-vinileno.

A razão de absorbância I_{1176}/I_{2020} , **Figura 5.18**, foi usada para avaliar o conteúdo de gama-lactona conforme **Equação 5.11** (REGGIANI *et al.*, 2007; TADDEI *et al.*, 2006; BRACCO *et al.*, 2007).

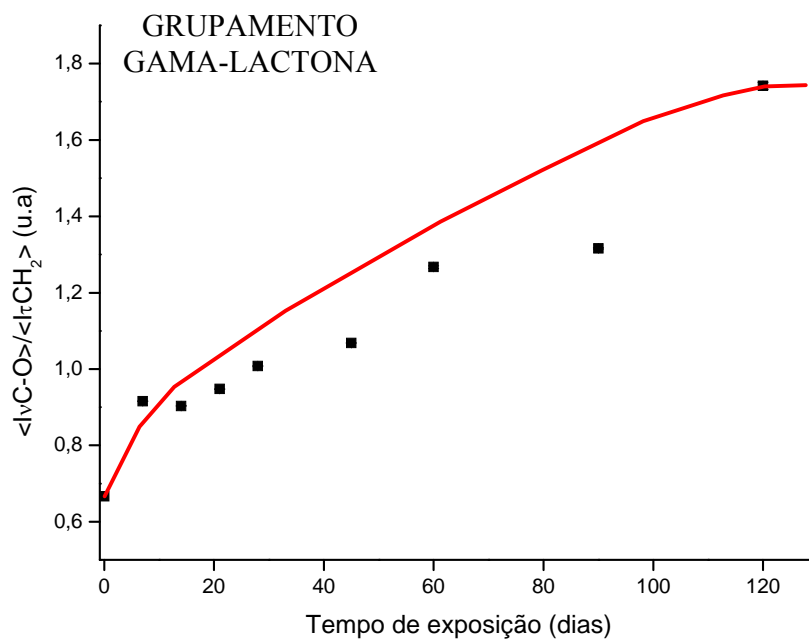


Figura 5.18: Gráficos proporcão do grupo gama-lactona relativo à oxidação do PEUAPM.

$$I_{\nu C-O} = \frac{I_{1176}}{I_{2020}} \quad (\text{Eq. 5.11})$$

Onde I_{1176} = altura da banda relata para grupamentos ésteres e lactona.

A variação das bandas analisadas está mostrada na **Figura 5.19** e os seus valores apresentados na **Tabela 5.4**. A intensidade da banda 2020cm^{-1} foi normalizada a 0,05 para todas as amostras em todos os tempos analisados.

Nota-se na **Figura 5.19** a predominância de maior concentração de hidroperóxidos sobre a carbonila até 21 dias de teste. A partir deste período observa-se um aumento acentuado da concentração da carbonila enquanto reduz-se a concentração de hidroperóxidos.

Para as espécies trans-vinileno e gama-lactona nota-se um aumento progressivo de suas concentrações em função do tempo, com queda à partir de 120 dias para ambas.

De modo geral, a **Figura 5.19** mostra que todas as espécies tenderam a queda em suas concentrações, à partir de 120 dias.

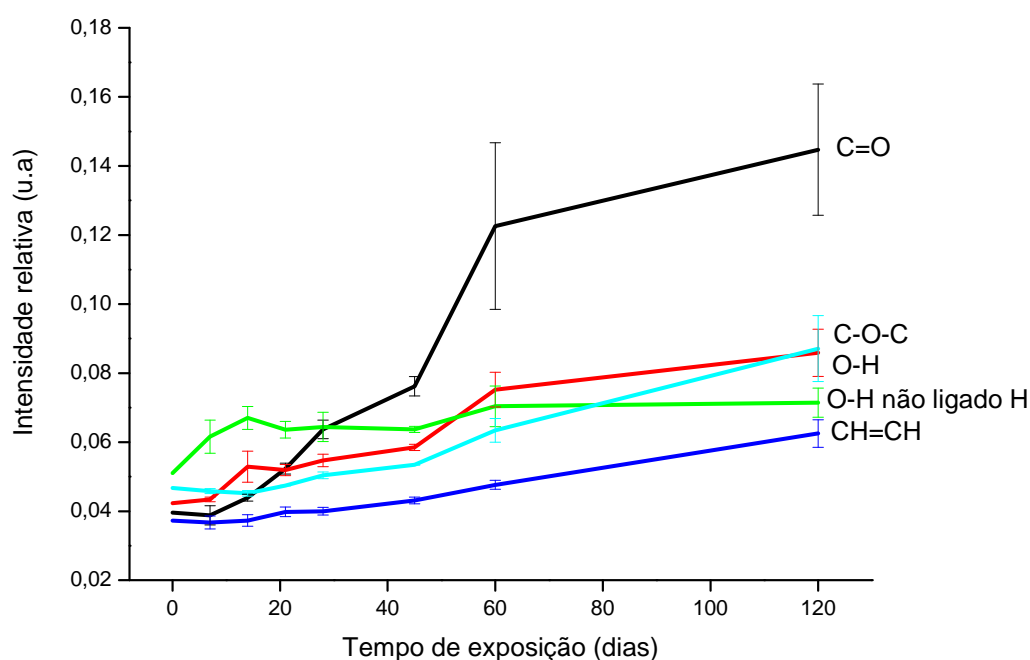


Figura 5.19: Gráfico de FTIR referente a absorção de bandas específicas no PEUAPM.

Tabela 5.4: Absorbância no FTIR para as intensidades específicas do PEUAPM.

AMOSTRAS	Média < I_{1718} > carbonila	Média < I_{3370} > hidroperóxido não ligado H	Média < I_{3605} > hidroperóxido	Média < I_{965} > trans- vinileno	Média < I_{1176} > gama- lactona
controle	0,0396	0,0423	0,0510	0,0373	0,0467
7 dias	0,0388	0,0434	0,0616	0,0367	0,0458
14 dias	0,0439	0,0529	0,0670	0,0373	0,0452
21 dias	0,0523	0,0519	0,0636	0,0398	0,0474
28 dias	0,0637	0,0547	0,0644	0,0400	0,0504
45 dias	0,0762	0,0585	0,0637	0,0431	0,0534
60 dias	0,1226	0,0752	0,0704	0,0476	0,0634
90 dias	0,0952	0,0661	0,0615	0,0543	0,0658
120 dias	0,1447	0,0859	0,0714	0,0625	0,0871
150 dias	0,1000	0,0728	0,0634	0,0608	0,0765

Estes resultados estão de acordo com a literatura onde a predominância destes grupos é determinantes para a confirmação da degradação oxidativa do PEUAPM.

KUPPER *et al.* (2004) afirmaram em seus estudos sobre análises por FTIR das alterações químicas ocorridas durante o envelhecimento do polietileno pelo intemperismo, que as bandas correspondentes ao estiramento do C-O de peróxidos e hidroperóxidos ocorrem nas regiões entre 1000cm^{-1} e 1300cm^{-1} . O modo de vibração relacionado ao estiramento do grupo O-H de hidroperóxidos livres está localizado na região entre 3560cm^{-1} e 3530cm^{-1} , enquanto a vibração do OH da ligação hidrogênio absorve na região entre 3550 e 3230cm^{-1} . As absorções entre 1100cm^{-1} e 1000cm^{-1} podem ser atribuídas ao modo estiramento C-O de hidroperóxidos, confirmadas por bandas fracas O-H acima de 3000cm^{-1} . A intensidade da absorção de hidroperóxido diminuiria com o tempo de envelhecimento devido às reações químicas produzindo cetonas, ésteres e ácidos. A intensidade da banda a 1250cm^{-1} e 1150cm^{-1} aumentaria com o tempo de envelhecimento. Esta banda pode ser originária de ésteres lineares longos.

O índice de oxidação (I_{ox}) foi calculado para todas as amostras e está representado no gráfico da **Figura 5.20**. Os dados plotados mostram que até 28 dias as amostras de PEUAPM não sofreram grandes alterações nos valores do índice de oxidação comparado ao

tempo zero. Entretanto, um forte aumento do I_{OX} é observado no intervalo de tempo compreendido entre 45 e 120 dias. A estabilização do processo parece ocorrer a partir deste período evidenciado em 150 dias.

O valor de I_{OX} encontrado para o PEUAPM foi de 0,03 e para a prótese recuperada foi de 5,4. Já para a amostra oxidada por 120 dias houve um forte aumento do I_{OX} com valor de 12,9, sendo 2,4 vezes maior do que o valor obtido com o PEUAPM recuperado. Aos 150 dias houve uma ligeira queda do I_{OX} chegando ao valor de 12,4 e tendendo à estabilização.

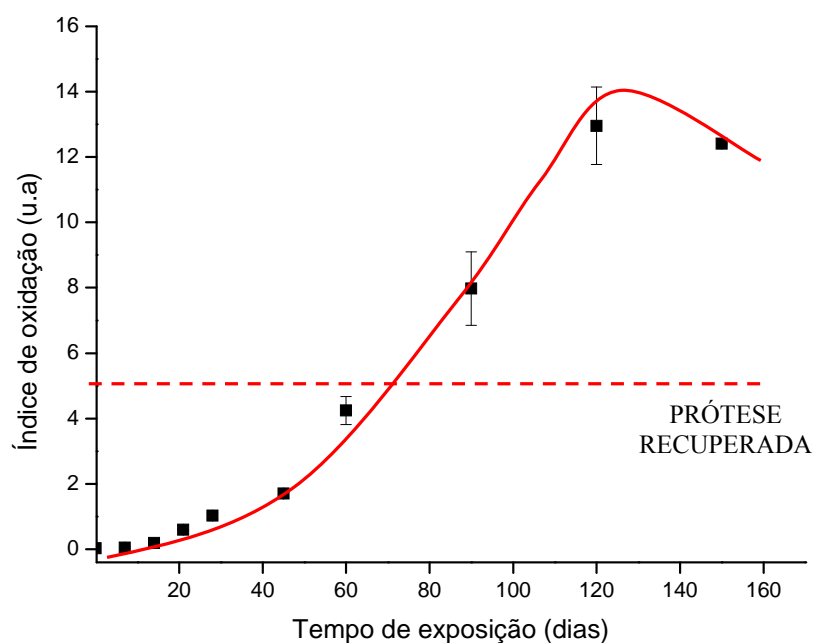


Figura 5.20: Gráfico índice de oxidação versus tempo do PEUAPM_{Ox} em H₂O₂.

Baseado nas informações até aqui citadas, pode-se afirmar que a degradação do PEUAPM_{Ox} submetidas ao envelhecimento acelerado em peróxido de hidrogênio foi eficiente e apresentou valores maiores de I_{OX} a partir de 90 dias, quando comparado com o PEUAPM_{Re} obtido de prótese recuperada, como mostra a **Figura 5.21**.

A relevância destes resultados é em possibilitar prever a durabilidade do implante a partir do seu I_{OX} .

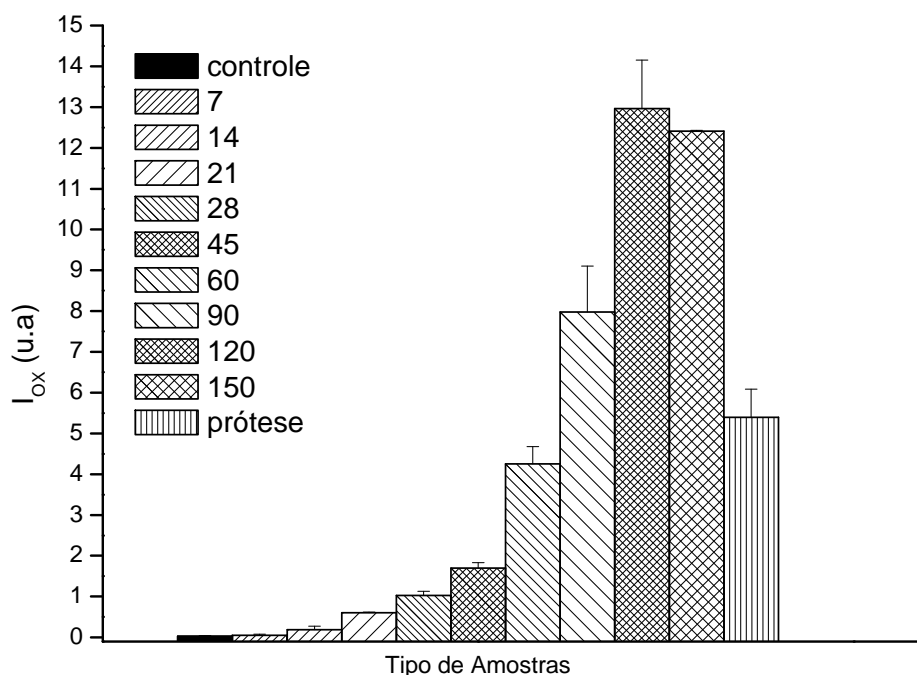


Figura 5.21: Gráfico comparativo dos I_{ox} entre PEUAPM controle, oxidado em H_2O_2 e recuperado de prótese falha.

Alguns autores (LEE *et al.*, 2000; DALBORG *et al.*, 2007) tem relatado valores de I_{ox} de implantes recuperado variando entre 0,1-0,55 para um tempo médio de utilização *in vivo* de 10 anos. Entretanto, o uso de solvente (xileno) nestes estudos levaria à redução do índice de oxidação. Nesta pesquisa, o valor encontrado de I_{ox} de 5,4 para o PEUAPM_Re foi estimado ser de uma prótese com aproximadamente 10 anos, sendo 3 anos referente à prótese implantada e 7 anos após recuperada. Sendo assim, estima-se que o envelhecimento acelerado em H_2O_2 obtido neste estudo corresponderia a aproximadamente 24 anos.

Os resultados obtidos por FTIR confirmam que o peróxido de hidrogênio é potente oxidante do PEUAPM. Através de sua catálise, o H_2O_2 pode ser convertido em radical hidroxila ($\cdot OH$) altamente reativo. Uma vez que o H_2O_2 decompõe-se exotermicamente em água e gás oxigênio espontaneamente, com mostrado na **Equação 5.1**, este processo é muito favorável termodinamicamente ($\Delta H^\theta = -98,2 \text{ kJ.mol}^{-1}$; $\Delta G^\theta = -119,2 \text{ kJ.mol}^{-1}$; $\Delta S = 70,5 \text{ kJ.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$)

É possível que o PEUAPM_Re tenha sido protegido de posteriores oxidações pela baixa disponibilidade de O_2 no corpo ou que a formação de desgaste e debris talvez tenha sido mais rápida do que a oxidação *in vivo*. Tem-se postulado que quando a propagação do desgaste é mais rápida do que a oxidação, o PEUAPM em contato com a cabeça femoral não tem a oportunidade de degradar antes de ser removido (COSTA *et al.*; 2002; KURTZ *et al.*; 2005).

LEE *et al.* (2000) afirmaram que deve haver um valor limiar distinto para o índice de oxidação que deve ser excedido a fim de que níveis significativos de produtos de oxidação sejam gerados no PEUAPM. Este fato parece estar relacionado ao fato do material ter de alcançar algum nível crítico de concentração de radicais livres para permitir que a reação de oxidação se propague. Nesta pesquisa este valor foi mais pronunciado a partir do 28º dia onde se pôde identificar por FTIR a presença de produtos carbonila e hidroperóxidos provenientes da degradação oxidativa.

Na **Figura 5.22** o valor do índice de oxidação foi plotado em função da raiz quadrada do tempo para investigar alguns aspectos da cinética da reação de oxidação do PEUAPM.

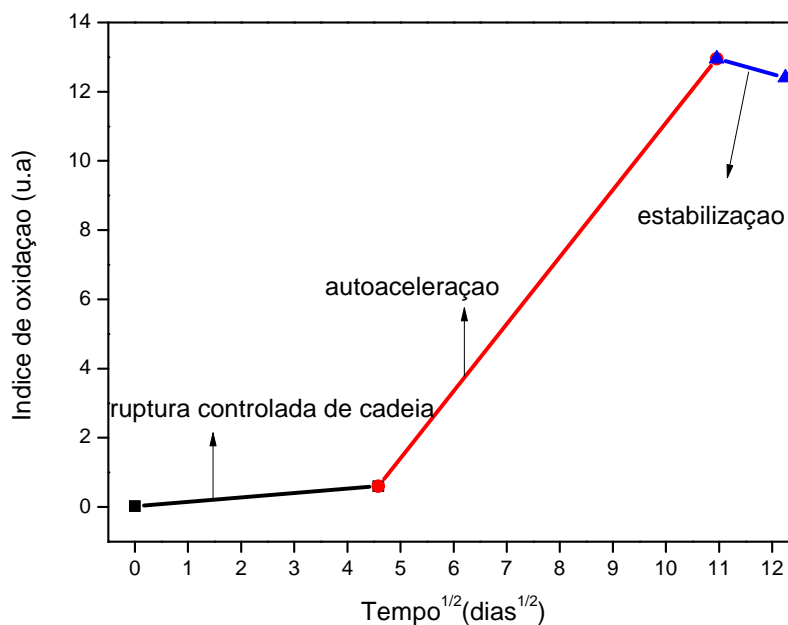


Figura 5.22: Cinética do índice de oxidação do PEUAPM com H_2O_2 .

A correlação matemática ilustra claramente três estágios típicos da degradação. O primeiro estágio para baixos índices de oxidação é chamado de reação de iniciação (autooxidação) e pode ser proveniente de defeitos na cadeia polimérica ou pelo domínio de radicais de vida curta. Em ataque químico este processo de iniciação depende mais da cinética do que da termodinâmica. Nesta etapa da degradação macro-radicaís reagem com o oxigênio do H_2O_2 . Na seqüência da propagação, os radicais $PEOO\cdot$ retiram hidrogênio do polímero resultando na formação de hidroperóxidos. Estes hidroperóxidos decompõem-se rápido, alcançando radicais altamente reativos, acelerando o processo de oxidação (KUPPER *et al.*; 2004).

O Segundo estágio envolve a propagação da degradação (autoaceleração). Na polimerização iniciada com peróxidos são formadas terminações do tipo M-O-OH (M=macromoléculas) onde a ligação O-O pode ser facilmente rompida à temperatura ambiente, levando à formação de radicais M-O \cdot e O-H. O macro-radical alcóxil será capaz de retirar hidrogênio com energia de ligação C-H baixa. Sendo assim, ocorrerá um ataque químico interno no PEUAPM, iniciando o processo de degradação radicalar. Uma outra explicação possível é a prevalência de alta concentração de radicais de vidas longa que têm mais tempo para alcançarem a região cristalina e, então, reagir com o oxigênio disponível. Logo, se oxigênio é disponível, macro-radicaís alquila podem reagir com o oxigênio desencadeando o processo de oxidação.

No terceiro estágio (estabilização) existe pouco oxigênio disponível para reagir com os radicais livres e a oxidação do PEUAPM tende a estabilizar. Nas condições experimentais desta pesquisa e a partir de informações obtidas do gráfico da **Figura 5.22**, o estágio da autoaceleração foi mais significativo de 4,5 para 10,9 dias^{1/2} enquanto a taxa de estabilização dominou após 11 dias^{1/2}.

Segundo (DE PAOLI, 2008) no caso do polietileno é surpreendente que o rompimento das ligações C-H predomine sobre o rompimento das ligações C-C, pois a energia necessária para quebrar estas últimas é mais baixa. A explicação pode estar no fato dos radicais livres hidrogênio poderem se difundir mais facilmente pela massa polimérica, independentemente

da temperatura, do que os macrorradicais alquílicos. Desta forma os radicais hidrogênicos provocam reações secundárias e os alquílicos recombinaem (DE PAOLI, 2008).

Segundo DE PAOLI (2008) a autooxidação de polímeros é um processo autocatalítico. Como outros processos autocatalíticos, ele ocorre em três etapas: iniciação, propagação e terminação. A iniciação pode ocorrer a partir de defeitos na cadeia polimérica ou contaminações geradas no processo de polimerização. Obviamente só ocorre na presença de O_2 . De um modo geral, as energias das ligações C-C na cadeia carbônica sofrerão forte efeito dos grupos químicos em sua vizinhança. Pode ocorrer o deslocamento da energia de ligação para menores valores em função da proximidade de insaturações e da ligação do carbono com o heteroátomos o primeiro radical peroxila. É necessário que ocorra uma cisão homolítica de uma ligação química na cadeia polimérica ou em um grupo lateral, para que se forme este primeiro macrorradical alquílica.

A **Figura 5.23** mostra o gráfico obtido do cálculo de cristalinidade das amostras de PEUAPM envelhecidas em H_2O_2 versus índice de oxidação em função do tempo. Nota-se que os valores da cristalinidade sofreram discretas oscilações na fase inicial da degradação até o período de 45 dias, mas já demonstrando uma tendência à queda à medida que aumentava o índice de oxidação. Não obstante, no período compreendido entre 45 e 60 dias, quando houve um aumento brusco da inclinação da reta referente ao I_{OX} , a cristalinidade apresentou uma queda abrupta oscilando, a partir de então, inversamente proporcional ao índice de oxidação. Os resultados obtidos diferem dos encontrados na literatura e uma provável explicação seja a dispersão grande nas medidas.

Costa *et al.* (2002) afirmaram ser possível identificar um branqueamento em áreas onde nenhum aumento na cristalinidade é encontrado. Este branqueamento seria então provavelmente o primeiro estágio do processo de degradação, envolvendo algum tipo rearranjo de moléculas. A cristalinidade mensurável vem em seguida e finalmente ocorre a oxidação. Estes autores afirmam ainda que uma vez que a cristalinidade é calculada pela relação da absorção da banda cristalina a 1896cm^{-1} para a absorção da banda amorfa a 1305cm^{-1} , quando estudando alterações na absorção de duas bandas sobre uma sessão

transversal, nota-se que a absorção cristalina é mais ou menos constante. Então, seria uma diminuição na banda amorfa a responsável pelo aumento na cristalinidade calculada. Seria como se o material amorfo estivesse desaparecendo, mas nenhum novo cristalito é formado.

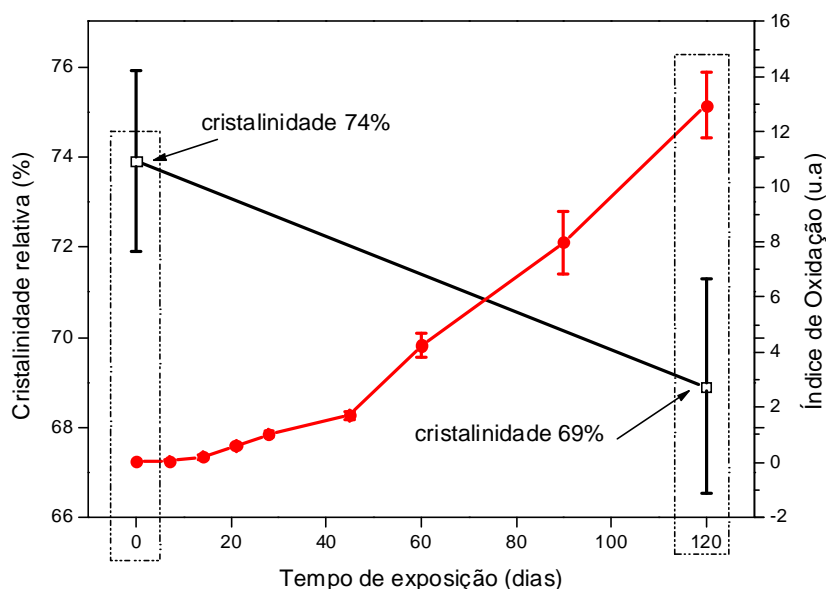


Figura 5.23: Gráfico de cristalinidade x oxidação x tempo obtido do PEUAPM_Ox em H_2O_2 .

De modo geral existe uma boa relação entre cristalinidade e oxidação em amostras oxidadas e esterilizadas com radiação gama: as áreas mais oxidadas também tendem a ser as mais cristalinas (REGGIANI *et al.*, 2007; COSTA *et al.*, 2002). Nesta pesquisa, entretanto, esta boa correlação parece não existir para as amostras envelhecidas em meio químico.

A importância de se acompanhar a evolução da cristalinidade dentro de um processo de envelhecimento acelerado é que alterações na porcentagem de cristalinidade podem alterar significativamente a propagação de trinca por fadiga, a dureza, o limite de resistência, o limite de escoamento e o alongamento até a ruptura de PEUAPM irradiado e submetido a tratamento térmico (WILIE *et al.*, 2006; RIMNAC *et al.*, 2005).

A **Figura 5.24** mostra imagens de MEV do PEUAPM envelhecido com H_2O_2 evidenciando diferentes diferenças morfológicas em função do tempo de incubação.

É notável a transição de uma superfície rugosa para uma mais lisa com o aumento do tempo de oxidação, **Figura 5.24 a, b e c**.

A mostra envelhecida por 90 dias apresenta delaminações e orifícios ao longo de toda a superfície, **Figura 5.24 d**.

Os resultados obtidos são confirmados na literatura onde o aumento da oxidação torna o PEUAPM mais frágil, com redução da ductilidade representada pela perda da rugosidade e pelo aspecto mais polido, em escala microscópica.

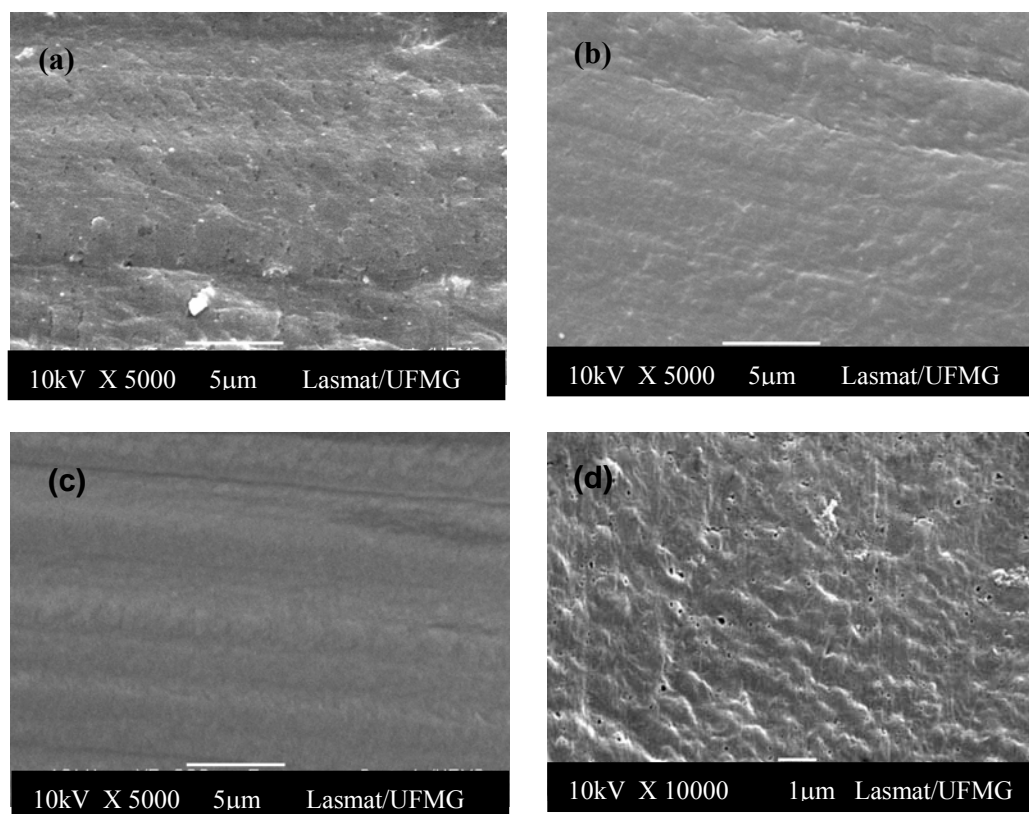


Figura 5.24: Imagens de MEV obtidas do PEUAPM oxidado com H_2O_2 : (a) 7 dias 5000X; (b) 14 dias 5000X; (c) 28 dias 5000X e (d) 90 dias 10.000X.

5.2.2 Envelhecimento Acelerado em Peróxido de Benzoíla

Os espectros de FTIR obtidos para as amostras de PEUAPM oxidadas com peróxido de benzoíla nas mesmas condições experimentais que os obtidos para o peróxido de hidrogênio, não evidenciaram aumento da intensidade das bandas da carbonila a 1720cm^{-1} considerada a principal banda relatada para a oxidação do PEUAPM.

O espectro global de FTIR para amostras oxidadas com peróxido de benzoíla (PB) é mostrado na **Figura 5.25** destacando as bandas de interesse. De fato, não se observa aumento de intensidade das bandas relacionadas para a oxidação no período de 0 a 60 dias.

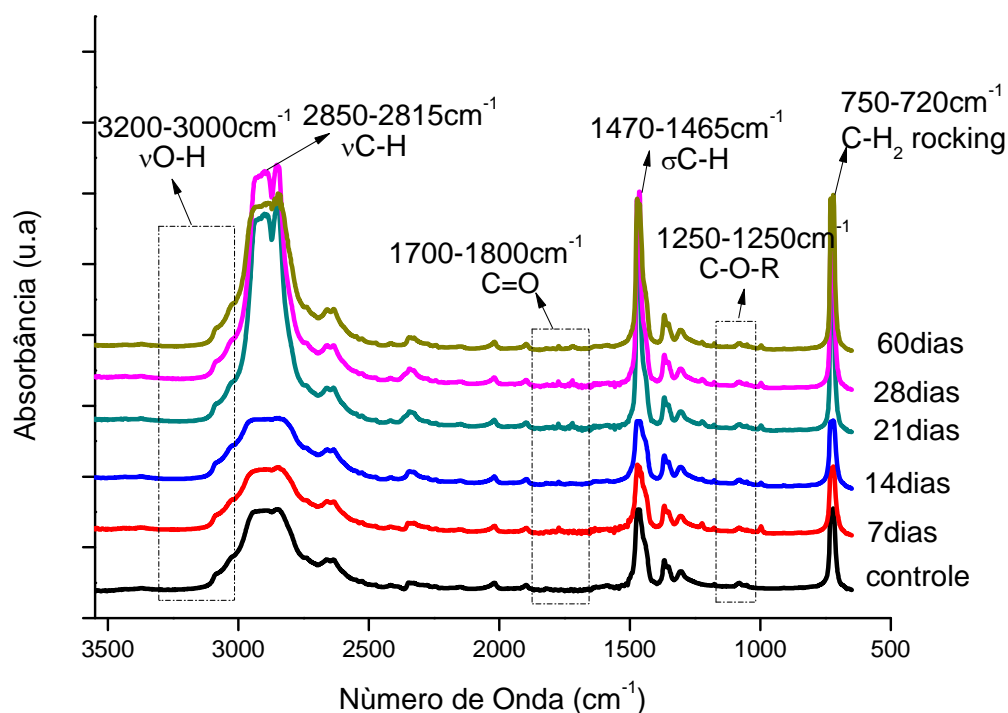


Figura 5.25: Espectro típico de FTIR do PEUAPM oxidado em peróxido de benzoíla.

Entretanto, na **Figura 5.26** nota-se um duplete na região de interesse entre $2800-3200\text{cm}^{-1}$ que corresponde ao anel benzênico, sugerindo ter havido uma incorporação do peróxido de benzoíla na cadeia do PEUAPM.

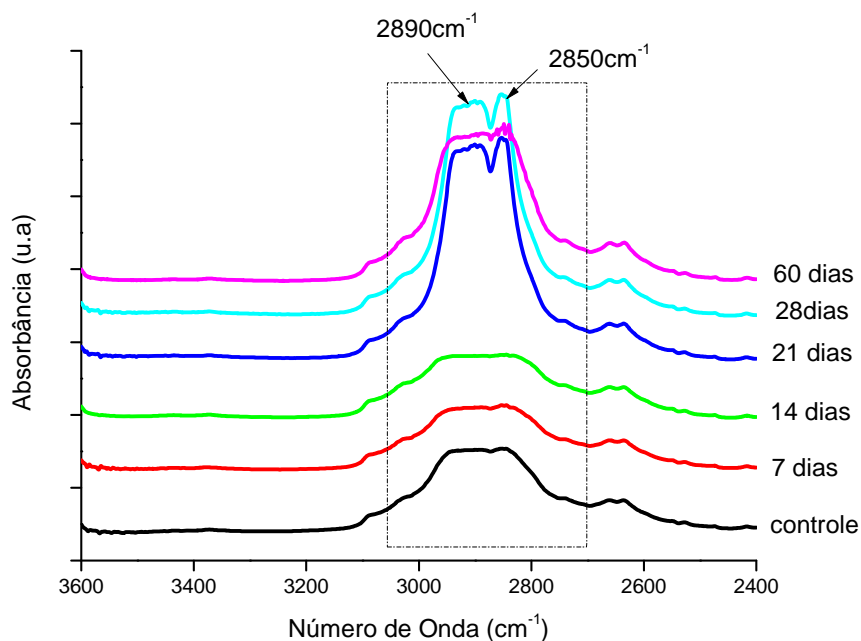


Figura 5.26: Espectro de FTIR do PEUAPM-Ox com peróxido de benzoíla destacando a banda de interesse 2800-3200 cm^{-1} .

A **Figura 5.27** destaca a banda de interesse a 1500-1400 cm^{-1} referente ao dobramento do CH, onde um aumento da absorção pode ser observado progressivamente em função do tempo de oxidação.

A **Figura 5.28** representa o espectro de FTIR do PEUAPM-Ox com peróxido de benzoíla por período de até 60 dias. Nota-se que não houve aumento significativo de intensidade da banda da carbonila centrada a 1720 cm^{-1} comparada ao grupo controle.

Os valores obtidos para o índice de oxidação das amostras envelhecidas em peróxido de benzoíla 5% até 60 dias não foram expressivos. Acredita-se que não seja adequado o cálculo do índice de oxidação do PEUAPM com peróxido de benzoíla pela ISO 5834-4.

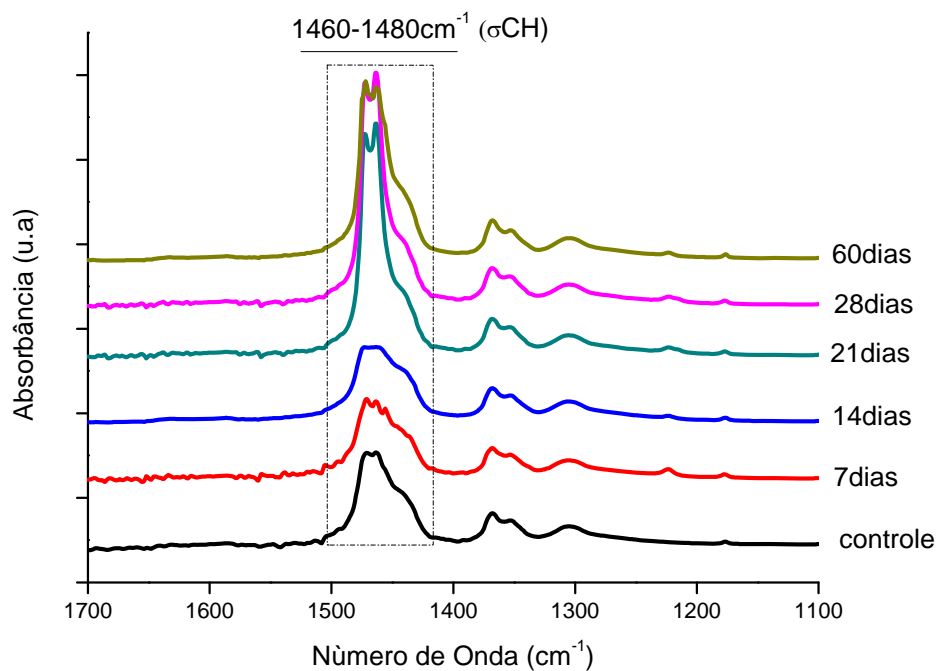


Figura 5.27: Espectro de FTIR do PEUAPM-Ox com peróxido de benzoíla destacando a banda de interesse 1400-1500 cm^{-1} .

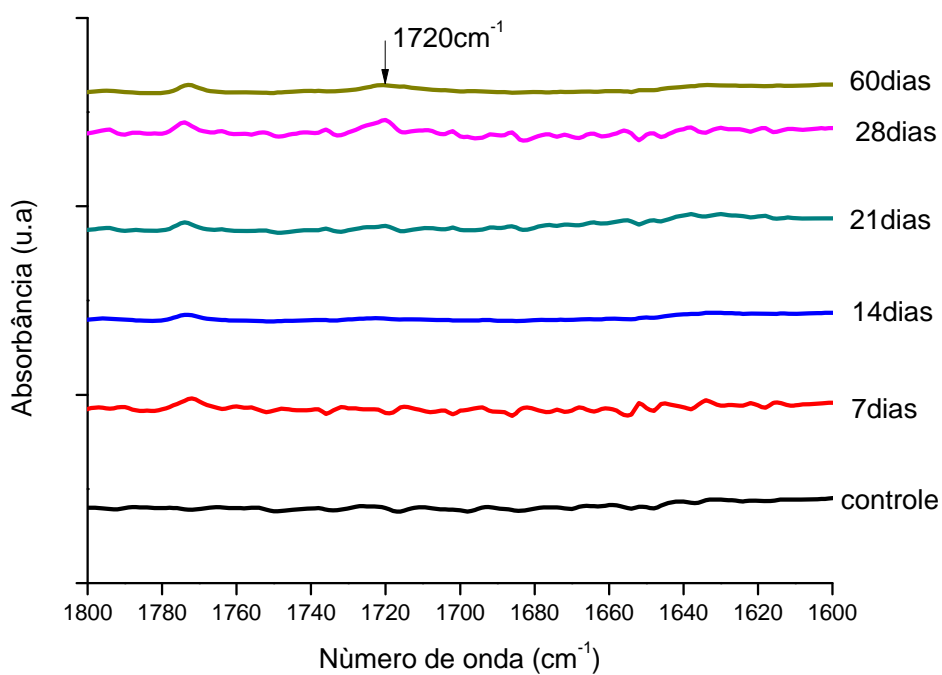


Figura 5.28: Espectro de FTIR do PEUAPM-Ox com peróxido de benzoíla.

5.2.3 Envelhecimento Acelerado do PEUAPM com superfície modificada

O estudo do envelhecimento acelerado com peróxido de hidrogênio do PEUAPM submetido à modificação de sua superfície através de lixamento com lixa d'água 600 foi realizado com o intuito de se verificar como a presença de defeitos interfere nas análises de degradação oxidativa do PEUAPM por FTIR no que tange aos grupos químicos presentes e aos valores dos índices de oxidação.

Os espectros obtidos de 21, 28, 45, 60 e 90 dias de períodos de teste são mostrados na **Figura 5.29** e **Figura 5.30**. Nota-se absorção mais pronunciada para o grupamento carbonila ($1720-1740\text{cm}^{-1}$) em 90 dias.

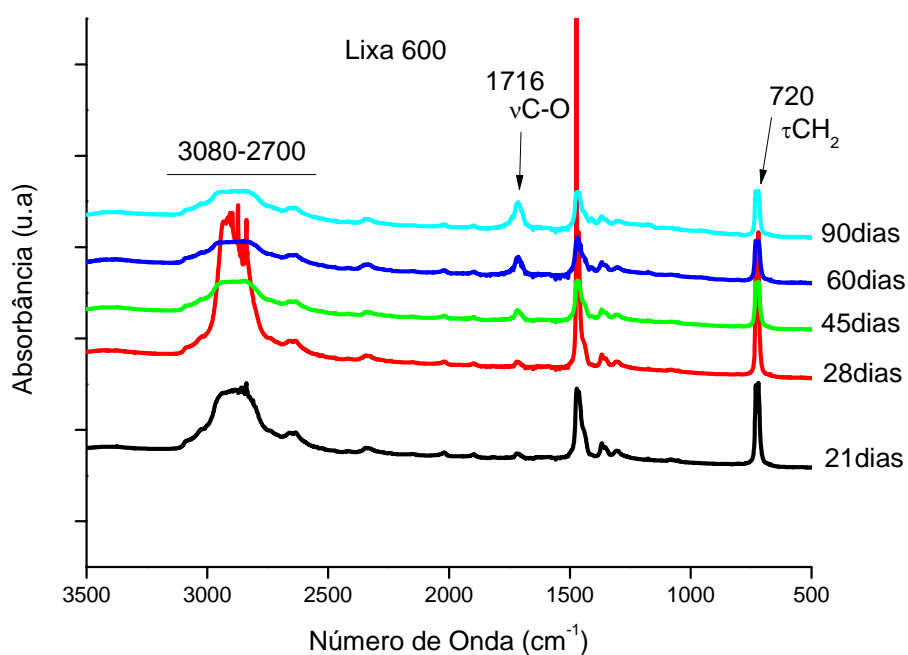


Figura 5.29: Espectro de FTIR do PEUAPM_600 oxidado em H₂O₂.

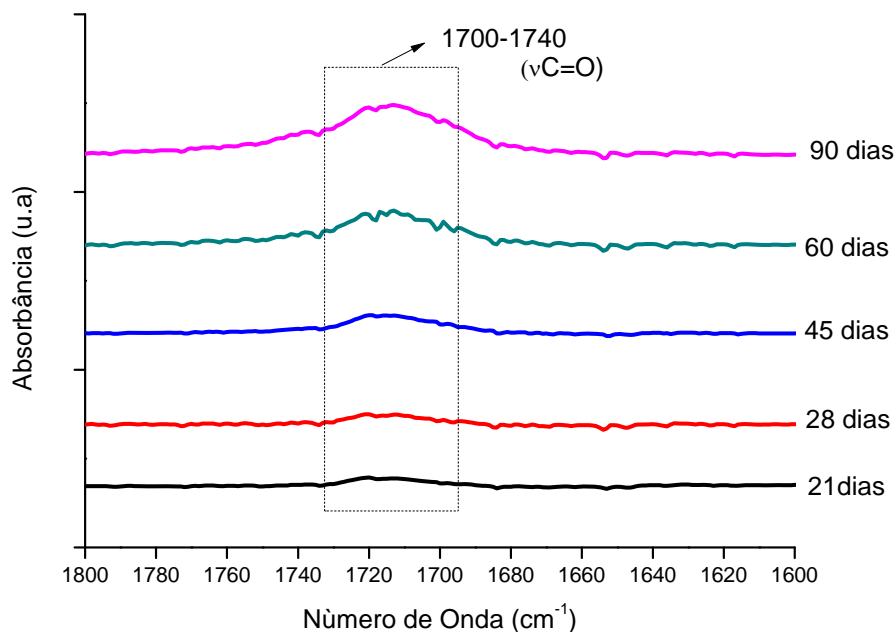


Figura 5.30: Espectro de FTIR do PEUAPM_600 oxidado em H₂O₂ enfatizando o grupamento carbonila.

Os resultados são endossados pelo maior índice de oxidação obtido para o PEUAPM_600 em 120 dias com valor de 7,7 como mostra a **Figura 5.31**. Entretanto este valor de I_{OX} é menor do que o obtido para a amostra oxidada com peróxido de hidrogênio no período de 90 dias.

Estes resultados são coerentes quando se afirma que defeitos na superfície do polietileno favorecem o aumento progressivo da sua degradação oxidativa, mas o valor menor alcançado para o I_{OX} do PEUAPM_600 pode ter ocorrido pela menor disponibilidade de oxigênio no volume do PEUAPM. Sabe-se que a região com defeitos apresenta uma maior área quando comparada com uma superfície lisa. É possível que a elevada densidade de defeitos e maior área de superfície tenham favorecido a aceleração do processo oxidativo, formado um fino “filme” na superfície modificada dificultando a penetração de O₂ no volume do material. Este filme impossibilitaria que ocorresse a etapa mais lenta da oxidação. Uma vez favorecida a aceleração do processo oxidativo na superfície mais externa, acredita-se que não foi possível o O₂ difundir-se no PEUAPM e continuar a cascata de reação de oxidação do polímero.

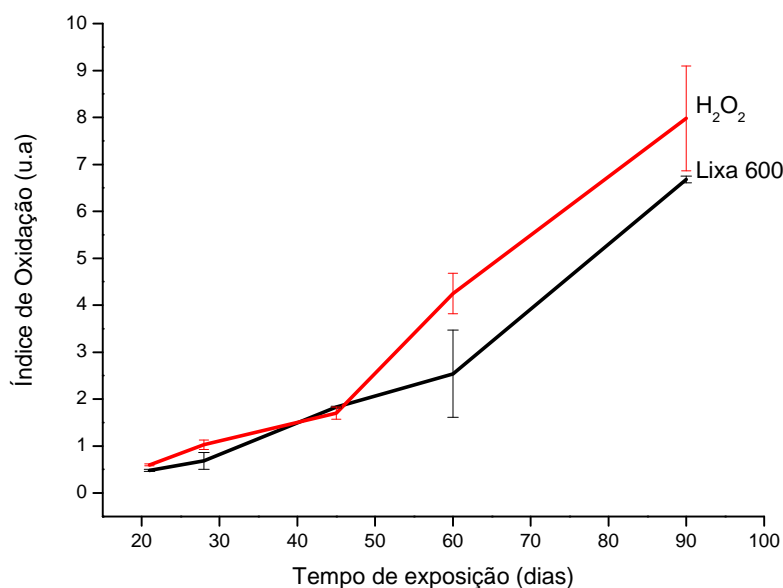


Figura 5.31: Gráfico do índice de oxidação x tempo do PEUAPM_600.

Sabe-se que o processo de oxidação do PEUAPM ocorre no volume do material. Trata-se de um mecanismo complexo ainda não totalmente compreendido. A complexidade do processo é devido a fase sólida do PEUAPM, onde as reações são controladas pela cinética e não pela termodinâmica.

5.3 Caracterização do PEUAPM de Prótese Recuperada

▪ *Observação Estereomicroscópio Binocular (MO)*

A **Figura 5.32 a** mostra imagem com aumento 40X do PEUAPM recuperado de prótese falha com destaque para a região 1 (pósterio-medial) de maior sollicitação. Nota-se uma coloração amarelada de toda a superfície do PEUAPM, com presença de orifícios e delaminações bem delimitadas. Estes aspectos são evidenciados em escala macroscópica, apontados pela seta da **Figura 5.32 b** onde observa-se um desgaste muito elevado na região de atrito que se estende por todo o polietileno demonstrando haver uma intensa erosão. A seta da **Figura 5.32 c** aponta para uma banda branca. Estudos afirmam que a oxidação aparece como uma banda branca que é visível macroscopicamente e que uma má consolidação destas amostras seria a sua provável causa. O surgimento de uma banda

branca seria o primeiro estágio de um processo de degradação que envolve algum tipo de rearranjo molecular (COSTA *et al.*, 2002).

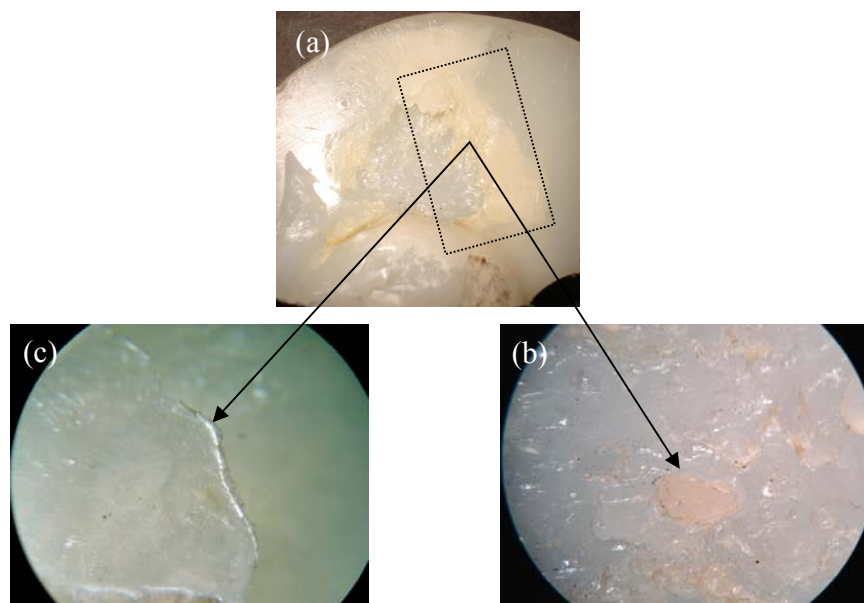


Figura 5.32:Imagem macroscópica da região póstero-medial (1) do PEUAPM recuperado evidenciando delaminações (b) e a banda branca (c).

Segundo DALBORG *et al.* (2007) o exame visual com microscópio ótico é uma técnica adequada para se obter uma estimativa do grau de desgaste, do grau de consolidação e o surgimento da banda branca. Neste estudo, a banda branca aparece imediatamente abaixo da superfície, sugerindo que o PEUAPM_Re tenha sido esterilizado com radiação gama em ar, de acordo com os autores.

- ***Microscopia de Varredura e Espectômetria de Energia Dispersiva de Raios-X***

Imagens de microscopia eletrônica de varredura foram obtidas da região 1 da prótese falha recuperada e são mostradas na **Figura 5.33** e **Figura 5.34**.

Na **Figura 5.33** observa-se um aspecto em lascas da superfície superior do PEUAPM recuperado com presença de orifícios e delaminações, com a região central mais cristalina e a borda externa com aspecto mais rugoso.

A **Figura 5.34** destaca a região de transição entre regiões mais oxidada **Figura 5.34 a** e menos oxidada **Figura 5.34 b** do PEUAPM_Re. Nota-se o aspecto mais liso relatado para a região de maior oxidação.

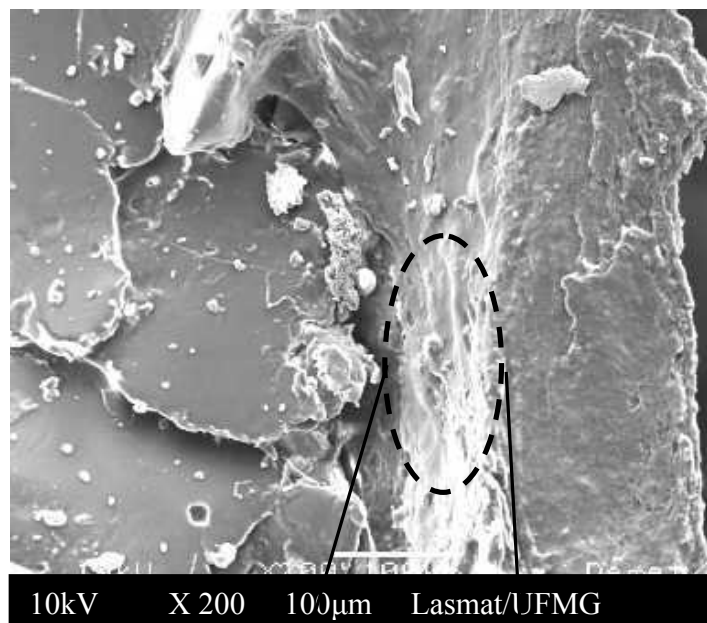


Figura 5.33: Imagem de MEV em ampliação de 200X do PEUAPM recuperado evidenciando orifícios, delaminações e em destaque a zona branca.

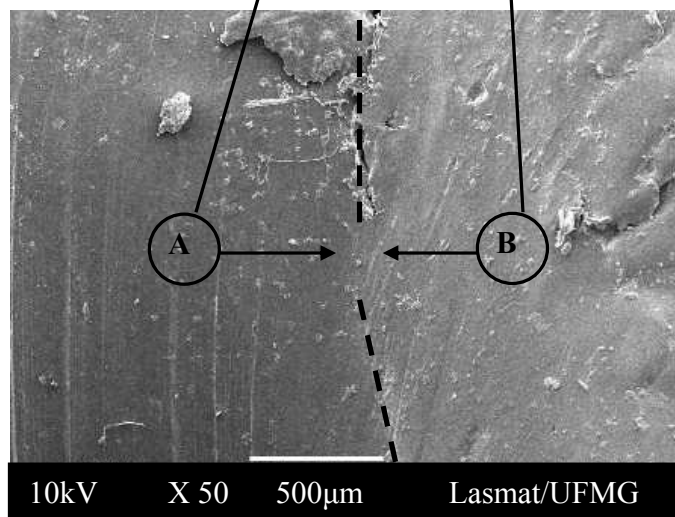


Figura 5.34: Imagem de MEV em ampliação de 50X do PEUAPM recuperado evidenciando a zona branca de transição com o lado (a) representando a região mais oxidada e o lado (b) mais rugoso refere-se à região de menor oxidação.

Espectro típico de EDS obtido para o PEUAPM-Re apresentado na **Figura 5.35** evidenciaram a presença de Silício (Si), Sódio (Na) e Cálcio (Ca) em menor proporção.

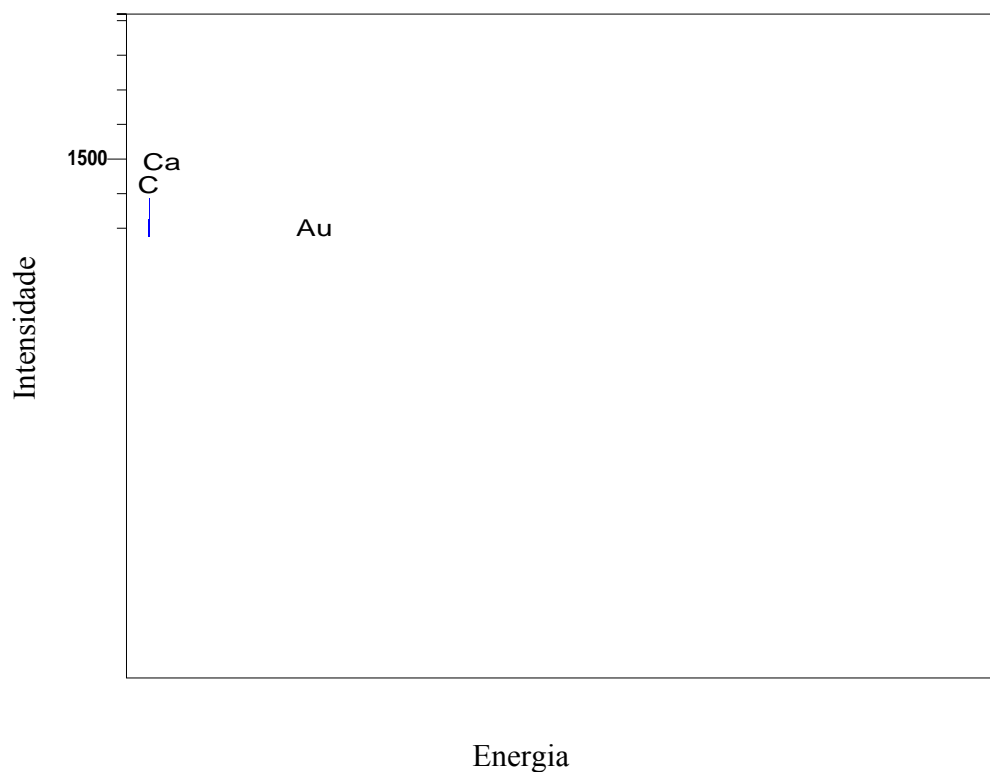


Figura 5.35: Gráfico de EDS do PEUAPM recuperado de prótese falha.

▪ **Análise Espectroscópica por Infravermelho**

O espectro de FTIR típico do PEUAPM_Re obtido da sub-superfície da região superior pósterior medial (região 1) ilustrado na **Figura 5.36** destaca as bandas de interesse associadas ao processo de degradação oxidativa.

Os espectros de FTIR para as amostras controle e região 1 da prótese recuperada apresentam bandas específicas relacionadas ao PEUAPM como mostra a **Figura 5.37**. A análise dos espectros permite verificar o maior alargamento da banda referente ao grupamento carbonila ($1680-1785\text{cm}^{-1}$) para a prótese recuperada. As intensidades das bandas associadas ao dobramento do CH_2 e estiramento do C-O mantiveram-se praticamente inalteradas. Estes achados confirmam o maior nível de oxidação da prótese.

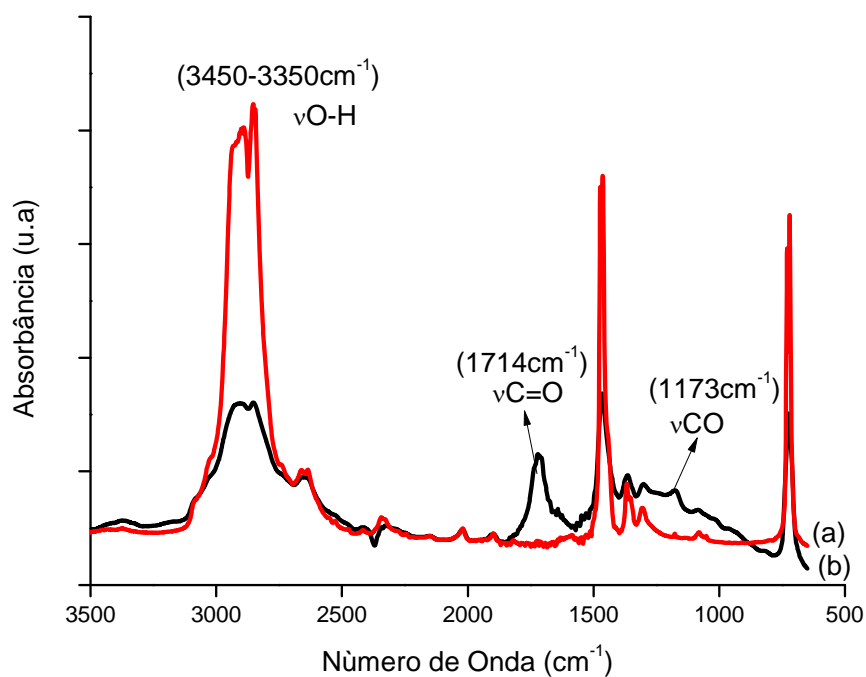


Figura 5.36: Espectro típico de FTIR controle (a) e da região 1 do PEUAPM_Re (b).

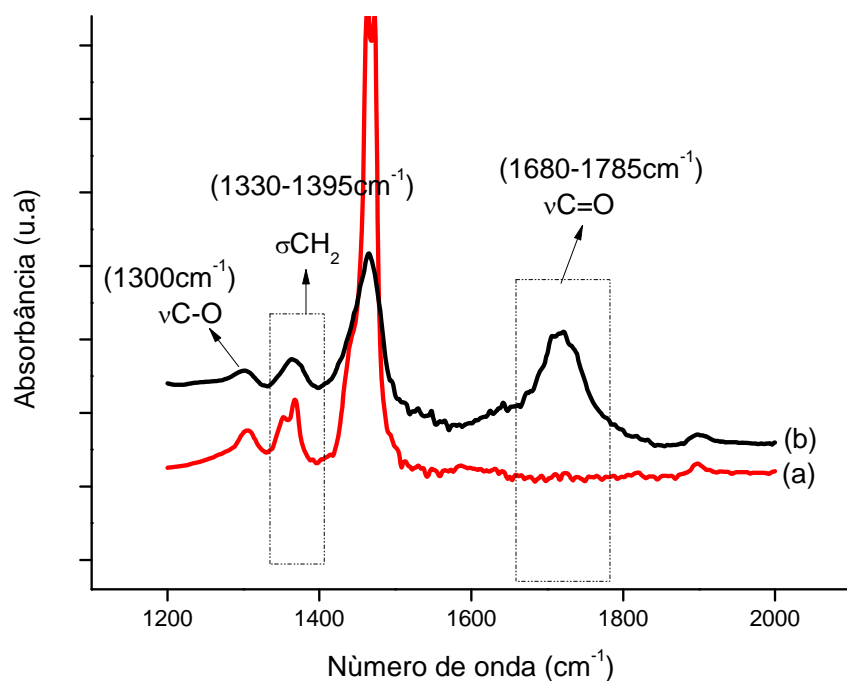


Figura 5.37: Espectro de FTIR do controle (a) e do PEUAPM_Re (b) destacando as bandas de interesse.

O espectro de FTIR da **Figura 5.38** destaca o aumento da absorção da banda da carbonila localizada a 1714cm^{-1} resultante de degradação oxidativa do PEUAPM-Re.

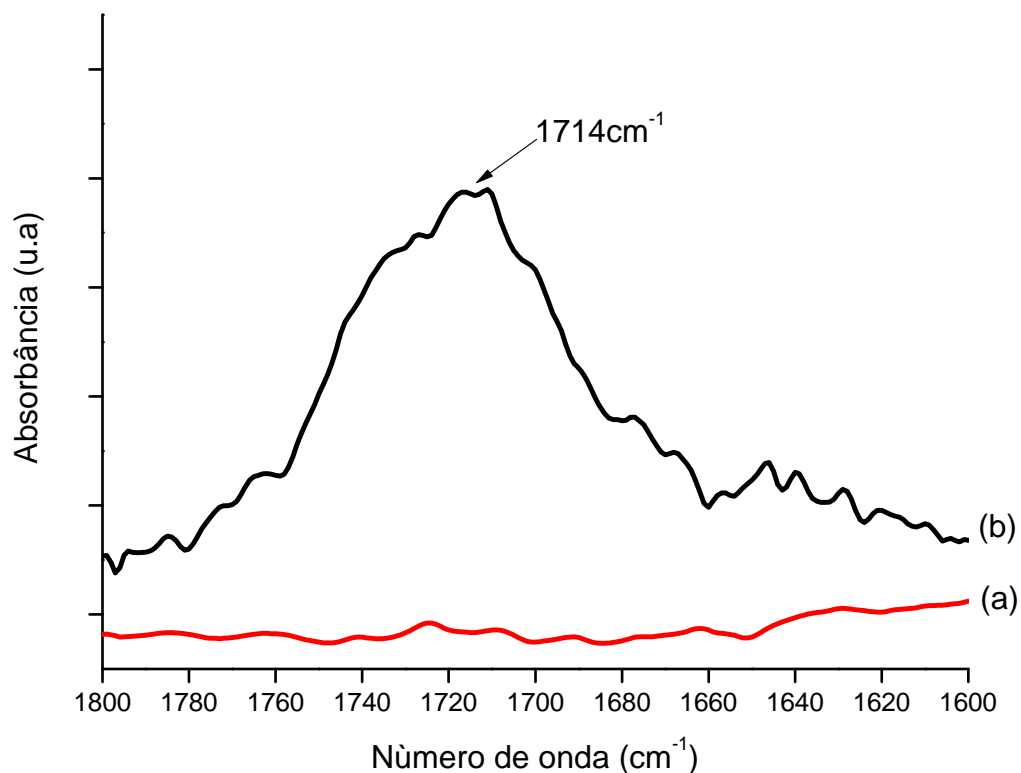


Figura 5.38: Espectro de FTIR controle (a) e do PEUAPM_Re (b) enfatizando a banda da carbonila.

As regiões analisadas pósterio-medial interna (1) e pósterio-medial externa (2) da superfície superior do PEUAPM, ilustradas na **Figura 5.39**, e a região pósterio-medial interna (3) da superfície inferior do polietileno não representada aqui e localizada na projeção inferior da região 1.

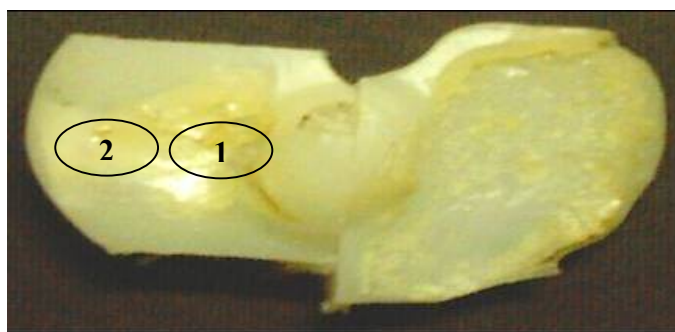


Figura 5.39: Regiões analisadas do PEUAPM-Re . Região (1) pósteromedial interna e região (II) pósteromedial externa.

O cálculo do índice de oxidação (I_{OX}) por FTIR aponta para uma maior oxidação da sub-superfície da região 1 do PEUAPM-Re com valor de I_{OX} de 5,4. O menor valor para I_{OX} foi de 0,95 e encontrado para a superfície externa da região inferior da prótese (região 3) como mostra a **Figura 5.40** (D. P = média das oxidações por região).

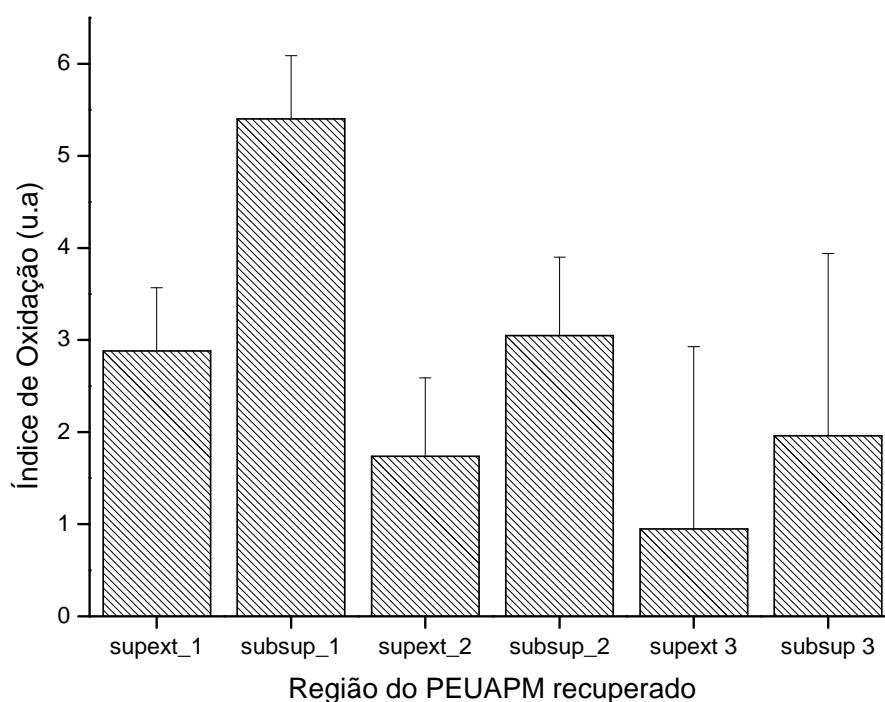


Figura 5.40: Gráfico dos índices de oxidação das regiões analisadas do PEUAPM_Re: superfície da região 1 (supext_1); sub-superfície da região 1 (subsup_1); superfície da região 2 (supext_2); sub-superfície da região 2 (subsup_2); superfície da região 3 (supext_3); sub-superfície da região 3 (subsup_3) .

A partir dos resultados mostrados na **Figura 5.40** nota-se que as regiões da camada superior da prótese, ou seja, aquela em contato com o côndilo femoral e submetida a constante sobrecarga de cisalhamento durante a marcha, representam as regiões de maior carregamento.

O fato das sub-superfícies sofrerem a maior degradação oxidativa provavelmente se deve ao fato do PEUAPM_Re ser irradiado com radiação gama onde sabe-se que a oxidação é menor na superfície e aumenta para um máximo em torno de 2mm de profundidade segundo (COSTA *et al.*; 2002). Este mecanismo se dá, provavelmente, pelo fato de que a interação da radiação gama com a matéria, aumenta com a densidade do meio e, assim, no final da trajetória o número de colisões é bem maior. Este mecanismo pode ser reforçado pela maior disponibilidade de oxigênio nestas regiões ou pela presença de radicais de meia vida longa.

Os resultados de FTIR nos permitem afirmar que o PEUAPM analisado da prótese falha recuperada trata-se de um polietileno com elevado nível de oxidação.

Os valores obtidos da cristalinidade para cada região do PEUAPM_Re estão representados na **Figura 5.41** (D.P) = média das cristalinidades por região).

Para as regiões 1 e 2 de maior oxidação, observa-se uma tendência ao aumento da cristalinidade da superfície em direção ao volume do PEUAPM_Re. A mesma tendência não pode ser notada para a região 3 onde o valor da cristalinidade foi 73% para a superfície externa e de 60% para a sub-superfície. Os dados sugerem que a superfície externa apresenta maior número de defeitos com menor disponibilidade de O₂ que a sub-superfície. Portanto, onde se tem maior cristalinidade, tem-se o menor índice de oxidação.

Uma provável explicação seria a presença de uma alta densidade de defeitos na superfície externa da região 3 associada a uma baixa disponibilidade de oxigênio, o que dificultaria a propagação do processo de degradação do PEUAPM_Re.

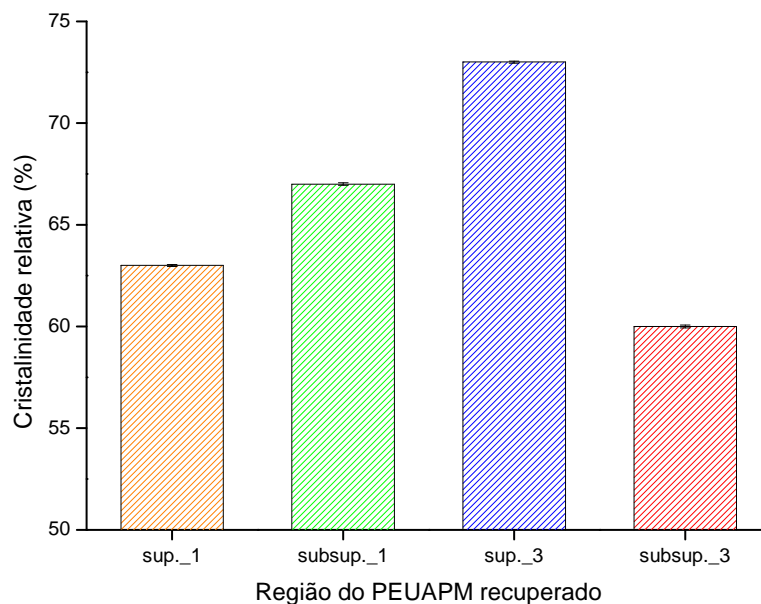


Figura 5.41: Gráfico grau de cristalinidade versus regiões do PEUAPM_Re.

5.4 Inibição da Oxidação do PEUAPM

A proposta deste estudo em utilizar o ácido ascórbico como um inibidor da oxidação se deve principalmente à sua eficiente ação em capturar espécies ativas de oxigênio (EAO) na parte aquosa de célula e por ser um agente antioxidante natural com reconhecida função de defesa.

O espectro de FTIR do ácido ascórbico é mostrado na **Figura 5.42** e servirá como referência padrão para o estudo sobre sua ação antioxidante no PEUAPM.

A absorção a 1754cm^{-1} tem sido atribuída ao estiramento $\text{C}=\text{O}$ do C5 do anel da lactona e as bandas a 1660 e 1665cm^{-1} referentes ao estiramento $\text{C}=\text{C}$. A absorção a 1320cm^{-1} é específica da deformação $\text{O}-\text{H}$ do $\text{C}-2-\text{OH}$; absorção em 1275cm^{-1} ao estiramento $\text{C}-2-\text{O}$; 1140cm^{-1} ao estiramento $\text{C}-5-\text{O}$ e em $1025/990\text{cm}^{-1}$ à deformação do anel da lactona (DAVIES *et al.* (1991).

Ácido Ascórbico

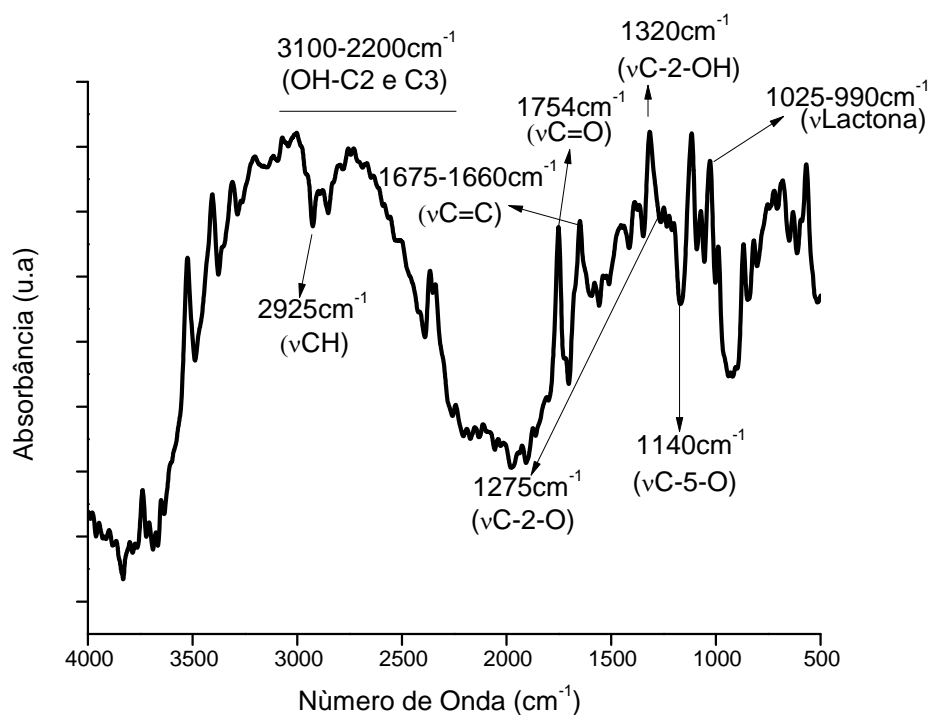
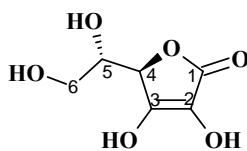


Figura 5.42: Espectro global de FTIR do ácido ascórbico destacando as principais bandas.

Segundo DAVIES *et al.* (1991) estas bandas de alta frequência no final do espectro são atribuídas aos grupos O-H no carbono 5 (C-5) e carbono 6 (C-6) da cadeia lateral do ácido ascórbico.

O efeito estabilizador do ácido ascórbico sobre a oxidação do PEUAPM pode ser verificado no gráfico da **Figura 5.43**. Nota-se uma redução do índice de oxidação em função do tempo para as amostras tratadas com soluções de ácido ascórbico á 0,3 e 1% em períodos de até 60 dias. Verifica-se ainda uma ligeira maior eficácia para a solução a 1%.

Apesar da tendência ao aumento progressivo do índice de oxidação mesmo na presença do AsC, os valores obtidos foram satisfatórios por manterem-se abaixo da curva do índice de oxidação das amostras oxidadas em peróxido de hidrogênio. Os resultados indicaram um valor de $I_{OX} = 2,64$ (D.P. = 0,13) para o PEUAPM inibido a concentração de 1%, indicando uma eficácia de 62% da oxidação do polietileno quando comparada com o valor de 4,25 obtido para o I_{OX} das amostras oxidadas em H_2O_2 no mesmo período.

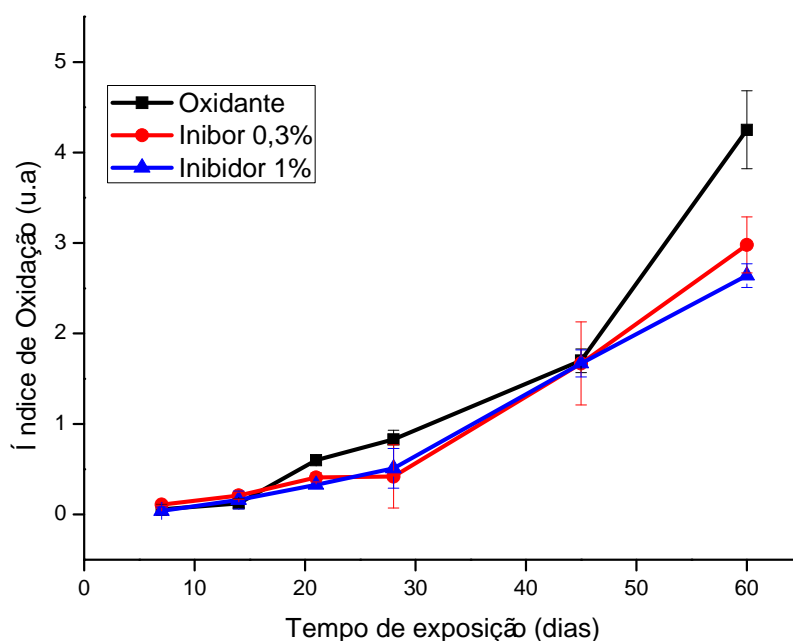


Figura 5.43: Gráfico índice de oxidação versus tempo de amostras do PEUAPM inibidas com ácido ascórbico.

O efeito antioxidante do ácido ascórbico no PEUAPM pode ser estimado pelo cálculo do índice de oxidação do espectro de transmissão do FTIR. O nível de oxidação do PEUAPM inibido com ácido ascórbico é muito menor do que o PEUAPM_Ox com H_2O_2 . A curva do índice de oxidação como uma função do tempo de exposição ao oxidante aumenta linear e progressivamente no PEUAPM_Ox, enquanto que na curva do PEUAPM estabilizado com ácido ascórbico, o índice de oxidação aumenta mantendo-se abaixo da curva de I_{ox} do PEUAPM_Ox.

O ácido ascórbico diluído na solução de peróxido de hidrogênio provavelmente reage com radicais livres formados durante a oxidação, promovendo a estabilização da reação oxidante. Foi proposto o uso do ácido ascórbico por ser hidrofílico e de reconhecida capacidade antioxidante. É possível que por causa do seu elevado potencial redutor, o ácido ascórbico tenha interagido com radicais livres presentes no PEUAPM, prevenindo as suas recombinações. A hipótese levantada neste estudo foi que pela adição do ácido ascórbico, haveria inibição dos radicais livres presentes na solução contendo o PEUAPM. Acredita-se que esta ação antioxidante se deu (i) pela doação de átomo H do AsC para os radicais livres e (ii) pela interação do AsC com H_2O_2 para capturar radicais $OH\cdot$ e prevenir a oxidação. É provável que ambos os mecanismos acontecessem simultaneamente durante o processo.

Sabe-se (FERRATO *et al.*, 2006) que a eficácia antioxidante depende de vários fatores, dentre eles a concentração e eficácia da reatividade do antioxidante contra o radical, que neste estudo mostrou-se bastante efetiva em meio alcalino como H_2O_2 .

O fato da inibição de radicais livres sere mais eficiente em maiores concentrações pode ser porque um aumento na concentração de ácido ascórbico diminuiria a mobilidade dos radicais livres.

5.5 Resposta inflamatória de macrófagos

A propósito das alterações químicas e morfológicas evidenciadas neste estudo, a resposta inflamatória e a biocompatibilidade do PEUAPM sob as condições experimentais necessitam ser investigadas.

Quando se analisa o papel dos macrófagos no reconhecimento dos materiais utilizados em próteses e o patrulhamento das infecções e mesmo da tolerância tem-se que pensar no seguinte aspecto:

- Produção de óxido nítrico pós-estímulo: esta molécula é o mais potente antimicrobiano destas células de defesa inata ou inespecífica, portanto, o biomaterial não pode inviabilizar as células de defesa de produzi-la, com grande possibilidade da intercorrência de infecções durante a enxertia ou uso da prótese.

O óxido nítrico (NO) produzido pela atividade da enzima iNOS é de grande importância nos processos de implantes de biomateriais e uma regulação precisa de sua concentração deve ser feita, uma vez que seus efeitos são dose dependentes. Enquanto uma alta concentração de óxido nítrico nos locais de implante pode levar a uma rejeição do biomaterial (Acharya *et al.*, 2007) ele funciona como agente antimicrobiano nas respostas inflamatórias - o que é fundamental na descontaminação do local do implante (Frank *et al.*, 2002).

Nesta pesquisa estudou-se a resposta de macrófagos quanto à secreção de óxido nítrico (NO) em superfícies do PEUAPM a fim de determinar se alterações nas propriedades físico-químicas modulariam a resposta celular. Os resultados obtidos no modelo *in vitro* proposto demonstraram haver maior secreção de NO para as amostras oxidadas em diferentes tempos, como mostra o gráfico da **Figura 5.44**, cujos dados fornecidos estão na **Tabela 5.5**.

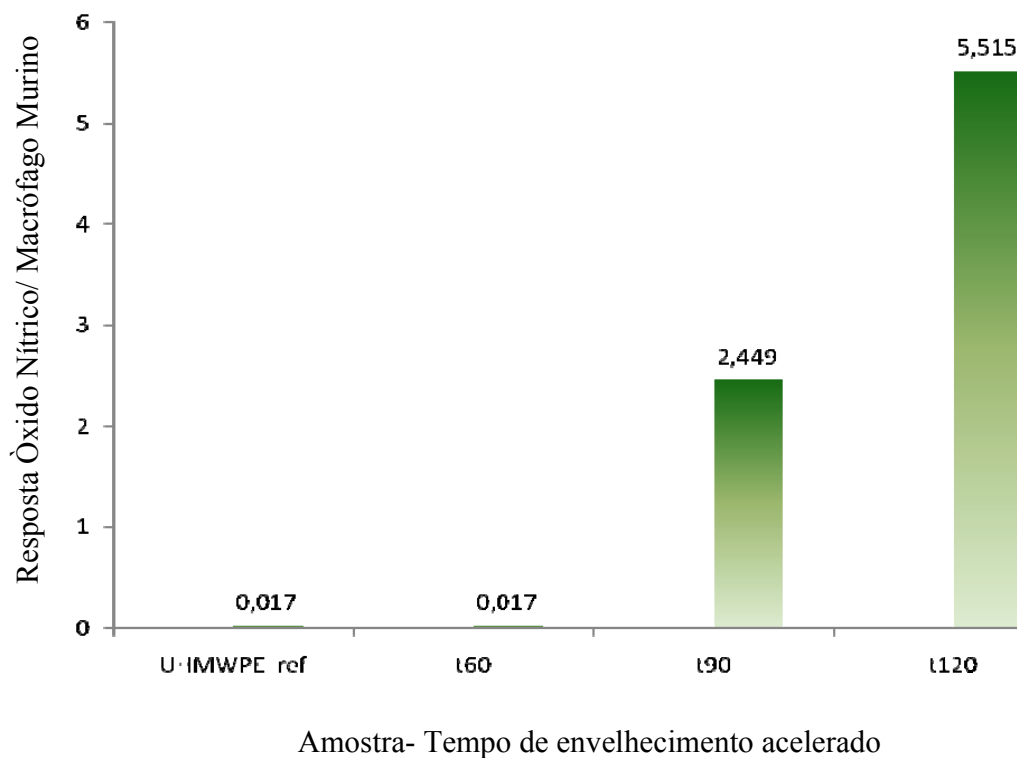
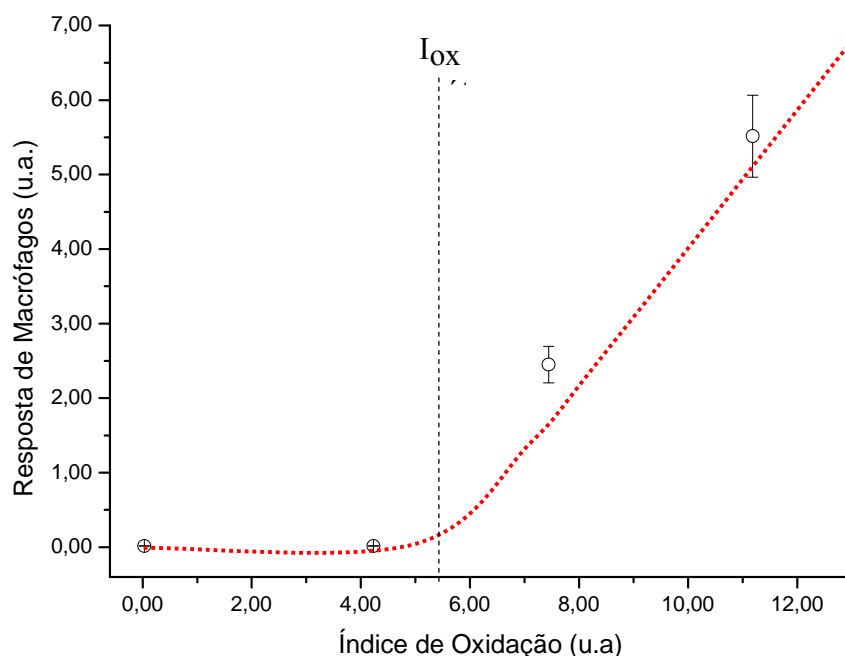


Figura 5.44: Gráfico de resposta da secreção de óxido nítrico pelas diferentes amostras.

Tabela 5.5: Valores obtidos da secreção de NO para as amostras ensaiadas.

Amostras	Produção de NO	Produção de NO	Média	SD
	Leitura Real 97, 994	Leitura Real 54, 046		
	$\mu\text{m/ml}$	$\mu\text{m/ml}$		
Virgem não estimulado	0	6,009	3,004	4,249
Virgem estimulado	72,443	70,399	71,421	1,445
Controle não estimulado	8,053	6,009	7,031	1,445
Controle estimulado	62,222	76,531	69,376	10,117
H ₂ O ₂ 120	0	8,053	4,026	5,694
H ₂ O ₂ 90	6,009	8,053	7,031	1,445
H ₂ O ₂ 60	6,009	0	3,004	4,249
H ₂ O ₂ 45	0	6,009	3,004	4,249
Prótese região 1 medial	0	0	0	0
Prótese região 2	0	6,009	3,004	4,249
Prótese região 1 lateral	0	6,009	3,004	4,249

A **Figura 5.45** destaca a resposta de macrófagos relativa ao índice de oxidação das amostras envelhecidas. Observa-se um aumento da resposta celular a partir de um I_{ox} maior do que 5, próximo ao I_{ox} de 5,4 obtido da prótese recuperada. É evidente, ainda, a maior resposta de macrófagos quanto maior o I_{ox} .

**Figura 5.45:** Gráfico de resposta de macrófagos versus índice de oxidação.

Conclui-se com o experimento realizado que um maior tempo de oxidação das amostras de PEUAPM, induziu maior produção de óxido nítrico.

Em estudos prévios (SETHI *et al.*, 2003) relataram que cultura de monócitos de sangue periférico humano em várias outras superfícies poliméricas estimulou níveis basais de IL-1 e nível ligeiramente maior de TNF- α . Neste mesmo estudo, observou-se um aumento marginal para IL-1, o qual foi atribuído à textura da superfície a qual os macrófagos foram expostos, sugerindo haver uma maior ativação celular em superfícies mais irregulares.

O estudo de (SETHI *et al.*, 2003) relatou a resposta biológica de macrófagos murine para biomateriais puros, simulando a resposta inflamatória antes do início do desgaste e da corrosão do implante. Estes autores encontraram que o PEUAPM convencional elucidou baixo nível de citocinas que foram comparáveis aos níveis elucidados das células não estimuladas. Os achados do ensaio *in vitro* confirmaram ainda que a superfície não oxidada do PEUAPM foi biocompatível para macrófagos, mas permaneceu obscura a resposta inflamatória desta células. A hipótese levantada foi que debris menores e mais finos de PEUAPM sejam mais estimuladores de macrófagos, apresentando maior nível de citocinas inflamatórias, levando assim à reabsorção óssea peri-implante.

Segundo (SETHI *et al.*, 2003) o papel dos debris proveniente do desgaste do PEUAPM na iniciação e na manutenção da resposta inflamatória ao redor das próteses falhas tem sido bem documentado, entretanto estudos detalhando a resposta de macrófagos para a superfície do polietileno ainda são muito limitados.

Associado à liberação de óxido nítrico, macrófagos responderam de maneira similar para todas as amostras analisadas por MEV, onde a fixação das células na superfície do PEUAPM foi semelhante para cada amostra, como mostram as **Figuras 5.46 a, b, c, d**. Este fato é esperado, uma vez que a matrix polimérica é a mesma para todos os materiais.

De maneira geral, a partir das imagens mostradas nas **Figuras 5.46**, nota-se uma diminuição da densidade celular à medida que reduz o tempo de oxidação, **Figuras 5.46 a-**

c, e para a **Figura 5.46 d**, correspondente à prótese recuperada, é observado um maior número de células por área analisada.

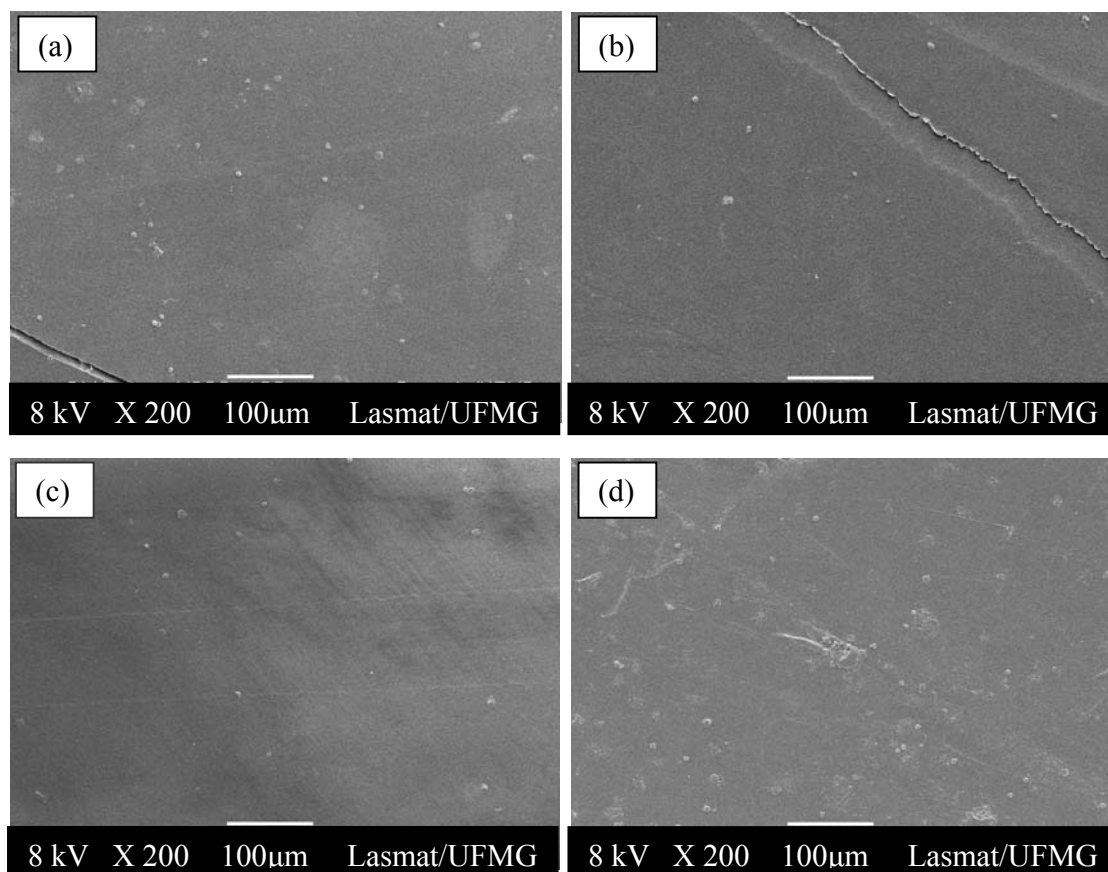


Figura 5.46: Imagem de MEV de (a) amostras oxidadas 120 dias, (b) oxidadas 60 dias, (c) oxidada 45 dias e (d) região 2 de prótese recuperada.

Um aspecto interessante observado e que pode ser confirmado pela **Figura 5.47** é a tendência à formação de grumos celulares em regiões de maior rugosidade ou defeitos. Na **Figura 5.47** a região (a) apresenta superfície mais lisa e com poucas células. A região (b) destaca a presença de ondulações periódicas e traços característicos do processo de usinagem das amostras, favorecendo a deposição dos macrófagos.

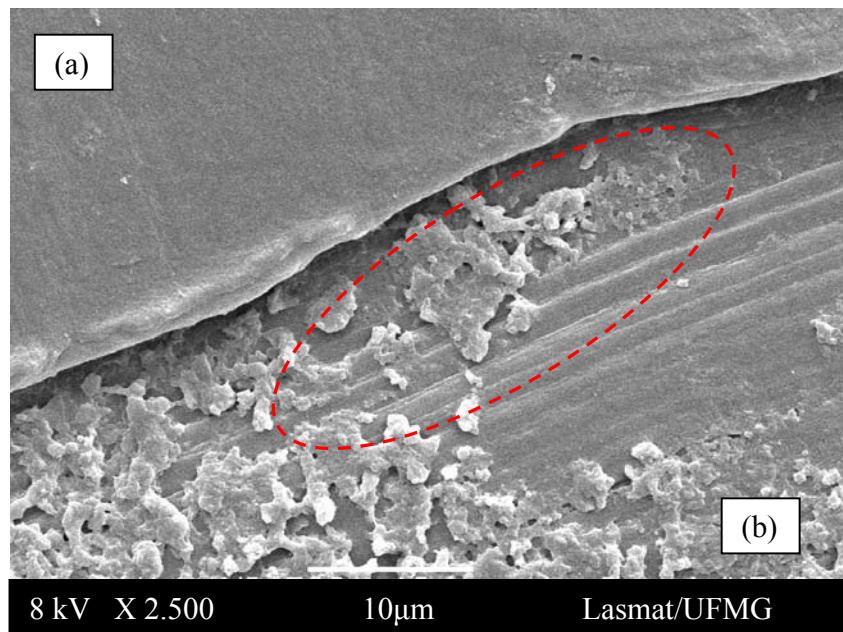


Figura 5.47: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 90 dias destacando a deposição de macrófagos em região de maior defeito.

A **Figura 5.48** mostra imagem de macrófagos sobre a superfície do PEUAPM virgem sem qualquer estimulação, onde sua forma arredondada característica de células saudáveis é evidenciada. Mais uma vez nota-se a preferência destas células por regiões mais irregulares.

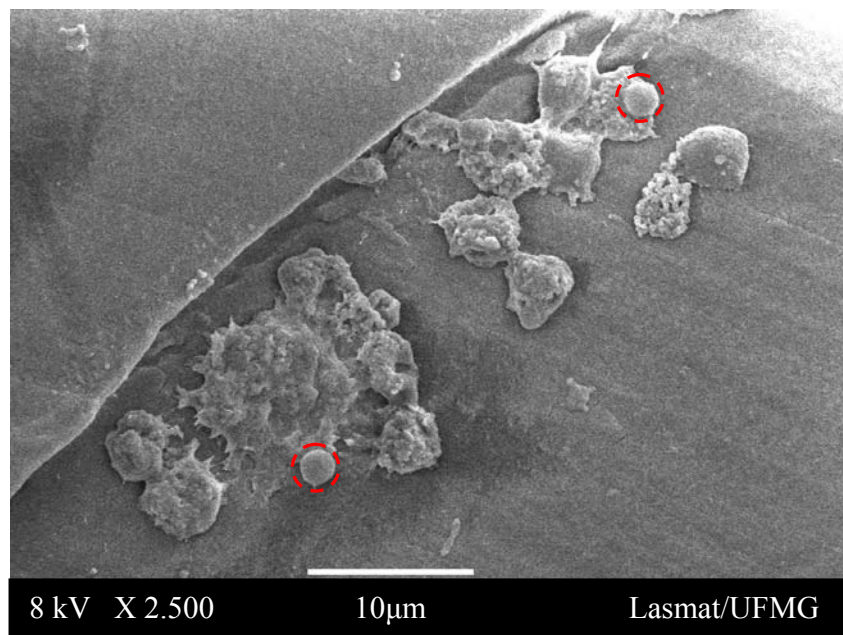


Figura 5.48: Imagem de MEV do PEUAPM virgem não estimulado.

A imagem obtida para o PEUAPM virgem não estimulado pode ser comparada ao grupo controle celular não estimulado mostrado na **Figura 5.49**, onde semelhanças morfológicas são identificadas.

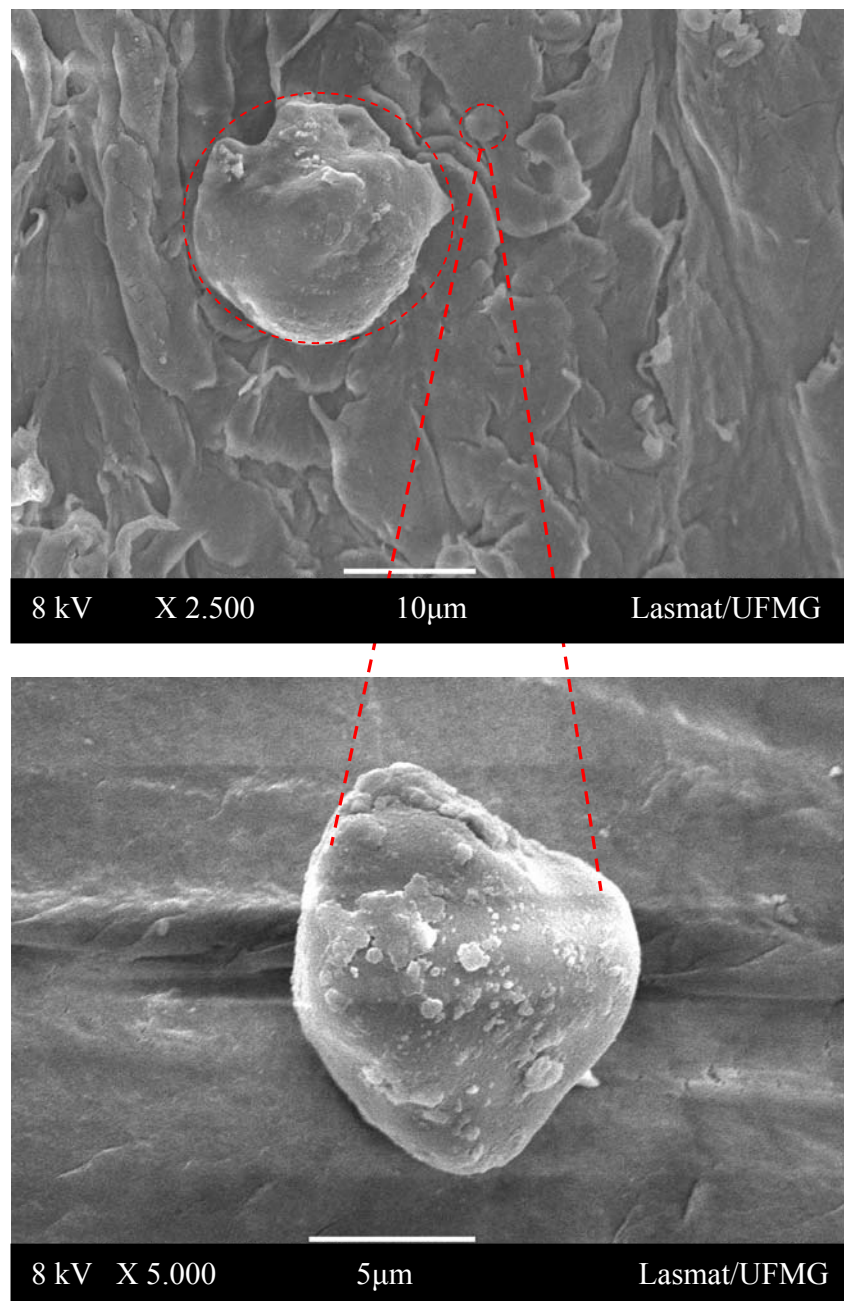


Figura 5.49: Imagem de MEV do grupo controle celular não estimulado.

A melhor proliferação celular (aparente maior número de células por campo) foi encontrada no grupo PEUAPM virgem estimulado e sua imagem está mostrada na **Figura 5.50**. Nota-se a morfologia oval das células, a presença de pseudópodos e a formação de grumos predominante da sua forma ativada.

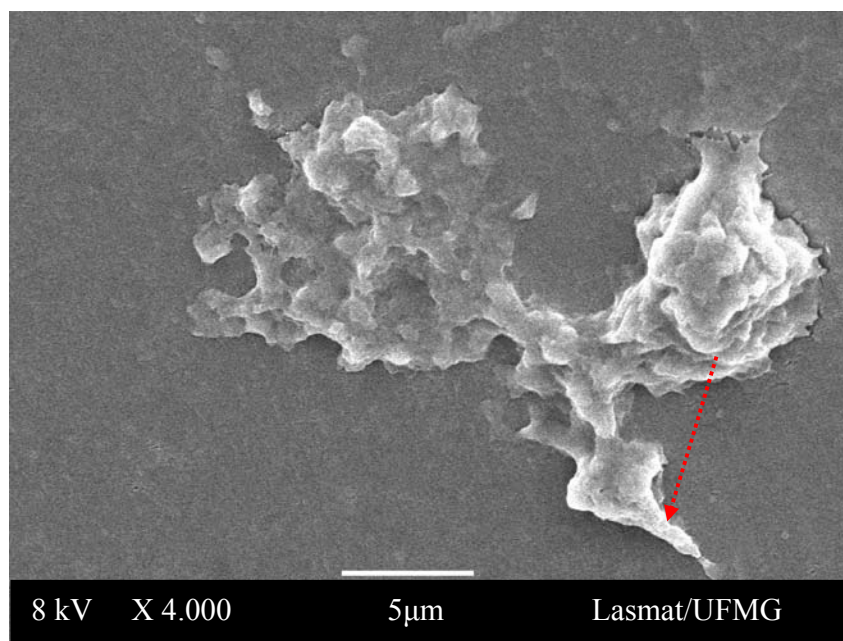


Figura 5.50: Imagem de MEV do PEUAPM virgem estimulado.

A **Figura 5.51** mostra imagem do grupo controle celular estimulado destacando a formação de prolongamentos citoplasmáticos (pseudópodos).

No grupo das amostras oxidadas 120, 60, e 45 dias nota-se aumento de tamanho dos macrófagos, a perda da integridade da membrana plasmática, maior formação de pseudópodos e provável aumento no número de vesículas pinocíticas evidenciado pela forma em “couve flor” da célula. Estas alterações podem ser verificadas nas imagens mostradas nas **Figuras 5.52 a 5.56**.

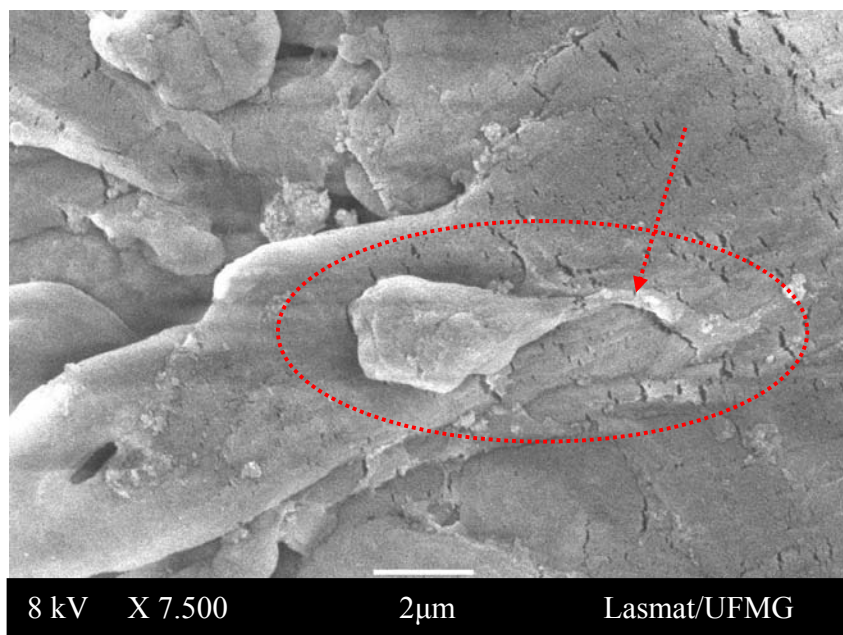


Figura 5.51: Imagem de MEV do controle celular estimulado.

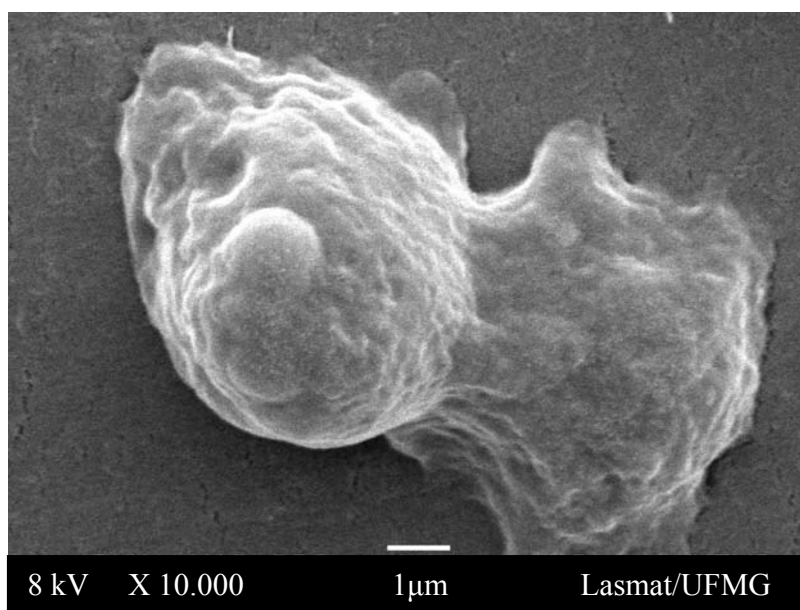


Figura 5.52: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 120 dias destacando prolongamento da membrana plasmática.

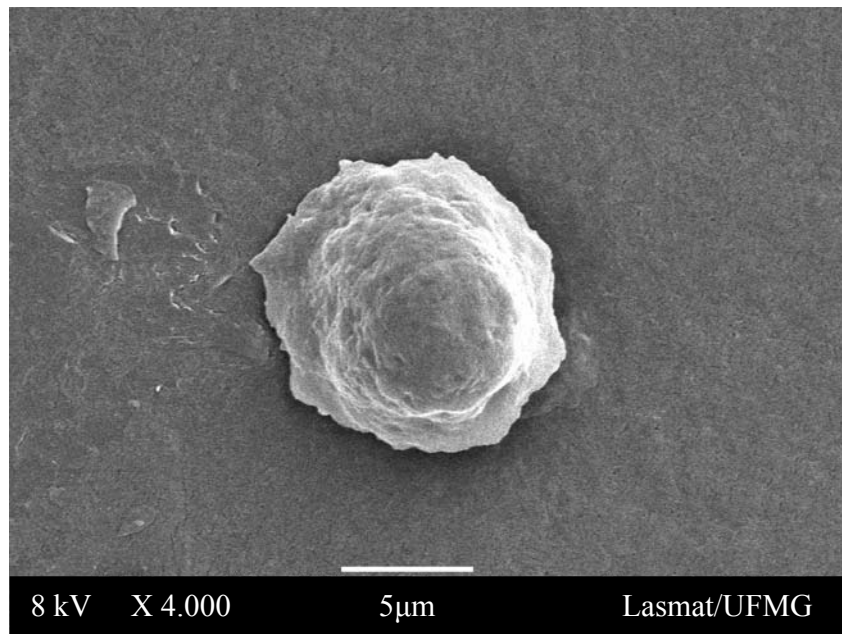


Figura 5.53: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 120 dias destacando aumento do volume celular.

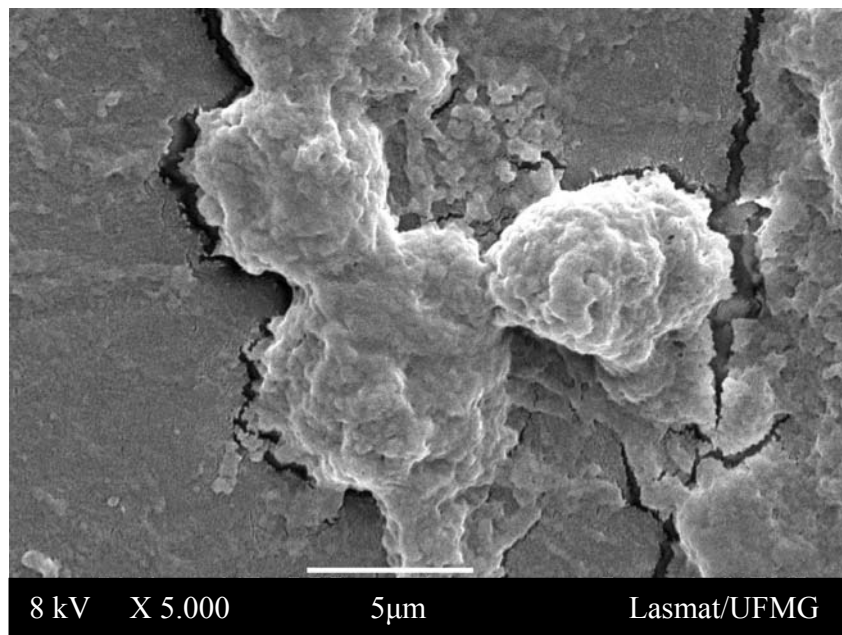


Figura 5.54: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 60 dias destacando macrófagos com projeções citoplasmáticas.

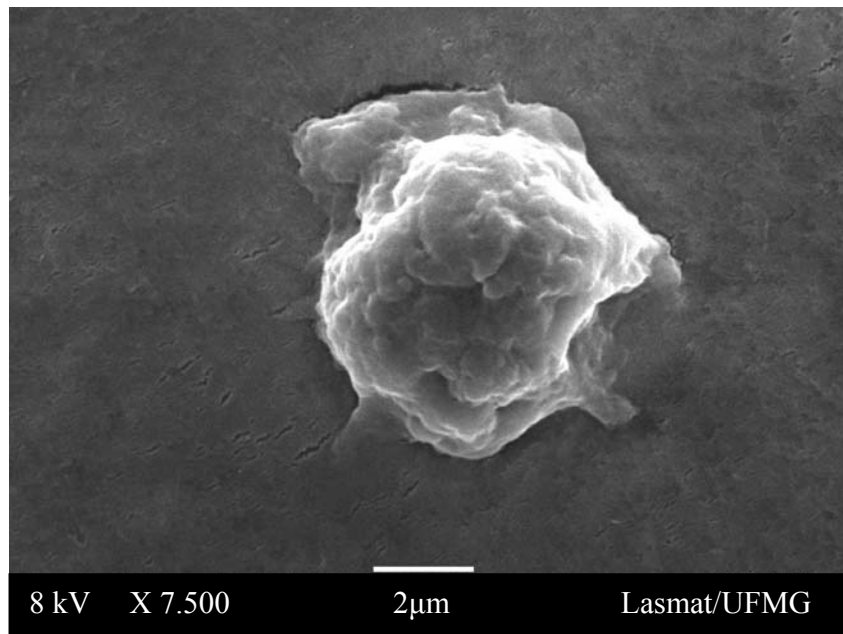


Figura 5.55: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 60 dias destacando vesículas pinocíticas e emissão de pseudópodos.

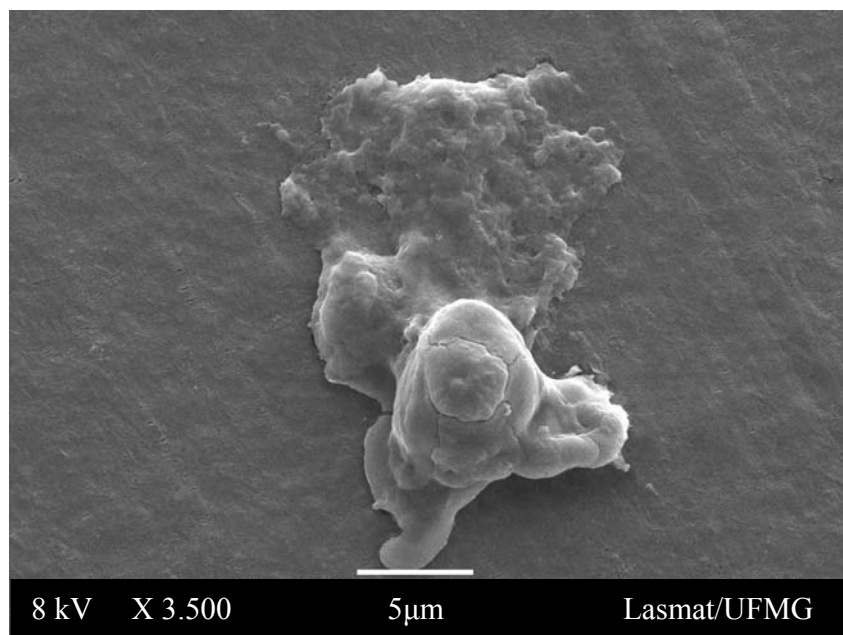


Figura 5.56: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 45 dias destacando alterações da membrana citoplasmática e emissão de pseudópodos.

Estes resultados obtidos estão de acordo com a literatura (BOSETTI *et al.*, 2003) onde características morfológicas de forma arredondada foram mais presente no grupo controle sem estimulação e no PEUAPM virgem.

Estes autores identificaram ainda a presença de pseudópodos na cultura de macrófagos peritoniais. Para as amostras de PEUAPM-Ox encontraram morfologia diferente com alterações da membrana plasmática e formação de pseudópodos.

De acordo com (RENÓ *et al.*, 2002; RENÓ *et al.*, 2003; BOSETTI *et al.*, 2003) minutos após a inflamação se iniciar, os macrófagos presentes nos tecidos começam imediatamente sua ação fagocítica. Quando ativados pelos produtos da inflamação, o primeiro efeito é o rápido aumento de volume dessas células. Em seguida os macrófagos, anteriormente fixos, desfazem suas ligações e tornam-se móveis constituindo a primeira linha de defesa contra a inflamação durante a primeira hora ou mais. A quantidade desses macrófagos móveis e prematuros não é muito grande. Após vários dias ou semana os macrófagos irão se tornar as células fagocíticas dominantes da área inflamada.

A partir dos resultados obtidos por MEV e testes *in vitro* com macrófagos, pode-se afirmar que a resposta inflamatória é, pelo menos, parcialmente devido à textura da superfície do PEUAPM, uma vez que pareceu haver maior densidade de células nas regiões com longos períodos de oxidação (120 e 90 dias) e com maior presença de defeitos.

Os resultados apontam ainda para uma tendência ao aumento da secreção de NO quanto maior o tempo de oxidação influenciado pela superfície química do PEUAPM.

A **Figura 5.57** mostra a alteração na superfície do PEUAPM oxidado 120 dias.

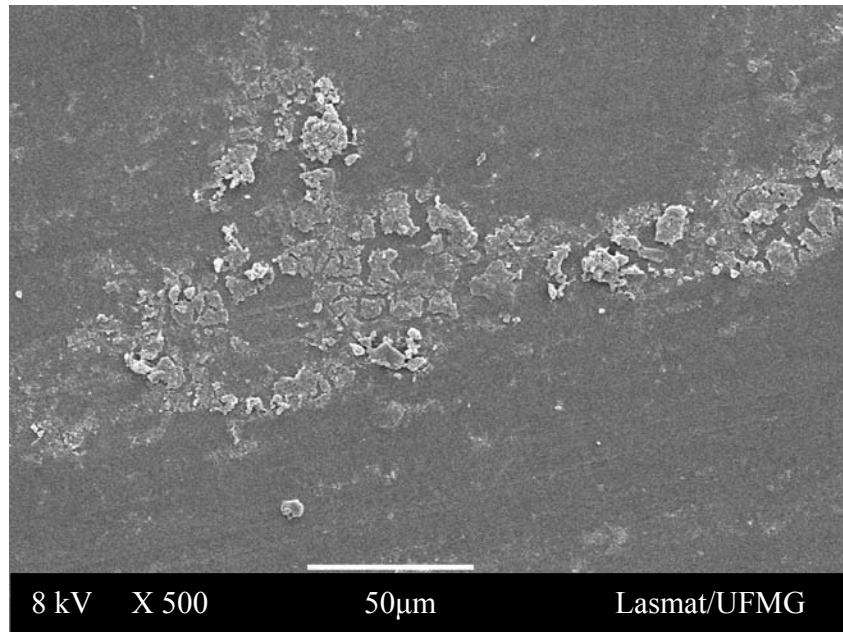


Figura 5.57: Imagem de MEV do PEUAPM oxidado 120 dias destacando a superfície com defeitos e presença de macrófagos.

Estudou-se o PEUAPM recuperado de prótese falha com escopo conhecer a resposta celular de macrófagos neste biomaterial previamente implantado. Sabe-se (RENÒ *et al.*, 2003) que depois da prótese implantada, uma resposta inflamatória leucócito específica mediada pela ativação de neutrófilos (85-90% granulócitos) ocorre e é considerada a etapa chave do processo de cura. Após a adesão à superfície do biomaterial, fagocitose, explosão oxidativa e liberação de protease podem ocorrer resultando em lesão ao redor do tecido.

As **Figuras 5.58** até **5.60** representam as imagens de MEV obtidas do PEUAPM recuperado de prótese falha. A **Figura 5.58** representa a superfície externa da região superior pósterio medial da prótese, onde se observa alguns grumos celulares ativados e poucas células espalhadas provavelmente devido ao aspecto mais liso da superfície analisada.

A **Figura 5.59** a região superior pósterio medial sub-superfície da prótese onde nota-se maior presença de defeitos e maior concentração celular.

A **Figura 5.60** região superior póster lateral superfície-externa da prótese com presença de macrófagos ativados rodeando região de defeitos.

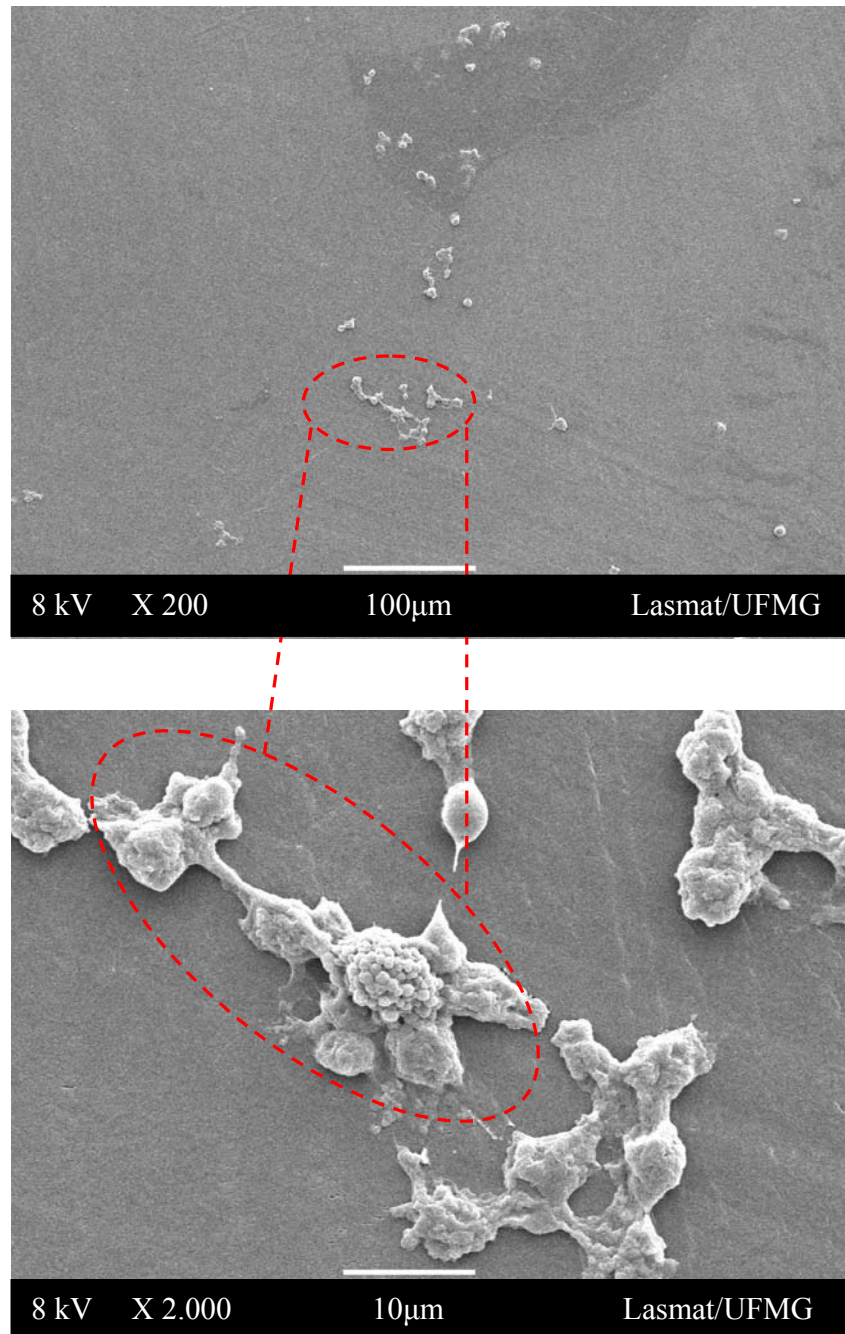


Figura 5.58: Imagem de MEV da região superior póster medial interna superfície externa da prótese, destacando macrófagos ativados.

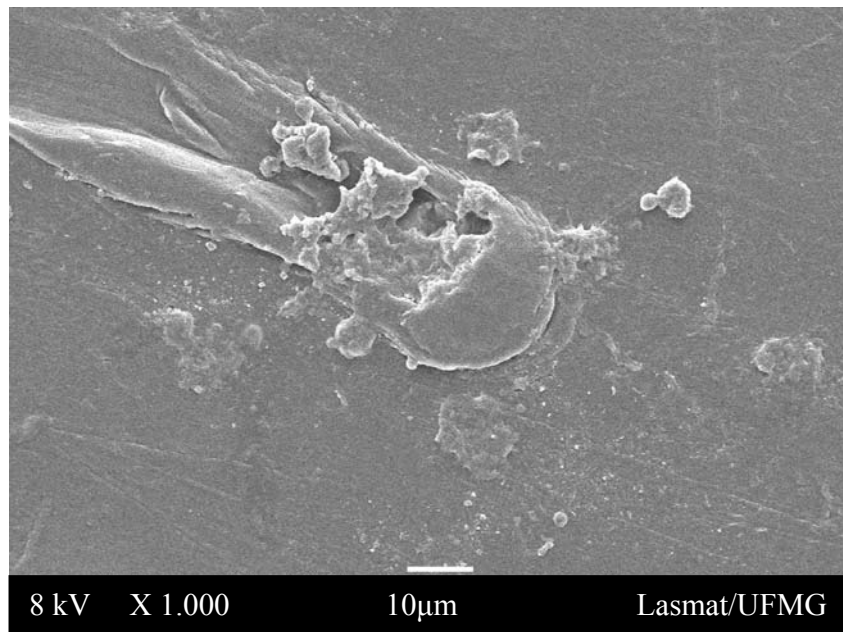


Figura 5.59: Imagem de MEV da região superior pósteromedial interna sub-superfície.

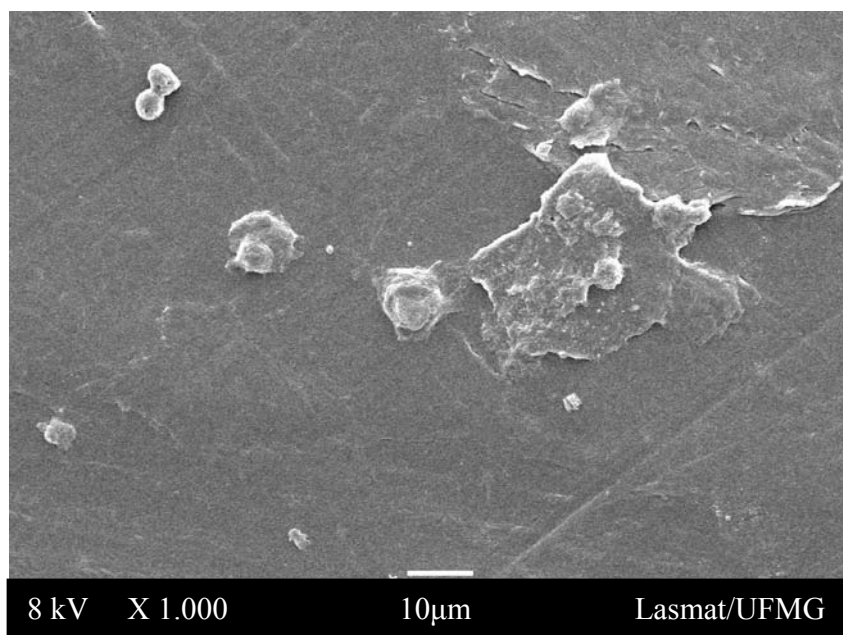


Figura 5.60: Imagem de MEV da região superior pósterolateral superfície-externa da prótese.

Através de avaliação com citometria de fluxo RENÒ *et al.* (2003) verificaram que o polietileno induziu pequeno aumento no número de granulócitos ativados comparado ao grupo controle, enquanto o polietileno oxidado aumentou fortemente o número destas

células. Em seus experimentos, a superfície apolar do UHMWPE foi modificada para uma superfície polar, sendo relatado que a superfície hidrofílica e polar do PEUAPM-Ox adsorveu um padrão diferente de proteínas.

Neste estudo, a partir das imagens obtidas por MEV, tanto as amostras de PEUAPM oxidadas em peróxido de hidrogênio quanto às obtidas da prótese recuperada induziram à ativação de macrófagos provavelmente também devido a alterações químicas da superfície, que se tornou polar e hidrofílica após a oxidação, confirmada pela presença de grupos carbonila (álcoois, cetonas e ácidos) previamente confirmados por FTIR.

A partir das informações obtidas sobre oxidação do PEUAPM nas diferentes situações apresentadas: i) oxidação acelerada do PEUAPM em elevada concentração de H₂O₂; ii) oxidação acelerada do PEUAPM em superfície modificada; iii) inibição da oxidação do PEUAPM com ácido ascórbico, pesquisados por FTIR e teste *in vitro*, é evidente a complexidade do mecanismo de oxidação deste polímero que se comporta de modo peculiar nas diferentes situações. Apesar de ampla exposição do tema na literatura, o mecanismo de oxidação do PEUAPM *in vivo* ainda não é totalmente compreendido e depende, não somente da composição e do processamento do material, mas é multifatorial: relacionado à idade e peso do indivíduo, tipo de metabolismo, comportamento dinâmico e suas atividades, técnicas cirúrgicas, dentre outros.

Acredita-se que relacionando as informações obtidas nas diferentes situações de oxidação proposta nesta pesquisa, é possível propor estratégias eficazes no combate à falha das próteses articulares, a partir da abrangência das áreas interligadas do conhecimento.

6 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo mostraram que a oxidação do PEUAPM é favorecida pelo peróxido de hidrogênio mais do que por peróxido de benzoíla, mas mesmas condições experimentais. A reação de oxidação com peróxido de hidrogênio apresentou cinética de primeira ordem com inclinação máxima para o índice de oxidação ocorrendo entre 45 e 120 dias. A elevada densidade de defeitos no PEUAPM parece limitar a difusão do oxigênio para o volume do polímero, acelerando e favorecendo o processo de degradação oxidativa na superfície do PEUAPM. Este fato levaria a uma diminuição do índice de oxidação quando comparado com o PEUAPM oxidado em superfícies mais lisas.

Mostrou-se que a adição de ácido ascórbico em soluções de peróxido de hidrogênio contendo o PEUAPM é capaz de inibir radicais livres presentes no polietileno, prevenindo sua oxidação.

As análises de prótese recuperada endossam os resultados obtidos para a oxidação do PEUAPM com peróxido de hidrogênio, onde as suas características morfológicas e análises de FTIR são excelentes parâmetros norteadores do estudo da oxidação PEUAPM para o conhecimento de falha *in vivo*.

O PEUAPM parece ter um comportamento específico para resposta de macrófagos com elevado nível de secreção de óxido nítrico para amostras oxidadas por longo período em meio químico. As imagens de MEV demonstraram claramente o recrutamento e a ativação de macrófagos para as amostras analisadas. Evidenciou-se ainda uma preferência para a formação de grumos celulares em regiões do PEUAPM com maior densidade de defeitos. Entretanto, mais investigações relativas à secreção de NO são necessárias.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar o efeito inibidor do ácido ascórbico no processamento do PEUAPM.
- Avaliar o efeito inibidor da mistura de ácido ascórbico e da vitamina E no PEUAPM.
- Realizar ensaios mecânicos das amostras oxidadas com peróxido de hidrogênio e nas amostras dopadas com ácido ascórbico.
- Avaliar o comportamento químico e mecânico das amostras oxidadas em peróxido de hidrogênio e das amostras dopadas com ácido ascórbico, após irradiação gama.
- Avaliar a resposta inflamatória *in vivo* das amostras oxidadas e inibidas com ácido ascórbico.

8 CONTRIBUIÇÕES ORIGINAIS AO CONHECIMENTO

▪ ARTIGOS COMPLETOS SUBMETIDOS EM PERIÓDICOS

ROCHA, M. F.G.; PISCITELLI, A. A.; MANSUR, H. S. Characterization and Accelerated Ageing by Peroxide of UHMWPE used in Orthopedic Prosthesis. **Materials**, v. 2, 562-576, 2009.

ROCHA, M. F.G.; PISCITELLI, A. A.; MANSUR, H. S. Caracterização por FTIR da Oxidação do Polietileno de Massa Molar Ultra-Elevada submetido ao Envelhecimento Acelerado com Peróxido de Hidrogênio. **Revista Matéria**, 2009 (EM AVALIAÇÃO).

▪ TRABALHOS COMPLETOS EM CONGRESSOS NACIONAIS

ROCHA, Magda Francisca Gonçalves ; MANSUR, Alexandra Ancelmo Piscitelli ; MANSUR, Sander Mansur. Avaliação por FTIR da Oxidação do UHMWPE Submetido ao Envelhecimento Acelerado por Peróxido de Hidrogênio. **In: Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais (CBECiMat - 2008), 2008**, Porto de Galinhas. Anais do CBECIMAT-2008, 2008. v. 1. p. 9556-9567.

▪ RESUMOS EXPANDIDOS EM ANAIS DE CONGRESSOS

MANSUR, Herman Sander ; MANSUR, Alexandra Ancelmo Piscitelli ; ROCHA, Magda Francisca Gonçalves . FTIR Investigation of UHMWPE Oxidation submitted to Accelerated Aging Procedure. **In: European Polymer Congress 2009 (EPF2009), 2009, Graz, Austria. Proceedings of European Polymer Congress 2009 (EPF2009), 2009**. v. 1. p. 10-10.

ROCHA, Magda Francisca Gonçalves ; MANSUR, Alexandra Ancelmo Piscitelli ; MANSUR, Herman Sander. Avaliação Qualitativa por FTIR/SEM/EDS da Oxidação do UHMWPE Submetido ao Envelhecimento Acelerado com Peróxidos. **In: V Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais (COLAOB 2008), 2008, Ouro Preto. Proceedings of COLAOB 2008**, 2008. v. 1. p. 1-1.

ROCHA, Magda Francisca Gonçalves; MANSUR, Alexandra Ancelmo Piscitelli ; MANSUR, H. S. . Characterization of Calcium Phosphate Layers Biomimetically Deposited on UHMWPE for Prosthesis Applications. **In: 21st International Symposium of Ceramics in Medicine Bioceramics 21, 2008, Búzios, R.J., Brazil. Proceedings of 21st International Symposium of Ceramics in Medicine Bioceramics 21, 2008.** v. 1.

ROCHA, Magda Francisca Gonçalves; MANSUR, A. A. P.; MANSUR, H. S. Characterization of Mechanical Properties of UHMWPE from Knee Prostheses by Nano-indentation Method. **In: ChinaNANO2007 - International Conference on Nanoscience & Technology, 2007, Beijing. Proceedings of ChinaNANO2007 - International Conference on Nanoscience & Technology, 2007.** v. 1. p. 109-109.

▪ **RESUMOS EM ANAIS DE CONGRESSOS**

ROCHA, Magda Francisca Gonçalves; MANSUR, Alexandra Ancelmo Piscitelli ; Mansur, Herman Sander . Estudo de Biodegradação de Próteses de Joelho Recuperadas. **In: Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais (CBECiMat-2008), 2008, Porto de Galinhas-PE. Anais do CBECIMAT-2008, 2008.** v. 1.

ROCHA, Magda Francisca Gonçalves; MANSUR, Alexandra Ancelmo Piscitelli ; MANSUR, H. S. . Caracterização de UHMWPE Destinado a Aplicações em Próteses Ortopédicas. **In: Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais CBECiMat-2008, 2008, Porto de Galinhas-PE. Anais do CBECIMAT 2008, 2008.** v. 1.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFATATO, S.; BERSAGLIA, G.; MIRKO, R.; PAOLA, T.; FAGNANO, C.; TONI, A. Wear behaviour of cross-linked polyethylene assessed in vitro under severe conditions. **Biomaterials**, v.26, p.3259-3267, 2005.

AGATHOPOULOS, S.; TULYAGANOV, D. U.; VALÉRIO, P.; FERREIRA, J. M. F. A new model formulation of $\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-B}_2\text{O}_3\text{-MgO-CaO-Na}_2\text{O-F}$ glass-ceramics. **Biomaterials**, v.26, p.2255-2264, 2005.

AL-MAADEED, M. A. Change in Structure of Ultrahigh Molecular Weight Polyethylene Due to Irradiation in Air and in Nitrogen. **International Journal of Polymer Anal. Charact.**, v.11, p.71-84, 2006.

ALVES, N. M.; SAIZ-ARROYO, C.; RODRIGUEZ-PEREZ, M. A.; REIS, R. L; MANO, J. F. Microhardness of starch based biomaterials in simulated physiological conditions. **Acta Biomaterialia**, v.3, p.69-76, 2007.

American Academy of Orthopaedic Surgeons (AAOS), 69, 2002, Dallas, 5p. New Polys For Old: Contribution or Caveat?

American Academy of Orthopaedic Surgeons (AAOS): Joint Replacement: Uma série de pequenos artigos que explicam os procedimentos e técnicas usadas em artroplastias.

ANSELME, K. Osteoblast adhesion on biomaterials. **Biomaterials**, v.21, p.667-81, 2000.

BALDWIN, L.; FLANAGAN, B. F.; MCLAUGHLIN, P. J.; PARKINSON, R. W.; HUNT, J. A.; WILLIAM, D. F. A study of tissue interface membranes from revision accord knee arthroplasty: the role of T lymphocytes. **Biomaterials**, v.23, p.3007-3014, 2002.

BARRENA-GÓMEZ, F. MEDEL. E.; ALVAREZ-GARCÍA, F.; RÍOS, R.; VILLAGRACIA, L.; PUÉRTOLAS, J. A. Fractography evolution in accelerated aging of UHMWPE after gamma irradiation in air. **Biomaterials**, v.25, p.9-21, 2004.

BERGSTROM, J. S.; RIMMAC, C. M.; KURTZ, S. M. Molecular chain stretch is a multiaxial failure criterion for conventional and highly crosslinked UHMWPE. **Journal of Orthopaedic Research**, v.23, p.367-375, 2005.

BOSETTI, M.; ZANARDI, L.; BRACCO, P.; COSTA, L.; CANNAS, M. In vitro evaluation of the inflammatory activity of ultr-high molecular weight polyethylene. **Biomaterials**, v. 24, p.1419-1426, 2003.

BRACCO, P.; BRUNELLA, V.; LUDA, M. P.; ZANETTI, M.; COSTA, L. Radiation-induced crosslinking in the presence of co-agents: chemical and mechanical characterization. **Polymer**, v.46, p.10648-10657, 2006.

BRACCO, P.; BRUNELLA, V.; ZANETTI, M.; COSTA, L.; LUDA, M. P. Stabilisation of ultra-high molecular weight polyethylene with Vitamin E. **Polymer Degradation and Stability**, v.92, p.2155-2162, 2007.

BRANDL, F.; SOMMER, F.; GOEPFERICH, A. Rational design of hydrogels for tissue engineering: Impact of physical factors on cell behavior. **Biomaterials**, v.28, p.134-146, 2007.

BRISTOL, R. E.; FITZPATRICK, D. C.; BROWN, T. D.; CALLAGHAN, J. J. Non-uniformity of contact stress on polyethylene inserts in total knee arthroplasty. **Clinical Biomechanics**, v.11, p.75-80, 1996.

BRUNELLA, V.; BRACCO, P.; CARPENTIERI, I.; PAGANINI, M. C.; ZANETTI, M.; COSTA, L. Lifetime of alkyl macroradicals in irradiated ultra-high molecular weight polyethylene. **Polymer Degradation and Stability**, v.90, p.1498-1503, 2007.

BUCKLEY, C. P.; WU, J.; HAUGHIE, D. W. The integrity of welded interfaces in ultra high molecular weight polyethylene: Part 1- Model. **Biomaterials**, v.27, p.3178-3186, 2006.

CAMPBELL, W. C. - Artroplastia do tornozelo e do joelho - IN: CAMPBELL, W. C.; CRENSHAW, A. H. **Cirurgia Ortopédica de Campbell**. 8ª ed., São Paulo: Manole Ltda, 1996. v.5, p.412-465.

CAO, Y. ZHOU, J.; POPOOLA, O.; SWARTS, D. F.; SOBOYEJO, W. Atomic Force Microscopy Contact Mode Study on Ultra High Molecular Weight Polyethylene. **Materials Research Society**, v.874, p.1-6, 2005.

CARVALHO, G. M. X. **Desenvolvimento de Compósitos a partir da Combinação de Polipropileno e Resíduos de Ardósia**. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Engenharia Metalúrgica, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

CHANG, N.; BELLARE, A.; COHEN, R. E.; SPECTOR, M. Wear behavior of bulk oriented and fiber reinforced UHMWPE. **Wear**, v.241, p.109-117, 2000.

CHANGQING, JIN; CHRISTENSEN, P. A.; EGERTON, T. A.; LAWSON, E. J.; WHITE, J. R. rapid measurement of polymer photo-degradation by FTIR spectrometry of evolved carbon dioxide. **Polymer Degradation and Stability**, v.91, p.1086-1096, 2006.

CHAPPA, V. C., GROSSO, M. F.; GARCÍA-BERMÚDEZ, G.; MAZZEI, R. O. Infrared spectroscopy analysis of physico-chemical modifications induced by heavy ions ultra-high molecular weight polyethylene. **Beam Interactions with Materials & Atoms**, 2005.

CHATTERJI, U.; ASHWORTH, M. J.; SMITH, A. L.; BREWSTER, N.; LEWIS, P. Retrieval study of tibial baseplate fracture after total knee arthroplasty. **The Journal of Arthroplasty**, v.20, p.101-107, 2005.

CHENERY, D. H. Detection of peroxy species in ultra-high-molecular-weight polyethylene by Raman spectroscopy. **Biomaterials**, v.18, p.415-419, 1997.

CHOI, H. S.; SHIDOVA, T. G.; TITOV, V. A.; RYBKIN, V. V. Surface oxidation of polyethylene using na atmospheric pressure glow discharge with liquid electrolyte cathode. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.300, p.640-647, 2006.

CHUN-HSIUNG, H. Particle size and morphology of UHMWPE wear debris in failed total knee arthroplasties – a comparison between mobile bearing and fixed bearing knees. **Journal of Orthopaedic Research**, v.20, p.1038-1041, 2002.

COATES, J. Interpretation of Infrared Spectra. In: **Encyclopedia of Analytical Chemistry**. Chichester, 2000, p.10815-10837.

COELI, R. M. D. **Síntese, caracterização e avaliação preliminar da citotoxicidade da matriz porosa de nanocompósito biodegradável**. Dissertação de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2006, p.1-100.

COSTA-JUNIOR, E. S. **Desenvolvimento de Matriz Quitosana/PVA, Quimicamente Reticulada para Aplicação Potencial em engenharia de Tecido Epithelial**. Tese de doutorado do curso de Pós-graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas. Belo Horizonte, 2008, p.51-53.

COSTA, L.; JACOBSON, K.; BRACCO, P.; BRACH DEL PREVER, E. M. Oxidation of orthopaedic UHMWPE. **Biomaterials**, v.23, p.1613-1624, 2002.

COSTA, L.; LUDA, M. P.; TROSSARELLI, L. Ultra-high molecular weight polyethylene: I. Mechano-oxidative degradation. **Polymer Degradation and Stability**, v.55, p.329-338, 1997.

COSTA, L.; LUDA, M. P.; TROSSARELLI, L.; BRACH DEL PREVER, E. M.; CROVA, M.; GALLINARO, P. Oxidation in orthopaedic UHMWPE sterilized by gamma-radiation and ethylene oxide. **Biomaterials**, v.19, p.659-668, 1998.

CURRIER, B. H.; CURRIER, H. J.; MAYOR, M. B.; LYFORD, K. A.; CITTERS, V. W. D.; COLLIER, J. P. In vivo oxidation of γ -barrier-sterilized ultra-high-molecular-weight polyethylene bearings. **Journal of Arthroplasty**, article in press, 2007.

DALBORG, M.; JACOBSON, K.; JONSSON, S. Methods for determining the spatial distribution of oxidation in ultra-high molecular-weight polyethylene prostheses. **Polymer degradation and Stability**, v.92, p.434-447, 2007.

DAVIES, M. B.; AUSTIN, J.; PARTRIDGE, D. A.– **Vitamin C: its chemistry and biochemistry**. In: Discovery and Structure of Vitamin C. Cambridge, 1991, p.26-47.

DAVIES, M. B.; AUSTIN, J.; PARTRIDGE, D. A.– **Vitamin C: its chemistry and biochemistry**. In: Synthesis, Manufacture, and further chemistry of Vitamin C. Cambridge, 1991, p.74-96.

DAVIES, M. B.; AUSTIN, J.; PARTRIDGE, D. A.– **Vitamin C: its chemistry and biochemistry**. In: Biochemistry of Vitamin C. Cambridge, 1991, p.74-96.

D'LIMA, D. D.; PATIL, S.; STEKLOV, N.; SLAMIN, J. E.; COLWELL, C. W. Tibial forces measured in vivo after total knee arthroplasty. **The Journal of Arthroplasty**, v.21, p.255-262, 2006.

DAN, M.; RICHARD, S.; MYRON, S. Composition of joint fluid in patients undergoing total knee replacement and revision arthroplasty: correlation with flow properties. **Biomaterials**, v.25, p.4433-4445, 2004.

DESJARDINS, J.D.; BURNIKEL, B.; LABERGE, M. UHMWPE wear against roughened oxidized zirconium and CoCr femoral knee components during force-controlled simulation. **Wear**, v.264, p.245-256, 2008.

FANG, H.; HO, Y.; YANG, C.; LIU, H.; HO, F.; LU, Y.; MA, H.; HUANG, C. Preparation of UHMWPE particles and establishment of inverted macrophage cell model to investigate wear particles induced bioactivities. **Journal of biochemical and biophysical methods**, v.68, p.175-187, 2006.

FOOK, M. V. L.; APARECIDA, A. H.; MARCELINO, A. C. B.; MEDEIROS, K. M.; GUASTALDI, A. C. Desenvolvimento da técnica de modificação da superfície do PEUAPM para deposição biomimética de apatita. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.2, p.33-41, 2007.

FOUAD, H.; MOURAD, A. –H. I.; BARTON, D. C. Effect of pr-heat treatment on the static and dynamic thermo-mechanical properties of ultra-high molecular weight polyethylene. **Polymer Testing**, v.24, p.549-556, 2005.

FURMANSKI, J.; PRUITT, L. A. Peak stress intensity dictates fatigue crack propagation in UHMWPE. **Polymer**, v.48, p.3512-3519, 2007.

FUSSELL, G.; THOMAS, J.; SCANLON, J.; LOWMAN, A.; MARCOLONGO, M. The effect of protein-free versus protein-containing medium on the mechanical properties and uptake of ions of PVA/PVP hydrogels. **J. Biomater. Sci. Polymer Edn**, v.16, p.489-503, 2005.

GALVIN, A. L.; TIPPER, J. L.; INGHAM, E.; FISHER, J. Nanometre size wear debris generated from crosslinked and non-crosslinked ultra high molecular weight polyethylene in artificial joints. **Wear**, v.259, p.977-983, 2005.

GAMA, M. da S.; AFONSO, J. C. De Svante Arrhenius ao peagâmetro digital: 100 anos de medida de acidez. **Quím. Nova**, v.30, n.1, 2007.

GENCUR, S. J.; RIMMAC, C. M.; KURTZ, S. M. Failure micromechanisms during uniaxial tensile fracture of conventional and highly crosslinked ultra-high molecular weight polyethylenes used in total joint replacements. **Biomaterials**, v.24, p.3947-3954, 2003.

GENCUR, S. J.; RIMMAC, C. M.; KURTZ, S. M. Fatigue crack propagation resistance of virgin and highly crosslinked, thermally treated ultra-high molecular weight polyethylene. **Biomaterials**, v.27, p.1550-1557, 2006.

GISPERT, M. P.; SERRO, A. P.; COLAÇO, R.; SARAMAGO, B. Friction and wear mechanisms in hip prosthesis: Comparison of joint materials behaviour in several lubricants. **Wear**, v.260, p.149-158, 2006.

GOLDMAN, M.; GRONSKY, R.; LONG, G. G.; PRUITT, L. The effects of hydrogen peroxide and sterilization on the structure of ultra high molecular weight polyethylene. **Polymer Degradation and Stability**, v.62, p.97-104, 1998.

HAUGHIE, D. W.; BUCKLEY, C. P.; WU, J. The integrity of welded interfaces in ultra-high molecular weight polyethylene: Part 2 – Interface toughness. **Biomaterials**, v.27, p.3875-3881, 2006.

HICHEY, S.; ROBERTS, H.– **Ascorbate, the science of vitamin C**. In: chemistry and vitamin C, 2004, p.55-66.

HIRAKAWA, K.; BAUER, T. W.; YAMAGUCHI, M.; STULBERG, B. N.; WILDE, A. H. **The Journal of Arthroplasty**, v.14, p.165-34, 1999.

HO, S. P.; CARPICK, R. W.; BOLAND, T.; LA BERGE, M. Nanotribology of CoCr-UHMWPE TJR prosthesis using atomic force microscopy. **Wear**, v.253, p.1145-1155, 2002.

HOCHSTETTER, G.; JIMENEZ, A.; CANO, J. P.; FELDER, E. Na attempt to determine the tru stress-strain curves of amorphous polymer by nanoindentation. **Tribology International**, v.36, p.973-985, 2003.

WIKIPÉDIA: a enciclopédia livre. Disponível em <http://www.wikipedia.org/wiki/ultra_high_molecular_weight_polyethylene> acesso em mar/2006.

Disponível em <http://www.aaos.org/wordhhtml/reseach/oainfo/oainfo_knee_jointrepl.pdf> acesso em: jul/2005.

Disponível em <<http://www.aaos.org/wordhhtml/research/stats/patientstats.htm>> acesso em jul/2005.

Disponível em <<http://www.orthopodsurgeon.com/kneereplace.html>> acesso em juj/2005.

Disponível em <<http://www.polymersdatabase.com/polymer/polymer-print.asp?entry-id=1213>> acesso em nov/2005.

Disponível em <http://www.tu-darmstadt-de/fb/ms/student/fs/german/lab/w2/31012_6.htm> acesso em : fev/2006.

Disponível em <http://www.cnpdia.embrapa.br/publicações/CT53_2003> acesso em : jul/2007.

<<http://www.LNLS.br/imagem/conteúdo/54/relatóriocomite2007portugues.pdf>> acesso em : jul/2007.

IKADA, Y.; NAKAMURA, K.; OGATA, S.; MAKINO, K.; TAJIMA, K.; ENDOH, N.; HAYASHI, T.; FUJISAWA, A.; MASUDA, S.; OONISHI, H. Characterization of Ultrahigh Molecular Weight Polyethylene Irradiated with γ -Rays and Electron Beams to High Doses. **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry**, v.37, p.159-168, 1999.

INGHAM, E.; FISHER, J. The role of macrophages in osteolysis of total joint replacement. **Biomaterials**, v.26, p.1271-1286, 2005.

ISO 5834-4: 2005(E) Implants for surgery – Ultra-high molecular weight polyethylene – Part 4: Oxidation index measurement method.

JAHAN, M. S.; STOVALL, J. C.; KING, M. C. Observation of a non-radical intermediate in the oxidation pathway of free radicals in gamma-irradiated medical grade polyethylene. **Beam interactions with Materials & Atoms**, v. 185., p. 323-327, 2001.

JANDT, K. D. Developments and perspectives of scanning probe microscopy (SPM) on organic materials systems. **Materials Science and Engineering**, v.21, 221-295, 1988.

JOÃO, F. M.; RUI, A. S.; LUCIANO, F. B.; NUNO, M. N.; RUI, L. R. Bioinert, biodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement: state of the art and recent developments Composites. **Science and Technology**, v.64, p.789-817, 2004.

JOHNSON, T. S.; LAURENT, M. P.; YAO, J. Q.; GILBERTSON, L. N. The effect of displacement control input parameters on tibiofemoral prosthetic knee wear. **Wear**, v.250, p.222-226, 2001.

KANG, C.; LEE, Y. The surface modification of stainless steel and the correlation between the surface properties and protein adsorption. **J Mater Sci: Mater Med**, v.18, p.1389-1398, 2007.

KATHLEEN, S. S.; BISTOLFI, A.; BELLARE, A.; PRUITT, L. A. The combined effects of crosslinking and high crystallinity on the microstructural and mechanical properties of ultra high molecular weight polyethylene. **Biomaterials**, v.27, p.1688-1694, 2006.

KATHLEEN, S. T.; BLANCHET, T. A.; HECKELMAN, D. D. Effect of accelerated aging conditions on resultant depth-dependent oxidation and wear resistance of UHMWPE joint replacement bearing materials. **Wear**, v.255, p.1076-1084, 2003.

KATO, K.; UCHIDA, E.; KANG, E.; UYAMA, Y.; IKADA, Y. Polymer surface with graft chains. **Progress in Polymer Science**, v.28, p.209-259, 2003.

KELLETT, C. F.; SHORT, A.; PRICE, A.; GILL, H. S.; MURRAY, D. W. In vivo measurement of total knee replacement wear. **The Knee**, v.11, p.183-187, 2004.

KELLY, P. A.; O'CONNOR, J. J. Why incongruous knee replacements do not fail early. **Journal of Biomechanics**, v.31, p.1599-1605, 2001.

KIRKING, B.; KREVOLIN, J.; TOWNSEND, C.; COLWELL, C. W. JR.; D'LIMA, D. D. A multiaxial force-sensing implantable tibial prosthesis. **Journal of Biomechanics**, v.39, p.1744-1751, 2006.

KOBAYASHI, M.; YONG-SHUN, C.; OKA, M. A two year in vivo study of polyvinyl alcohol-hydrogel (PVA-H) artificial meniscus. **Biomaterials**, v.26, p.3243-3248, 2005.

KOWANDY, C.; MAZOUZ, H.; RICHARD, C. Isolation and analysis of articular joints wear debris generated in vitro. **Wear**, v.261, p.966-970, 2006.

KRISTON, I.; FOLDES, E.; STANIEK, P.; PUKÁNSZKY, B. Dominating reactions in the degradation of HDPE during long term ageing in water. **Polymer Degradation and Stability**, v.93, p.1715, 2008.

KUPPER, L.; GULMINE, J. V.; JANISSEK, P. R.; HEISE, H. M. Attenuated total reflection infrared spectroscopy for micro-domain analysis of polyethylene samples after accelerated ageing within weathering chambers. **Vibrational Spectroscopy**, v.34, p.63-72, 2004.

KURTZ, S. M.; MAZZUCCO, D.; RIMNAC, C. M.; SCHROEDER, D. Anisotropy and oxidative resistance of highly crosslinked UHMWPE after deformation processing by solid-state ram extrusion. **Biomaterials**, v.27, p.24-34, 2006.

KURTZ, S. M.; PRUITT, L.; JEWETT, W. C.; CRAWFORD, R. P.; CRANE, J. D.; EDIDIN, A. A. The yielding, plastic flow, and fracture behavior of ultra-high molecular weight polyethylene used in total joint replacements. **Biomaterials**, v.19, p.1989-2003, 1998.

KURTZ, S. M.; VILLARRAGA, M. L.; HERR, M. P.; BERGSTROM, J. S.; RIMNAC, C. M.; EDIDIN, A. A. Thermomechanical behavior of virgin and highly crosslinked ultra-high molecular weight polyethylene used in total joint replacements. **Biomaterials**, v.23, p.3681-3691, 2002.

LAURENT, M. P.; JOHNSON, T. S.; YAO, J. Q.; BLANCHARD, C. R.; CROWNINSHIELD, R. D. In vitro lateral versus medial wear of a knee prosthesis. **Wear**, v.255, p.1101-1106, 2003.

LEE, A. W.; SANTERRE, P. J.; BOYNTON, E. Analysis of released products from oxidized ultra-high molecular weight polyethylene incubated with hydrogen peroxide and salt solutions. **Biomaterials**, v. 21, p. 851-861, 2000.

LESSONS LEARNED. Why knee fail. **The Journal of Arthroplasty**, v.219, p.31-34, 2004.

LISA, A. P. Deformation, yielding, fracture and fatigue behavior of conventional and highly cross-linked ultra high molecular weight polyethylene. **Biomaterials**, v.26, p.905-915, 2005.

LIU, G.; CHEN, Y.; LI, H. A study on sliding wear mechanism of ultrahigh molecular weight polyethylene/polypropylene blends. **Wear**, v.256, p.1088-1094, 2004.

LU, S.; BUCHANAN, F.J.; ORR, J. F. Analysis of variable influencing the accelerated ageing behaviour of ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE). **Polymer Testing**, v.21, p.623-631, 2006.

MANSUR, H. S. Cap. 7 - Técnicas de Caracterização de Materiais. In: ORÉFICE, Rodrigo; MANSUR, Herman; PEREIRA, Marivalda. (Org.). **Biomateriais: fundamentos e aplicação**. Rio de Janeiro, 2005, v.1, p.70-95.

MANSUR, H. S. Caracterização de Superfícies e Interfaces. Curso de Pós-graduação em Engenharia Metalúrgica e Minas. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Brasil, 2001. Notas de Aula.

MARY, B. T.; ANUJ, B. A study of the nanostructure and tensile properties of ultra-high molecular weight polyethylene. **Biomaterials**, v.25, p.3389-3398, 2004.

MATTOS, I. L.; SHIRAIISHI, K. A.; BRAZ, A. D.; FERNANDES, J. R. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. **Química Nova**, v.26, p.373-380, 2003.

MCEWEN, H.M.J.; BARNETT, P.I.; BELL, C.J.; FARRAR, R.; AUGER, D.D.; STONE, M.H.; FISHER, J. the influence of design, materials and kinematics on the in vitro wear of total knee replacements. **Biomechanics**, v.38, p.357-365, 2005.

MCMULLIN, B. T.; LEUNG, M.; SHANBLHAG, A. S.; MCNUTLY, D.; MABREY, J.; AGRAWAL, C. M. Correlating subjective and objective descriptors of ultra high molecular weight wear particles from total joint prostheses. **Biomaterials**, v.27, p.752-757, 2006.

MEDEL, J.; GARCÍA-ALVAREZ, F.; GOMEZ-BARRENA; PUERTOLAS, J. A. Microstructure change of extruded ultra high molecular weight polyethylene after gamma irradiatio and shelf-aging. **Polymer Degradation and Stability**, v.88 p. 435-443, 2005.

MEDEL, J.; GARCÍA-ALVAREZ, F.; GOMEZ-BARRENA; RIOS, R.; GRACIA-VILLA, L.; PUERTOLAS, J. A. Microstructure change of extruded ultra high molecular weight polyethylene after gamma irradiatio and shelf-aging. **Biomaterials**, v.25 p. 9-21, 2004.

MILLER, T. T. Imaging of knee arthroplasty. **European Journal of Radiology**, v.54, p.164-177, 2005.

MINODA, Y.; KOBAYASHI, A.; IWAKI, H.; MIYAGUCHI, M.; KADOYA, Y.; OHASHI, H.; TAKAOKA, K. Polyethylene wear particle generation in vivo in an alumina medial pivot total knee prosthesis. **Biomaterials**, v.26, p.6034-3040, 2005.

MURATOGLU, O. K. ; GREENBAUM, E. S. ; BRAGDON, C. R. ; JASTY, M. ; FREIBERG, A. ; HARRIS, W. H. Surface analysis of early retrieved acetabular polyethylene liners: a comparison of conventional and highly corsslinked polyethylenes. **The Journal of Arthroplasty**, v.19, p.68-77, 2004.

NAGAOKA, S.; KAKIUCHI, T.; OHARA, K.; MUKAI, K. Kinetics of the reaction by which natural vitamin E is regenerated by vitamin C. **CPL Chemistry and Physics of Lipids**, v.146, p.26-32, 2007.

NEVELOS, J. Surface engineering of prosthetic knee components. **Knee**, v.11, p.163-167, 2004.

OOSTEROM, R.; AHMED, T. J.; POULIS, J. A.; BERSEE, H. E. N. Adhesion performance of UHMWPE after different surface modification techniques. **Medical Engineering Physics**, v.28, p.323-330, 2006.

ORAL, E.; CHRISTENSEN, S. D.; MALHI, A. S.; WANNOMAE, K. K.; MURATOGLU, O. K. Wear Resistance and Mechanical Properties of Highly Cross-linked, Ultrahigh-Molecular Weight Polyethylene Doped With Vitamin E. **The Journal of Arthroplasty**, v.21, p.580-590, 2006.

ORAL, E.; GREENBAUM, E. S.; MALHI, A. S.; HARRIS, W. H.; MURATOGLU, O. K. Characterization of irradiated blends of α -Tocopherol and UHMWPE. **Biomaterials**, v.26, p.6657-6663, 2005.

ORAL, E.; MALHI, A. S.; MURATOGLU, O. K. Mechanisms of decrease in fatigue crack propagation resistance in irradiated and melt UHMWPE. **Biomaterials**, v.27, p.917-925, 2006.

ORAL, E.; MURATOGLU, O. K. Radiation cross-linking in ultra-high molecular weight polyethylene for orthopaedic applications. **NIMB Beam Interactions with Materials & Atoms**, v. B 265, p. 18-22, 2007.

ORAL, E.; WANNOMAE, K. K.; HAWKINS, N. HARRIS, W. H.; MURATOGLU, O. K. α -Tocopherol-doped irradiated UHMWPE for high fatigue resistance and low wear. **Biomaterials**, v.25, p.5515-5522, 2004.

ORAL, E.; WANNOMAE, K. K.; ROWELL, S. L.; MURATOGLU, O. K. Migration stability of α -Tocopherol in irradiated UHMWPE. **Biomaterials**, v.27, p.2434-2439, 2006.

PASCAUD, R. S.; EVANS, W. T.; MCCULLAGH, P. J. J.; PATRICK, F. D. P. Influence of gamma-irradiation sterilization and temperature on the fracture toughness of ultra-high-molecular-weight polyethylene. **Biomaterials**, v.18, p.727-735, 1997.

PELTZER, M.; WAGNER, J. R.; JIMÉNES, A. Thermal characterization of UHMWPE stabilized with natural antioxidants. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.87, p.493-497.

PERILLO-MARCONE, A.; RYD, L.; JOHNSON, K.; TAYLOR, M. A combined RSA and FE study of the implanted proximal tibia: correlation of the post-operative mechanical environment with implant migration. **Journal of Biomechanics**, v.37, p.1205-1213, 2004.

PISCITELLI, A. A. M. **Mecanismos Físico-Químicos da Interface Argamassa Modificada com Polímeros/Cerâmica de Revestimento**. Proposta de doutorado do curso de Pós-graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas. Belo Horizonte, 2004, p. 97-133.

POMPE, W.; WORCH, H.; EPPLE, M.; FRIESS, W.; GELINSKY, M.; GREIL, P.; HEMPEL, U.; SCHARNWEBER, D.; SCHULTE, K. Functionally graded materials for biomedical applications. **Materials Science & Engineering**, A362, p.40-60, 2003.

PRUITT, L. A. Deformation, yielding, fracture and fatigue behavior of conventional and highly cross-linked ultra high molecular weight polyethylene. **Biomaterials**, v.26, p.905 – 915, 2005.

PRUITT, L.; RANGANATHAN, R. Effect of sterilization on the structure and fatigue resistance of medical grade UHMWPE. **Materials Science and Engineering**, p.91-93, 1995.

PUÉRTOLAS, J. A.; LARREA, A.; GÓMES-BARRENA, E. Fracture behavior of UHMWPE in non-implanted, shelf-aged knee prostheses after gamma irradiation in air. **Biomaterials**, v.22, p.2107-2114, 2001.

RAMAKRISHNA, S.; MAYER, J.; WINTERMANTEL, E.; KAM, W. L. Biomedical applications of polymer-composite materials: a review. **Composites Science and Technology**, v.61, p.1189-1224, 2001.

REGGIANI, M.; TINTI, A.; VISENTIN, M.; STEA, S.; ERANI, P.; FAGNANO, C. Vibrational spectroscopy study of the oxidation of Hylamer UHMWPE explanted acetabular cups sterilized differently. **Journal of Molecular Structure**, v.834-836, p. 129-135, 2007.

RENÓ, F.; BRACCO, P.; LOMBARDI, F.; BOCCAFOSCHI, F.; COSTA, L.; CANNAS, M. The induction of MMP-9 release from granulocytes by Vitamin E in UHMWPE. **Biomaterials**, v.25, p.995-1001, 2004.

RENÓ, F.; CANNAS, M. UHMWPE and vitamin E bioactivity: An emerging perspective. **Biomaterials**, v.27, p.3039-3043, 2006.

RENÒ, F.; CANNAS, M. UHMWPE oxidation increases matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) release in human fibroblast. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 13, p.403-406, 2002.

RENÓ, F.; LOMBARDI, F.; CANNAS, M. UHMWPE oxidation increases granulocytes activation: a role in tissue response after prosthesis implant. **Biomaterials**, v.24, p.2865-2900, 2003.

RENÒ, F.; SABBATINI, M.; CANNAS, M. Surface oxidation of UHMWPE for orthopedic use increases apoptosis and necrosis in human granulocytes. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 14, p.241-245, 2002.

RENÒ, F.; CANNAS, M. UHMWPE oxidation increases matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) release in human fibroblast. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 13, p.403-406, 2002.

RIEKER, C. B.; KONRAD, R.; SCHON, R.; SCHNEIDE, W.; ABT, N. A. In vivo and in vitro surface changes in a highly cross-linked polyethylene. **The Journal of Arthroplasty**, v.18, p.48-54, 2003.

RIES, M. D. Highly cross-linked polyethylene the debate is over – in opposition. **The Journal of Arthroplasty**, v.20, p. 59-62, 2005.

RIMNAC, CLARE. M.; KURTZ, S. M. Ionizing radiation and orthopaedic prostheses. **Beam Interactions with Materials & Atoms**, B236, p. 30-37, 2005.

RIOS, M. D.G.; PENTEADO e M. DE V. C. Determinação de α -Tocoferol em alho irradiado utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). **Química Nova**, v.26, p.10-12, 2003.

ROCHA, M. F. G; MANSUR, H. S. Caracterização microestrutural e espectroscópica do UHMWPE utilizado como polímero de suporte para prótese total de joelho. In: 9º Congresso Brasileiro de Polímeros - 9º CBPol, 2007, Campina Grande-PB. **Anais do 9º Congresso Brasileiro de Polímeros - 9º CBPol**, Campina Grande, 2007, p.335, *in press*.

ROY, M. E. Influence of Cross-linking and Oxidation on the Microstructural Mechanical Properties of UHMWPE. **Materials Research Society**, v.874, 2005.

SAKODA, H.; VOICE, A. M.; MCEWEN, J. M. H.; ISAAC, G. H.; HARDAKER, C.; WROBLEWSKI, M. B.; FISHER, J. A comparison of the wear and physical properties of silane cross-linked polyethylene and ultra-high molecular weight polyethylene. **The Journal of Arthroplasty**, v.16, p.1018-1023, 2001.

SCHWARTZ, C. J.; BAHADUR, S. Development and testing of a novel joint wear simulator and investigation of the viability of an elastomeric polyurethane for total-joint arthroplasty devices. **Wear**, v.262, p.331-339, 2007.

SCHWENKE, T.; BORGSTEDT, L. L.; SCHNEIDER, E.; ANDRIACCHI, T. P.; WIMMER, M. A. The influence of slip velocity on wear of total knee arthroplasty. **Wear**, v.259, p.926-932, 2005.

SETHI, R. K.; NEAVYN, M. J.; RUBASH, H. E.; SHANBHAG, A. S. Macrophage response to cross-linked and conventional UHMWPE. **Biomaterials**, v.24, p.2561-2573, 2003.

SEAL, B. L.; OTERO, T. C.; PANITCH, A. Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration- review. **Mat. Science and Engineering**, v.34, p.147-230, 2001.

SHIBATA, N. The anti-oxidative properties of α -tocopherol in γ -irradiated UHMWPE with respect to fatigue and oxidation resistance. **Biomaterials**, v.26, p. 5755-5762, 2005.

SHIBATA, N.; KURTZ, M. S.; TOMITA, N. Recent Advances of Mechanical Performance and Oxidation Stability in Ultrahigh Molecular Weight Polyethylene for Total Joint Replacement: Highly Crosslinked and α -Tocopherol Doped. **Journal of Biomechanical Science and Engineering**, v.1, p.107-123, 2006.

SHIBATA, N.; TOMITA, N. The anti-oxidative properties of α -tocopherol in γ -irradiated UHMWPE with respect to fatigue and oxidation resistance. **Biomaterials**, v.26, p.5755-5762, 2005.

SHIBATA, N.; TOMITA, N.; IKEUCHI, K. Gamma-irradiation aggravates stress concentration along subsurface grain boundary of ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) under sliding fatigue environment. **Bio-Medical Materials and Engineering**, v.13, p.35-45, 2003.

SHIBATA, N.; TOMITA, N.; IKEUCHI, K. Microscopic destruction of ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) under uniaxial tension. **Bio-Medical Materials and Engineering**, v.13, p.47-57, 2003.

SHORT, A.; GILL, H. S.; MARKS, B.; WAITE, J. C.; KELLETT, C. F.; PRICE, A. J.; O'CONNOR, J. J.; MURRAY, D. W. A novel method for in vivo knee prosthesis wear measurement. **Journal of Biomechanics**, v.38, p.315-322, 2005.

SOBIERAJ, M. C.; KURTZ, S. M.; RIMNAC, C. M. Large deformation compression induced crystallinity degradation of conventional and highly crosslinked UHMWPEs. **Biomaterials**, v.26, p.6430 – 6439, 2005.

SOBIERAJ, M. C.; KURTZ, S. M.; RIMNAC, C. M. Notch strengthening and hardening behavior of conventional and highly crosslinked UHMWPE under applied tensile loading. **Biomaterials**, v.26, p.3411 – 3426, 2005.

SOLORZANO, P. **Comportamento Magnético de Nanopartículas de Fé em Filmes de CD**. Dissertação de Mestrado do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas. Rio de Janeiro, 2003, p.62 -71.

SPIEGELBERG, S. Analytical Techniques for Assessing the Effects of Radiation on UHMWPE. **Cambridge Polymer Group**, Inc. p.1-10.

SPRIANO, S.; VERNÉ, E.; FAGA, M. G.; BUGLIOSI, S.; MAINA, G. Surface treatment on a implant cobalt alloy for high biocompatibility and wear resistance. **Wear**, v.259, p.919-925, 2005.

STEPHEN, S. Analytical Techniques for Assessing the Effects of Radiation on UHMWPE. **Cambridge Polymer Group**, Inc.

STEPHENS, C. P. ; BENSON, R. S. ; MARTINEZ-PARDO, M. E. ; BAKER, J. B. ; STEPHENS, W.; STEPHENS, T. P. The effect of dose rate on the crystalline lamellar thickness distribution in gamma-radiation of UHNWPE. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v.236, p. 540-545, 2005.

SUAREZ, J. C. M.; DE BIASI, R. S. Effect of gamma irradiation on the ductile-to-brittle transition in ultra-high molecular weight polyethylene. **Polymer Degradation and Stability**, v.82, p.221-227, 2003.

TADDEI, P.; AFFATATO, S.; FAGNANO, C.; TONI, A. Oxidation in ultrahigh molecular weight polyethylene and cross-linked polyethylene acetabular cups tested against roughened femoral heads in a hip joint simulator. **Biomacromolecules**, v.7, p. 1912-1920, 2006.

TADDEI, P.; AFFATATO, S.; FAGNANO, C.; BORDINI, B.; TINTI, A.; TONI, A. Vibrational spectroscopy of ultra-high molecular weight polyethylene hip prostheses: influence of the sterilisation method on crystallinity and surface oxidation. **Journal of Molecular Structure**, v.613, p.121-129, 2002.

TONY, G. T.; RALF, G. J. C. H.; PIETER, B.; JACQUELINE, H. G.; ALBERT, J. P.; RENE, P. .V. Tissue ingrowth and degradation of two biodegradable porous polymers with different porosities and pore sizes. **Biomaterials**, v.23, p.1731-1738, 2002.

TORRISI, L.; VISCO, A. M.; BARNÁ, R.; PASQUALE, D.; CAMPO, N.; MARCO, Di G.; TRIMARCHI, M., TRIFIRÓ, A. Radiation Effects Induced By MeV Electron Beams Irradiating Dense Polyethylene (UHMWPE). **Taylor & Francis**, v.159, p.259-271, 2004.

TRETINNIKOV, O. N.; OGATA, S.; IKADA, Y. Surface crosslinking of polyethylene by electron beam irradiation in air. **Polymer**, v.39, p.6115-6120, 1998.

VALENZA, A.; VISCO, A. M.; TORRISI, L.; CAMPO, N. Characterization of ultra-high-molecular-weight polyethylene (UHMWPE) modified by ion implantation. **Polymer**, v.45, p.1707-1715, 2004.

VALERIO, P.; PEREIRA, M. M.; GOES, A. M.; LEITE, M. F. The effect of ionic products from bioactive glass dissolution on osteoblast proliferation and collagen production. **Biomaterials**, v.25, p.2941-2948, 2004.

VALERIO, P.; GUIMARÃES, M. H. R.; PEREIRA, M. M.; GOES, A. M.; LEITE, M. F. Primary osteoblast cell response to sol-gel derived bioactive glass foams. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.16, p.1-6, 2005.

VALERIO, P. **Avaliação citológica e bioquímica da interação da cerâmica bioativa com 60% de sílica BG60S com osteoblastos de cultura primária**. Tese de doutorado do Curso de Pós-Graduação em Ciências biológicas- Fisiologia e Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2005, p. 1-97.

VASCONCELLOS, L.; BLANDO, E.; SOUTO, A.; OLIVEIRA, M. G.; WOITCHUNAS, G. F. P.; HUBLER, R. Study of mechanical degradation of UHMWPE acetabular components due to clinical X-ray procedures. **J. Mater Sci: Mater Med**, v.18, p. 1659-1663, 2007.

VISENTIN, M.; STEA S.; M DE Clerico; REGGIANI, M.; FAGNANO, C.; SQUARZONI, S.; TONI, A. Determination of Crystallinity and Crystal Structure of HylamerTM Polyethylene after *in vivo* Wear. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 00, 2006.

WANG Shi-bo; GE Shi-rong; NORM G.; VINOGRADOV, M.; XIAO, J. Comparison of the Wear behavior of UHMWPE Lubricated by Human Plasma and Brine. **Journal of China University of Mining & Technology**, v. 17, p. 0335-0340, 2007.

WANG, A.; ESSNER, A.; POLINENI, V. K.; STARK, C.; DUMBLRTON, J. H. Lubrication and wear of ultra-high molecular weight polyethylene in total joint replacements. **Tribology International**, v.31, n.1-3, p.17-33, 1998.

WANG, A.; ESSNER, A.; STARK, C.; DUMBLETON, J. H. A biaxial line-contact wear machine for the evaluation of implant bearing materials for total knee joint replacement. **Wear**, v.225-229, p.701-707, 1999.

WANG, S.; GE, S. The mechanical property and tribological behavior of UHMWPE: Effect of molding pressure. **Wear**, article in press, 2007.

WANG, Y. Q.; LI, J. Sliding wear behavior and mechanism of ultra-high molecular weight polyethylene. **Materials Science & Engineering**, v.266, p.155-160, 1999.

WANNOMAR, K. K.; BHATTACHARYYA, S.; FREIBERG, A.; ESTOK, D.; HARRIS, W. H.; MURATOGLU, O. In vivo oxidation of retrieved cross-linked ultra-high-molecular polyethylene acetabular components with residual free radical. **The Journal of Arthroplasty**, v.21, p.1005-1011, 2006.

VASCONCELLOS, L. A.; BLANDO, E.; SOUTO, A. A.; OLIVEIRA, M. G.; WOITCHUNAS, G. F. P.; HUBLER, R. Study of mechanical degradation of UHMWPE acetabular components due to clinical X-ray procedures. **J Mater Sci: Mater Med**, v.18, p.1659-1663, 2007.

WILLE, B. M.; BLOEBAUM, R. D.; ASHRAFI, S.; DEARDEN, C.; STEFFENSEN, T.; HOFMANN, A. A. Oxidative degradation in highly cross-linked and conventional polyethylene after 2 years of real-time shel aging. **Biomaterials**, v.27, p.2275-2284, 2006.

WOLF, C.; LEDERER, K.; PFRAGNER, R.; SCHAUENSTEIN, K.; INGOLIC, E.; SIEGL, V. Biocompatibility of ultra-high molecular weight polyethylene (UHMW-PE)

stabilized with α -tocopherol used for joint endoprostheses assessed in vitro. **J Mater Sci: Mater Med**, v.18, p.1247-1252, 2007.

YEN-SHUO, C. M. D.; CHEN, W. M.; CHING-KUEI, H.; CHIANG, C. C.; CHEN, T. Fracture of the Polyethylene Tibial Post in a Nexgen Posterior-Stabilized Knee Prosthesis. **The Journal of Arthroplasty**, v.19, p.1045-1048, 2004.

YOSHIDA, Y.; NIKI, E.; NOGUCHI, N. Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidant: chemical and physical effects. **CPL Chemistry and Physics of Lipids**, v.123, p.63-75, 2003.

YANG, S.; REN, W.; PARK, Y.; SIEVING, A.; HSU, S.; NASSER, S.; WOOLEY, P. H. Diverse cellular and apoptotic responses to variant shapes of UHMWPE particles in a murine model of inflammation. **Biomaterials**, v.23, p.3535-3543, 2002.