

Liliane Pimenta de Melo

**MOLDAGEM POR INJEÇÃO DE PLACAS CRANIOFACIAIS
EM PLGA: RELAÇÃO ENTRE PARÂMETROS DE PROCESSO
E PROPRIEDADES**

Tese submetida ao Programa de
Pós-graduação em Ciência e
Engenharia de Materiais da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Doutora em Ciência e Engenharia
de Materiais

Orientador: Prof. Dr. Gean Vitor
Salmoria

Coorientador: Prof. Dr. Carlos
Rodrigo de Mello Roesler

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Melo, Liliane Pimenta de
Moldagem por injeção de placas craniofaciais em
PLGA : relação entre parâmetros de processo e
propriedades / Liliane Pimenta de Melo ;
orientador, Gean Vitor Salmoria, coorientador,
Carlos Rodrigo de Mello Roesler, 2017.
158 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós
Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais,
Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Ciência e Engenharia de Materiais. 2. placa
craniofacial. 3. moldagem por injeção. 4. PLGA. 5.
Biomaterial. I. Salmoria, Gean Vitor. II. Roesler,
Carlos Rodrigo de Mello. III. Universidade Federal
de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Engenharia de Materiais. IV. Título.

Liliane Pimenta de Melo

**MOLDAGEM POR INJEÇÃO DE PLACAS CRANIOFACIAIS EM PLGA: RELAÇÃO
ENTRE PARÂMETROS DE PROCESSO E PROPRIEDADES**

Esta tese foi julgada adequada para obtenção do Título de Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PGMAT).

Florianópolis, 23 de agosto de 2017.

Prof. Dr. Guilherme Mariz de Oliveira Barra
Coordenador do PGMAT

Banca Examinadora:

Prof. Gean Vitor Salmoria, Dr.
– Orientador - Presidente
Universidade Federal de Santa
Catarina

Prof. Carlos Rodrigo de Mello Roesler,
Dr. – Coorientador
Universidade Federal de Santa
Catarina

Prof^a. Marisa Masumi Beppu, Dr.
Universidade Estadual de Campinas

Prof. Fernando Humel Lafratta, Dr.
Universidade do Estado de Santa
Catarina

Prof. Dachamir Hotza, Dr.
Universidade Federal de Santa
Catarina

Prof. Guilherme Mariz de
Oliveira Barra, Dr.
Universidade Federal de Santa
Catarina

Izabelle Mello, Dr.
Laboratório de Engenharia
Biomecânica (LEBm)

*Dedico este trabalho àqueles que acreditam
na ética e no valor do trabalho científico.*

*"Eu poderia viver recluso numa casca de noz
e me considerar rei do espaço infinito"*
William Shakespeare, "Hamlet", ato II, cena II

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia dos Materiais, pela oportunidade e toda a estrutura para a realização do projeto de doutorado.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico - CNPq pelo fornecimento do apoio financeiro ao desenvolvimento do doutorado.

Aos orientadores e coordenadores do projeto do doutorado e do “Projeto Biomecânico dos Implantes Bioabsorvíveis (BIO-ABS)” do Laboratório de Engenharia Biomecânica (LEBm), professores Edison da Rosa, Eduardo Alberto Fancello, Ari Digiacomo Ocampo Morée e, especialmente, aos orientadores Gean Vitor Salmoria e Carlos Rodrigo de Mello Roesler, pela oportunidade e todo apoio dedicado.

À professora Silvia Farè, da Politécnica de Milão, pelo acolhimento, amizade e orientação nos trabalhos realizados no Departamento de Química, Material e Engenharia Química da Politécnica de Milão.

Ao Rogério do PGMAT, sempre muito prestativo e esclarecedor durante todo o período do doutorado.

Ao LCME, pelo treinamento e disponibilidade do equipamento para as análises de microscopia eletrônica realizada neste trabalho.

Ao professor Marco Antônio Cavaco do LabMetro/UFSC, pela disponibilização do polariscópio para o ensaio de fotoelasticidade.

Aos amigos do LEBm e do LabCell/Itália, especialmente ao Arthur Santos, pela ajuda na realização dos ensaios na EMIC; ao Nicola Contessi, pelo apoio nos ensaios com culturas celulares e ao Vitor Henschel (Gaúcho), pela ajuda no processo de moldagem por injeção. Agradeço também à Luiza Araújo, Patrícia Ortega, Françoá Horn, Vinícius Oliveira, Gabriel Ghizoni, André Ceravolo, Luiz Fernando Vieira, Felipe Castro, Marcos Brockveld, Heitor, Leonardo, Michele e Paulinha por fazerem parte do crescimento pessoal e profissional adquirido durante o período do doutorado.

À minha família e aos meus amigos, alicerces da minha vida, por terem me dado força e parceria para todos os momentos.

E a todos que, de maneira direta ou indireta, auxiliaram na execução deste trabalho.

RESUMO

O poli (ácido lático-co-glicólico), PLGA, é um polímero biocompatível, biodegradável e aprovado pela FDA. Nas últimas duas décadas, o PLGA vem sendo considerado um dos mais promissores polímeros para a fabricação de dispositivos médicos aplicáveis na engenharia biomédica. Entre os processos de fabricação utilizados para produção destes dispositivos, destaca-se a moldagem por injeção de placas e parafusos bioreabsorvíveis. No entanto, os parâmetros de processamento utilizados na moldagem por injeção e a geometria projetada do implante atuam nas propriedades mecânicas e físico-químicas do material. Neste trabalho, o processo de moldagem por injeção de placas craniofaciais bioreabsorvíveis utilizando o copolímero PLGA 85:15 foi investigado. Para isso, o trabalho foi dividido em quatro etapas: a investigação do parâmetro de processamento mais influente na moldagem por injeção do material, a fabricação do molde das placas, a investigação das propriedades de placas fabricadas e a viabilidade celular através de testes *in vitro*. Primeiramente, foi estudado o efeito de dois parâmetros de processo (isto é, temperatura do fundido e a vazão de injeção) e ainda o efeito da presença de um entalhe em corpos de prova regulares injetados em PLGA. Dada as condições de processamento, o molde foi projetado e foi conduzida a fabricação das placas craniofaciais, baseada em duas diferentes temperaturas do fundido (limite inferior e superior). Os implantes injetados foram submetidos à degradação *in vitro* em um banho termostatizado a $37 \pm 1^\circ\text{C}$, por 16 semanas. As propriedades mecânicas e físico-químicas das placas moldadas de PLGA, tais como resistência à flexão, massa molecular, cristalinidade, temperaturas de transição e morfologia, foram avaliadas em função do tempo de degradação e monitoradas por análise DSC, DMA, GPC, FTIR e MEV. Os resultados mostram que quanto maior a temperatura na moldagem por injeção, maior instabilidade térmica do material e, portanto, a microestrutura do material moldado apresenta diferentes níveis de distribuição de massa molecular. Assim, a resistência mecânica ao longo do período de degradação *in vitro* do PLGA moldado a alta temperatura não se comporta gradativamente como o de baixa temperatura, devido as diferenças na cristalinidade e presença de oligômeros. Apesar desse comportamento, o tempo de degradação para as placas moldadas em ambas condições foram semelhantes, mas com diferenças na erosão de superfícies devido à difusão durante a degradação. O presente estudo contribui para a compreensão dos efeitos dos parâmetros da moldagem por injeção e geometria nas propriedades físico-químicas e mecânicas para a fabricação de placas craniofaciais em PLGA.

Palavras-chave: placa craniofacial, moldagem por injeção, PLGA, biomaterial.

ABSTRACT

Poly (lactic-co-glycolic acid), PLGA, is a biocompatible, biodegradable and FDA-approved polymer. In the last two decades, PLGA has been considered one of the most promising polymers for the manufacture of medical devices, such as plates and screws. Among the manufacturing processes used for the manufacture of these devices, injection molding stands out. However, the processing parameters and the mechanical and physico-chemical properties of the material depends on designed geometry of the implant. In this work, the injection molding process of bioresorbable craniofacial plaques using poly (lactic-co-glycolic acid) copolymer 85/15 was investigated. For this, the work was divided into four stages: investigation of the most influential processing parameter in the injection molding of the material, the manufacture of the mold of the plates, the investigation of the properties of the manufactured plates and the cellular viability through *in vitro* tests. First, the effect of two process parameters (ie, melt temperature and injection flow) and the effect of the presence of a notch on regular test bodies injected into PLGA were studied. Given the processing conditions, the mold was designed and craniofacial plates were manufactured, based on two different melt temperatures (low and high temperatures). The injected implants were submitted to *in vitro* degradation in a thermostated bath at 37 ± 1 °C for 16 weeks. Mechanical and physico-chemical properties of injection molded PLGA plates, such as flexural strength, molecular mass, crystallinity, transition temperatures and morphology, were evaluated as a function of degradation time and monitored by DSC, DMA, GPC, FTIR and SEM. The results show that as higher as is injection molding temperature, greater thermal instability of the material and, therefore, microstructure of the molded material presents different molecular mass distribution. Thus, mechanical resistance during the *in vitro* degradation period of high temperature PLGA molded does not behave gradually as the low temperature due to differences in the crystallinity and presence of oligomers. Despite this behavior, the degradation time for the cast plates under both conditions were similar, but with differences in surface erosion due to diffusion during degradation. The present study contributes to the understanding of the effects of injection molding and geometry parameters on the physico-chemical and mechanical properties for PLGA plate manufacturing.

Keywords: Injection molding, Craniofacial plate, PLGA, Biodegradation, Biomaterial.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ilustração do comportamento típico do material bioreabsorvível: diminuição de propriedade mecânica e transferência de carga para o osso em recuperação [13].	27
Figura 2. Curva genérica de perda de peso molecular, de resistência mecânica e de massa de dispositivos bioreabsorvíveis implantados [3].	28
Figura 3. Reação de copolimerização do poli(ácido lático-co-glicólico) [3, 94].	29
Figura 4. Força necessária para causar fratura no osso da face [37, 38].	31
Figura 5. Várias osteotomias de maxila com fixação de placas e parafusos de titânio [43].	33
Figura 6. Fixação interóssea rígida com placa absorvível e parafuso, incluindo o tipo reto, tipo duplo Y, tipo quadrado 5 × 5 e placas retangulares de 5 x 10 [45].	34
Figura 7. Osso do zigomático [43].	35
Figura 8. Vista frontal do crânio [50].	37
Figura 9. (A) Implante do sistema placa-parafuso no procedimento cirúrgico. (B) A análise cefalométrica dos movimentos cirúrgicos e o padrão de estabilidade, 6 semanas do pós-operatório [57] (adaptado).	39
Figura 10. Malha de PLA (0.5 mm) utilizada para regeneração do osso temporal em cirurgia craniofacial pediátrica [58].	40
Figura 11. Mudança percentual na tensão e força de cisalhamento versus semanas em tempo real do envelhecimento para MacroPore FRP (PLGA) (adaptado) [58].	41
Figura 12. Mudança percentual na viscosidade inerente versus semanas em tempo real do envelhecimento para MacroPore FRP (PLGA) (adaptado) [58].	42
Figura 13. (A) Parafusos de 2 milímetros e placas de encaixe. (B) as placas são dobradas planas com fórceps, sem a necessidade de um dispositivo de aquecimento para manter a forma desejada [57].	43
Figura 14. Placas e parafusos bioreabsorvíveis utilizados em aplicações craniofacial-faciais [60].	44
Figura 15. Placas bioreabsorvíveis de quatro e seis furos compostas de ésteres polimerizados (poliésteres) com aproximadamente 82% de ácido polilático e 18% de ácido poliglicólico. As placas de seis furos medem 25 mm de comprimento, 5 mm de largura e 1,5 mm de espessura [61].	45
Figura 16. Máquina de moldagem por injeção: (1) Molde; (2) Parafuso de injeção; (3) Funil de alimentação; (4) Bico de injeção. Fonte: próprio autor.	47
Figura 17. Fluxo de injeção e presença da camada congelada e a frente de fluxo na parede da cavidade do molde. Diagrama esquemático dos processos de formação da camada congelada na parte moldada por injeção: (a) durante a fase de preenchimento; B) após a fase de preenchimento (adaptado) [72].	49
Figura 18. Influência da massa molar e do tipo de copolímero na temperatura de transição vítrea do PLA [81].	55

Figura 19. Degradação de uma placa para fratura no osso nasal nos períodos de 0, 6 e 12 meses [81].	59
Figura 20. Modelos de degradação para polímeros biodegradáveis: Erosão da superfície (a), degradação volumétrica (b) e degradação volumétrica com autocatálise (c) [91] (Adaptado).	60
Figura 21. Amostras com entalhe (A) e não entalhadas (B), ambas de espessura 2mm. Um tipo caracteriza um entalhe que representa um concentrador de tensão agudo e outro tipo não tem entalhe, mas possui uma presença suave do concentrador de tensão.	72
Figura 22. Região reduzida dos corpos de prova utilizados para testes de tração.	72
Figura 23. Ordem das franjas devido a intensidade da tensão no ensaio fotoelástico e Quadro de Michel-Levy [20].	76
Figura 24. Curvas de tensão-deformação (médias) dos corpos de prova de PLGA moldado por injeção (a) e não entalhadas (b).	78
Figura 25. Gráfico de interações: temperatura (T), vazão de injeção (Q) e presença do entalhe (N) em relação ao módulo elástico aparente (E).	80
Figura 26. Gráfico de efeitos das variáveis temperatura (T), vazão de injeção (Q) e presença do entalhe (N) em relação ao módulo elástico aparente (E).	81
Figura 27. Sequência de imagens do teste de tração para corpos de prova entalhados (acima) e não entalhados (abaixo) injetados sob a Condição I	82
Figura 28. MEV de superfície de fratura sem entalhe (esquerda) e entalhada (direita) dos corpos de prova de PLGA moldados usando diferentes condições de processamento.	83
Figura 29. DMA do PLGA 85:15 em todas as condições de moldagem por injeção, comparando os corpos de prova sem entalhe (a) e com entalhe (b).	84
Figura 30. Franjas fotoelásticas de corpos de prova entalhados e não entalhados para as condições I, II, III, IV.	85
Figura 31. Curvas de calorimetria para grânulos de PLGA e corpos de prova moldados sob diferentes condições de processo (I, II, III, IV).	86
Figura 32. Modelos para o sistema placa-parafuso buco-maxilo-facial Fonte: LEBm/UFSC.	92
Figura 33. Dimensões do desenho em CAD da placa craniofacial.	93
Figura 34. Cavidades e insertos do molde da máquina de moldagem por injeção [6].	94
Figura 35. Dimensões da geometria do implante craniofacial (a) e o inserto para moldagem (b).	99
Figura 36. Fresagem do bloco de alumínio para adaptação na cavidade da máquina de moldagem por injeção.	100
Figura 37. Usinagem da cavidade do molde das placas craniofaciais com canais de injeção.	101
Figura 38. Molde usinado (a) e dispositivo injetado com duas placas craniofaciais ligadas aos canais de injeção (b).	102
Figura 39. Curvas de tensão-deformação representativas (média) de PLGA_baixaT e PLGA_altaT obtidas por testes de flexão.	112

Figura 40. Curvas de tensão-deformação representativas (média) de PLGA_baixaT (a) e PLGA_altaT (b) obtidas nos diferentes pontos de degradação por testes de flexão.	113
Figura 41. Curvas representativas de módulo de armazenamento (E') e Tanδ (E''/ E') em função da temperatura obtida por DMA para PLGA_baixaT e PLGA_altaT.....	114
Figura 42. Curvas representativas de módulo de armazenamento (E') e Tanδ (E''/ E') em função da temperatura obtida por DMA dos diferentes pontos de degradação (isto é, 0, 1, 2, 3) para os PLGA_baixaT (a) e PLGA_altaT (b). .	115
Figura 43. As temperaturas de transição no Ponto0 da degradação do PLGA_baixaT e PLGA_altaT moldados por injeção e do PLGA_pellet, testado como controle.	117
Figura 44. Temperaturas de transição vítrea (T _g) medidas pelo DSC dos pontos de degradação em meio PBS da condição PLGA_baixaT e PLGA_altaT: X = Pellet; A = Ponto0; B = Ponto1; C = Ponto2; D = Ponto3; E = Ponto4.	118
Figura 45. Temperaturas de transição vítrea (T _g) medidas pelo DSC para PLGA_baixaT (a) e PLGA_altaT (b).....	119
Figura 46. Fotoelasticidade da placa PLGA_baixaT (a) e PLGA_altaT (b) usando luz monocromática.....	121
Figura 47. Espectro referente aos pontos de degradação 0 a 4 das placas de PLGA referentes ao período de 0, 15, 30, 60 e 120 dias, respectivamente. Grupos ésteres = Vermelho: 1760–1745 cm ⁻¹ e 1300–1150 cm ⁻¹ ; Grupos alcanos = azul: 3000–2800 cm ⁻¹ e 1450–1370 cm ⁻¹ ; Grupos de oligômeros = amarelo: 1600–1500 cm ⁻¹	122
Figura 48. Número de onda (cm ⁻¹) versus Transmitância (%) dos pontos de degradação em meio PBS da condição PLGA_baixaT: A = Ponto0; B = Ponto1; C = Ponto2; D = Ponto3; E = Ponto4.....	123
Figura 49. Número de onda (cm ⁻¹) versus Transmitância (%) dos pontos de degradação em meio PBS da condição PLGA_altaT: A = Ponto0; B = Ponto1; C = Ponto2; D = Ponto3; E = Ponto4.	124
Figura 50. Reação química da degradação hidrolítica do PLGA em PBS e formação de oligômeros [45]. (Adaptado).....	125
Figura 51. Massas molares médias do copolímero das placas de PLGA_baixaT (a) e PLGA_altaT (b), com desvio padrão médio de 15%.	126
Figura 52. Massa molar média do PLGA_baixaT e PLGA_altaT durante o período da degradação.	127
Figura 53. As imagens de MEV das placas PLGA_baixaT e PLGA_altaT nos diferentes períodos de degradação (0, 15, 30, 60 e 120 dias) (escala bar = 1 mm)	129
Figura 54. Imagens mostrando o aspecto visual da degradação das placas de PLGA_baixaT (a) e PLGA_altaT (b) nos diferentes pontos de degradação: 0, 15, 30, 60 e 120 dias da esquerda para direita.	130
Figura 55. Resistência à flexão das placas ao longo da degradação hidrolítica das condições PLGA_baixaT e PLGA_altaT.....	133

Figura 56. Representação esquemática (a) do implante tipo placa PLGA na fratura óssea e colonização celular in vivo e (b) da semeadura celular in vitro adotada como modelo para replicar a colonização de implante in vivo.	142
Figura 57. Viabilidade de células SAOS-2 cultivadas com meio de eluatos previamente mantido em contato com amostras de PLGA_baixaT e PLGA_altaT moldadas por injeção durante 1, 3, 7 e 14 dias; a viabilidade é expressa como porcentagem de viabilidade celular de células cultivadas com eluatos.	145
Figura 58. Testes de citocompatibilidade in vitro de células SAOS-2 cultivadas em placas PLGA moldadas por injeção: (a) atividade metabólica medida pelo ensaio Alamar Blue; (b) atividade de fosfatase alcalina normalizada no teor de proteína total (* p <0,05: 3dd vs. 7dd, 7dd vs. 14dd e 14dd vs. 21dd)	146
Figura 59. As imagens de MEV das placas PLGA_baixaT e PLGA_altaT cultivadas com células SAOS-2 durante 1, 3, 7, 14 e 21 dias (escala bar = 50 µm)	148
Figura 60. As imagens de MEV (escala bar = 10 µm) e o mapeamento químico EDX de carbono (C, azul), cálcio (Ca, vermelho) e fósforo (P, verde) das placas PLGA_baixaT e PLGA_altaT moldadas por injeção semeadas com células SAOS-2 após 7 dias de cultura e placas de controle (isto é, sem células)	149
Figura 61. Análise estatística da atividade de ALP: (a) crescimento e (b) taxa de crescimento da viabilidade celular.	151
Figura 62. Imagens do MEV mostrando o centro das placas do PLGA_baixaT moldado por injeção e do PLGA_altaT semeadas com células SAOS-2 após 7, 14 e 21 dias (escala bar = 5 mm).	152

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Biomateriais nos sistemas do corpo. Fonte: Hench e Erthridge (1982) [2].	21
Tabela 2. Material de uso no corpo humano. Fonte: Hench e Erthridge (1982) [2].	22
Tabela 3. Características de polímeros biodegradáveis. Fonte: Nathan et al. (1994) [10]; Pietrzak et al. (1997) [11].	25
Tabela 4. Fabricantes e marcas de dispositivos craniofaciais.	44
Tabela 5. Parâmetros da moldagem por injeção [73-76].	50
Tabela 6. Planejamento fatorial da moldagem por injeção do PLGA.	73
Tabela 7. Planejamento de experimento fatorial completo para o estudo do material PLGA 85:15.	73
Tabela 8. Condições do delineamento fatorial com dois fatores e dois níveis dos parâmetros da moldagem por injeção.	74
Tabela 9. Propriedades mecânicas das amostras PLGA entalhadas e não entalhadas injetadas sob diferentes condições de moldagem: módulo elástico aparente E; resistência σ_u ; deformação na ruptura ϵ_r . (*p < 0.05).	79
Tabela 10. Efeito das variáveis temperatura (T), vazão de injeção (Q) e presença do entalhe (N) em relação ao módulo elástico aparente (E).	80
Tabela 11. Valores de entalpia de relaxamento para os espectros PLGA determinados por DSC.	87
Tabela 12. Ciclos de pós cura para molde de resina.	95
Tabela 13. Fresas de dois cortes helicoidais de uso geral.	96
Tabela 14. Parâmetros de corte para resina.	97
Tabela 15. Parâmetros de corte para alumínio.	97
Tabela 16. Parâmetros de moldagem por injeção usados para a produção das placas de PLGA. Todos os parâmetros foram mantidos constantes, variando a temperatura de injeção de fusão (240 ° C para PLGA_baixaT e 280 ° C para PLGA_altaT).	107
Tabela 17. Pontos de avaliação da degradação.	108
Tabela 18. Propriedades mecânicas das placas PLGA 85/15 moldadas por injeção (média \pm desvio padrão, n = 3): rigidez de flexão E, resistência à flexão σ_r e deformação máxima de flexão ϵ_r (* p < 0,05).	112
Tabela 19. Grau de cristalinidade (X_c), tensão residual (ΔH_g) e propriedades térmicas medida por DSC: temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e entalpia de fusão (ΔH_m) (* p > 0.05).	116
Tabela 20. Bandas de absorção identificadas no ensaio FT-IR características dos grupos funcionais presentes no copolímero PLGA.	121
Tabela 21. Parâmetros de moldagem por injeção usados para a produção das placas de PLGA. Todos os parâmetros foram mantidos constantes, variando a temperatura de injeção de fusão (240 ° C para PLGA_baixaT e 280 ° C para PLGA_altaT).	140

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALP – Atividade de fosfatase alcalina
 ANOVA – Análise de Variância
 ASTM – American Society for Testing and Materials
 CAD – Computer-aided design
 CAGR – Compound annual growth rate
 DMA – Análise dinâmico-mecânica
 DSC – calorímetro diferencial de varredura
 E – Módulo de Flexão
 E' – Módulo de carregamento
 E'' – Módulo de perda
 EDS – Sistema de energia dispersiva
 EDX – Energia Dispersiva de Raio-X
 FDA – Food and Drug Administration
 FTIR- Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
 ISO – International Organization for Standardization
 MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
 M_n – Massa molar numérica média
 M_p – Massa molar viscosimétrica média
 M_w – Massa molar ponderal média
 M_z – Massa molar Z média
 PBS – Tampão fosfato-salino
 PDLA – poli (D-ácido láctico)
 PDLLA – poli (D, L – ácido láctico)
 PGA – poli (ácido glicólico)
 PLA – poli (ácido láctico)
 PLGA – poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico)
 PLGA_altaT – placas craniofaciais em PLGA injetadas a 280 ° C
 PLGA_baixaT – placas craniofaciais em PLGA injetadas a 240 ° C
 PLLA – poli (L-ácido láctico)
 SAOS-2 – Célula de sarcoma osteogênica
 Tan δ – Fator de perda
 T_g – Temperatura de transição vítrea
 T_m – Temperatura de fusão
 X_c – Grau de cristalinidade
 ΔH_c – Entalpia de cristalização
 ΔH_m – Entalpia de fusão
 ΔH_g – Entalpia de transição vítrea
 ΔH_m – Entalpia de fusão da amostra
 ΔH_{m0} – Entalpia de fusão do polímero totalmente cristalino
 ΔH_{mp} – Entalpia de fusão da substância pura
 ΔH_{ms} – Entalpia de fusão da substancia

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	III-6
RESUMO	III-7
ABSTRACT.....	III-8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	14
1.INTRODUÇÃO	19
1.1. Objetivo Geral.....	20
1.2. Objetivos específicos	20
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	21
2.1. Biomateriais na medicina e odontologia	21
2.2. Biomateriais poliméricos bioreabsorvíveis	24
2.2.1. Biodegradação, bioabsorção e bioreabsorção	25
2.2.2. Poli (ácido láctico-co- glicólico), PLGA.....	28
2.3. Traumatologia craniofacial	31
2.3.1. Tipos de fraturas e dispositivos relacionados.....	32
2.3.2. Anatomia da face e solicitações mecânicas de fraturas	36
2.4. Resultado clínico.....	37
2.5. Dispositivo bioreabsorvíveis para tecido ósseo.....	43
2.6. Moldagem por injeção de polímeros bioreabsorvíveis.....	45
2.6.1. Sistemas de injeção	49
2.6.2. Parâmetros da moldagem por injeção	50
2.7. Parâmetros e propriedades do material bioreabsorvível que influenciam na degradação	54
2.7.1. Localização do Implante	54
2.7.2. Composição Química.....	54
2.7.3. Peso Molecular	55
2.7.4. Cristalinidade	56
2.7.5. Porosidade e geometria do implante	56
2.8. Reabsorção do implante polimérico	57
2.9. Degradação in vitro.....	58
2.10. Degradação in vitro versus in vivo.....	61
2.11. REFERÊNCIAS.....	61
I.CAPÍTULO: INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE PROCESSO NO COMPORTAMENTO MECÂNICO E MORFOLOGIA DO PLGA MOLDADO POR INJEÇÃO	70
I.1. OBJETIVO	70
I.2. INTRODUÇÃO	70
I.3. MÉTODOS	71

I.3.1.	Material	71
I.3.2.	Fabricação dos corpos de provas	71
I.3.2.1.	Planejamento fatorial da moldagem por injeção	73
I.3.3.	Caracterização mecânica	74
I.3.3.1.	Testes de tração	74
I.3.3.2.	Análise dinâmico-mecânica (DMA)	75
I.3.4.	Microscopia eletrônica de varredura	75
I.3.5.	Análise em calorímetro diferencial de varredura	75
I.3.6.	Tensão residual por fotoelasticidade	76
I.3.7.	Tratamento estatístico dos dados	77
I.4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
I.4.1.	Ensaio de tração e fractografia	77
I.4.2.	Análise viscoelástica	83
I.4.3.	Tensão residual por fotoelasticidade	85
I.4.4.	Calorimetria exploratória diferencial	85
I.5.	CONCLUSÃO	87
I.6.	REFERÊNCIAS	88
II.CAPÍTULO: MOLDE PARA A FABRICAÇÃO DO IMPLANTE POLIMÉRICO CRANIOFACIAL POR MOLDAGEM POR INJEÇÃO		91
II.1.	OBJETIVO	91
II.2.	INTRODUÇÃO	91
II.3.	MATERIAIS E MÉTODOS	93
II.3.1.	Projeto das placas craniofaciais	93
II.3.2.	Projeto do molde e canais de injeção	94
II.3.2.1.	Molde protótipo em composto	94
II.3.3.	Usinagem do molde	96
II.4.	RESULTADOS	97
II.4.1.	Usinagem do perfil dos modelos	97
II.5.	CONCLUSÃO	102
II.6.	REFERÊNCIAS	102
III.CAPÍTULO: PROPRIEDADES E MECANISMOS DE DEGRADAÇÃO DE UMA PLACA CRANIOFACIAL DE PLGA MOLDADA NOS LIMITES DE TEMPERATURAS DE INJEÇÃO ...		104

III.1.	OBJETIVO	104
III.2.	INTRODUÇÃO	104
III.3.	MÉTODOS	106
III.3.1.	Material	106
III.3.2.	Fabricação das placas craniofaciais	106
III.3.3.	Degradação hidrolítica in vitro das placas	107
III.3.4.	Caracterização mecânica.....	108
III.3.5.	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	109
III.3.6.	Tensão residual	110
III.3.7.	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier	110
III.3.8.	Cromatografia de permeação em gel (GPC)	110
III.3.9.	Microscopia eletrônica de varredura.....	111
III.3.10.	Análise estatística dos dados.....	111
III.4.	RESULTADOS	111
III.4.1.	Caracterização Mecânica	111
III.4.2.	Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	116
III.4.3.	Tensão residual	120
III.4.4.	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier	121
III.4.5.	Cromatografia de permeação em gel	125
III.4.6.	Microscopia eletrônica de varredura.....	127
III.5.	DISCUSSÃO	131
III.6.	CONCLUSÃO	134
III.7.	REFERÊNCIAS.....	134
IV.CAPÍTULO: RESPOSTA CELULAR IN VITRO EM PLACAS CRANIOFACIAIS DE PLGA		139
IV.1.	OBJETIVO	139
IV.2.	INTRODUÇÃO	139
IV.3.	MÉTODOS	140
IV.3.1.	Material.....	140
IV.3.2.	Concepção das placas craniofaciais	140
IV.3.3.	Resposta da interação celular in vitro	141
IV.3.3.1.	Teste de citotoxicidade	141
IV.3.4.	Compatibilidade in vitro	142
IV.3.5.	Análises de MEV/EDX.....	143

IV.3.6.	Atividade de fosfatase alcalina	143
IV.3.7.	Tratamento estatístico dos dados	144
IV.4.	RESULTADOS	144
IV.4.1.	Teste de citotoxicidade	144
IV.4.2.	Viabilidade das células	145
IV.4.3.	Análise de MEV/EDX	147
IV.4.4.	Atividade de ALP	150
IV.5.	DISCUSSÃO	151
IV.6.	CONCLUSÃO	153
IV.7.	REFERENCIAS	153
3.	CONCLUSÃO GERAL E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	155
3.1.	Proposta de trabalhos Futuros	156
4.	ANEXO 1 – Capítulo I.....	157

1. INTRODUÇÃO

Na traumatologia craniofacial, a cirurgia de fixação para correção de fraturas ou assimetrias na estrutura óssea consiste no implante de placas e parafusos visando a osteossíntese e o restabelecimento da funcionalidade biomecânica da estrutura. Tradicionalmente, implantes metálicos são utilizados para esse fim, porém, podem sofrer corrosão ou necessidade de uma segunda intervenção cirúrgica para sua retirada devido a efeitos de corrosão ou *stress shielding*. Recentemente, o uso de implantes fabricados com polímeros bioreabsorvíveis tem sido proposto.

Estes implantes possuem a característica de resistirem aos esforços durante a consolidação óssea e serem gradualmente absorvidos, transferindo o carregamento integralmente para a estrutura óssea. O copolímero poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), produzido pela síntese de hidróxiácidos, apresenta características degradáveis e biocompatíveis e, portanto, pode ser aplicado na fabricação de implantes para cirurgia craniofacial. Nestas aplicações, a definição da geometria do implante depende da anatomia do local de aplicação e da patologia a ser tratada. A resistência mecânica do implante e suas propriedades físico-químicas é uma função da geometria, estrutura e propriedades do material obtido no processo de manufatura utilizado.

O Brasil se encontra em uma posição inicial de fabricação de dispositivos bioreabsorvíveis, como placas e parafusos. Em maioria, esses produtos e sua tecnologia de fabricação são importados, tornando o produto mais caro e menos acessível. As estimativas do tamanho global do mercado de dispositivos craniofaciais foram de USD 1,14 bilhões em 2015, com expectativa de crescimento da indústria de 6,8% (CAGR). Para o material reabsorvível, incluindo PLGA, é estimado um crescimento de USD 280 milhões em 2015 a 7,5% (CAGR), de acordo com Global Market Insights.

A fabricação por moldagem por injeção permite a obtenção de diferentes estruturas e propriedades do dispositivo a ser fabricado através do controle de parâmetros tais como temperatura e a velocidade de injeção, respeitando as temperaturas de transição do polímero a ser moldado. Busca-se, assim, a uniformidade das propriedades desejadas ao longo da estrutura do dispositivo, bem como modular a taxa de retenção das propriedades mecânicas do implante bioreabsorvível. Nesse contexto, o objetivo do trabalho está associado a investigar a estrutura e as propriedades do PLGA em relação aos parâmetros de processamento por moldagem por injeção, bem como suas características de degradação e biocompatibilidade, a fim de obter um implante tipo placa para cirurgias ortognáticas na especialidade craniofacial.

1.1. Objetivo Geral

O objetivo geral deste projeto é investigar a influência dos parâmetros de processamento da moldagem por injeção em relação às propriedades do copolímero bioreabsorvível poli (ácido láctico-co-ácido glicólico), PLGA, para o estudo biomecânico da degradação *in vitro* de placas craniofaciais.

1.2. Objetivos específicos

(a) Fabricar corpos de prova pela moldagem por injeção em PLGA e relacionar os parâmetros de processamento com propriedades mecânicas e físico-químicas em duas geometrias de corpos de prova.

(b) Definir os parâmetros de processo de moldagem por injeção de uma placa para sistema implantável e fabricar o molde das placas moldadas por injeção.

(c) Avaliar as propriedades das placas de PLGA moldadas por injeção por meio de ensaios biomecânicos e físico-químicos ao longo da degradação do material, verificando mecanismos de hidrólise *in vitro*.

(d) Avaliar qualitativa e quantitativamente as interações das placas craniofaciais com culturas celulares por meio de testes de biocompatibilidade *in vitro* e citotoxicidade.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Biomateriais na medicina e odontologia

O conhecimento sobre a utilização dos dispositivos em medicina e odontologia envolve conceitos integrados da engenharia, biologia, psicologia e análises clínicas, que depende de indivíduos de uma ampla variedade de especialidades. Na ciência e engenharia, a ciências dos materiais estuda a relação estrutura-propriedade de materiais sintéticos e biológicos, incluindo metais, materiais cerâmicos, polímeros, materiais compósitos, tecidos (sangue e tecidos conjuntivos), dentre outros. Na biologia e fisiologia, tem-se o estudo da biologia celular e molecular, anatomia, animal e fisiologia humana, a histopatologia, a cirurgia experimental e imunologia. Na ciência clínica, os biomateriais entram em todas as especialidades clínicas: odontologia, craniofacial, neurocirurgia, obstetrícia e ginecologia, oftalmologia, ortopedia, otorrinolaringologia, cirurgia plástica e reconstrutiva, cirurgia torácica e cardiovascular, medicina veterinária, e cirurgia, etc [1].

Tabela 1. Biomateriais nos sistemas do corpo. Fonte: Hench e Erthridge (1982) [2].

Sistema	Exemplos
Esquelético	Placa de osso, prótese
Muscular	Suturas, estimulador muscular
Circulatório	Válvulas cardíacas artificiais, vasos sanguíneos
Respiratório	Máquinas de oxigenação
Tegumentar	Suturas, curativos de queimaduras, pele artificial
Urinário	Cateteres, <i>stent</i> , máquina de diálise renal
Nervoso	Marcapasso cardíaco, estimulador de nervo, haste intramedular, lentes de contato
Endócrino	Células das ilhotas pancreáticas micro encapsulados
Reprodutivo	Mamoplastia de aumento, outras substituições de cosméticos

Um biomaterial é usado para fabricar dispositivos que tem como finalidade substituir uma parte de um sistema ou uma função das estruturas do corpo humano de uma forma fisiologicamente aceitável. Esse material tem propriedades inertes para implantação no interior do corpo e interage biologicamente no sistema implantado quando em contato com o tecido vivo. Uma variedade de dispositivos e materiais são

utilizados para as diferentes funções e regiões do corpo no tratamento de doenças, lesões e assimetrias (Tabela 1). Dentre esses materiais, encontram-se placas e parafusos para fixação rígida, suturas, obturações dentárias e próteses [2].

Tabela 2. Material de uso no corpo humano. Fonte: Hench e Erthridge (1982) [2].

Materiais	Características	Exemplos
<i>Polímeros</i> (láticos, nylon, silicone, borracha, poliésteres, polifluoretano, etc)	Resiliente, fácil fabricação, fragilidade, deformação com o tempo, degradação.	Suturas, vasos sanguíneos, encaixe do quadril, ouvido, nariz
<i>Metais</i> (Ti e suas ligas, ligas de Co-Cr, aços inoxidáveis, Au, Ag, Pt, etc.)	Resistente, dúctil, corrosivo, denso	Estrutura dentária, cabeça femoral de substituição de quadril, implantes de revestimento dentário e ortopédicos
<i>Cerâmicos</i> (óxido de alumínio, fosfato de cálcio incluindo hidroxiapatita e carbono)	Difícil fabricação, biocompatível, inerte, compressível, não resiliente, frágil	Substituição da cabeça femoral de quadril, revestimento dentário e implantes ortopédicos
<i>Compósitos</i> (carbono-carbono, fio ou fibra reforçada com cimento ósseo)	Forte, difícil fabricação, feito sob medida	Implantes articulares, válvulas cardíacas

Em contrapartida, implantes permanentes em tecidos do corpo humano reagem de maneira crônica a um corpo estranho. Essa reação é caracterizada pela formação de uma camada de má vascularização, análoga a uma cicatriz, na interface do material com o tecido. A reação do corpo externo é tipicamente benigna para dispositivos ancoras no tecido receptor, mas suficiente para complicações clínicas, tais como infecção e contração tecidual, que podem ser consideradas um risco em várias aplicações. As aplicações de dispositivos que auxiliem a

recuperação de uma disfunção no corpo humano podem ser fabricadas por diversas matérias-primas, mas a biocompatibilidade fica, muitas vezes, comprometida. Sendo assim, algumas das características e exemplos de aplicações que envolvem materiais dos diversos tipos (Tabela 2) estão sendo parcialmente substituídos por materiais mais compatíveis com as condições corpóreas.

A utilização de biomateriais incluem a substituição de uma parte do corpo que perdeu função devido à doença ou trauma para auxiliar na cura, melhorar a função e corrigir anomalias. Para selecionar um polímero para uso como biomaterial deve-se relacionar suas propriedades mecânicas e o tempo de degradação para suas necessidades da aplicação. O polímero ideal para tal aplicação deve conter alguns critérios tais como não ter uma resposta inflamatória ou tóxica desproporcional ao seu efeito benéficos, ser metabolizado no organismo após o cumprimento de sua finalidade sem deixar vestígios, ser facilmente processado para a forma do produto final, ter vida útil aceitável e ser facilmente esterilizado [3].

A aplicação de placas e parafusos bioreabsorvíveis em cirurgias craniofaciais foi, inicialmente, descrita na década de 60. O ácido poliglicólico (Dexon), o copolímero formado pelo ácido poliglicólico/polilático (Vicryl), a poli-pdioxanona (PDS) e o ácido polilático (PLA) foram os principais componentes utilizados para a confecção desses sistemas, sendo totalmente reabsorvidos e substituídos por um novo tecido ósseo na região implantada [4].

O poli (ácido glicólico), PGA é o mais simples de poliéster alifático linear. O PGA foi utilizado para desenvolver o primeiro fio de sutura absorvível totalmente sintético foi comercializado como DEXON® desde a década de 1960 por Davis e Geck [5].

Na década de 70, o desenvolvimento histórico do ácido poliglicólico (PGA), do ácido poli lático (PLA) e seus copolímeros para uso em cirurgia começou a ser definido. Os detalhes da síntese de polímeros de PGA e PLA a partir de os seus diésteres cíclicos foram descritos, bem como uma série de copolímeros de glicólico / lático, originalmente usados como fios de sutura Dexon®, Vicryl®, Maxon®, PDS® [6]

Na década de 1990, o sistema de osteossíntese bioreabsorvível foi o primeiro sistema de fixação bioreabsorvível craniofacial a obter licença de comercialização do FDA (Food and Drug Administration – EUA), para emprego em cirurgias de fraturas em terço médio da face e reconstrutivas do esqueleto craniofacial, em especial para pacientes em fase de crescimento e àqueles que serão submetidos à radioterapia. Na década seguinte, tem-se encontrado no mercado polímeros bioreabsorvíveis

reforçados (copolímeros dos polímeros anteriormente usados), os quais são hoje uma nova alternativa de uso nas cirurgias craniofacial-faciais [7, 8].

2.2. Biomateriais poliméricos bioreabsorvíveis

Materiais poliméricos derivados dos poli (hidróxi-ácidos) são utilizados na engenharia biomédica como matéria-prima na fabricação de dispositivos para implantes de fixação rígida devido sua biocompatibilidade com as funções do sistema humano. Estes polímeros são considerados bioreabsorvíveis pelo fato dos produtos de sua decomposição serem eliminados do corpo por vias metabólicas. As características presentes nesses materiais permitem que o implante permaneça no organismo para cumprir suas funções mecânicas de fixação no período de tempo necessário para a recuperação do trauma envolvido, sendo absorvido pelo corpo após esse período, sem a necessidade de uma segunda intervenção cirúrgica para sua retirada. Implantes metálicos, por sua vez, podem sofrer corrosão ou precisar da segunda intervenção cirúrgica. Materiais poliméricos podem ser obtidos através da síntese de diversas fontes renováveis, como os hidróxi-ácidos, sendo que a matriz de materiais poliméricos baseada no petróleo, bem como a extração de metais na mineração (fontes não-renováveis), não terá uma longa auto sustentabilidade devido aos sérios problemas ambientais, ao alto custo e também ao esgotamento das reservas [3, 9].

Os poli (hidróxi-ácidos) pertencem a uma classe de poliésteres alifáticos sintéticos. Os exemplos desses poliésteres são poli (ácido glicólico) (PGA), poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), poli (α -caprolactona) (PCL), seus copolímeros e outros. Polímeros biodegradáveis respondem em tempos diferentes de degradação, como demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3. Características de polímeros biodegradáveis. Fonte: Nathan *et al.* (1994) [10]; Pietrzak *et al.* (1997) [11].

Polímero	T _m (°C)	T _g (°C)	Módulo ^a (GPa)	Alongamento (%)	Tempo de degradação ^b (meses)
PGA	225-230	35 – 40	7,0	15 – 20	6 a 12
PLLA	173-178	60 – 65	2,7	– 10	> 24
PDLLA	Amorfo	55 – 60	1,9	3 – 10	12 a 16
PCL	58-63	-65 – - 60	0,4	300 – 500	> 24
PDO	N/A	-10 – 0	1,5	N/A	6 a 12
PGA-TMC	N/A	N/A	2,4	N/A	6 a 12
PDLGA	Amorfo	50 – 55	2,0	3 – 10	5 a 6
85/15					
PDLGA	Amorfo	50 – 55	2,0	3 – 10	4 a 5
75/25					
PDLGA	Amorfo	45 – 50	2,0	3 – 10	3 a 4
65/35					
PDLGA	Amorfo	45 – 50	2,0	3 – 10	1 a 2
50/50					
Osso			10 – 20		
Aço			210		

^a Módulo de flexão ou tração

^b Tempo de completar a reabsorção

Um polímero é geralmente nomeado com base no monômero que é sintetizado. Por exemplo, o etileno é utilizado para a produção de poli (etileno). Para tanto o ácido glicólico e ácido láctico, um dímero cíclico intermediário é preparado e purificado, antes da polimerização. Estes dímeros são chamados de glicólico e láctico, respectivamente. O poli (ácido láctico) existe em duas formas estereo isômeros, significadas por um D ou L para dextrogiros e levogiros, ou por DL para a mistura racêmica [3 e 12].

2.2.1. Biodegradação, bioabsorção e bioreabsorção

No ambiente (solo, compostagem, depósitos de resíduos urbanos, etc.) polímeros são geralmente degradados por microrganismos. Os testes de biodegradabilidade para polímeros fazem uso de tais ambientes (teste de compostagem controlada, teste enterro do solo) para poderem ser padronizados apropriadamente. No entanto, estes testes não dão qualquer conhecimento sobre as propriedades mecânicas do material e os passos individuais de degradação de polímeros sintéticos por

microrganismos. Como pressuposto básico, prevê-se que a degradação de polímeros sintéticos, tais como poliésteres e poliamidas segue um esquema semelhante ao de polímeros naturais. A presença de polímeros induz ou aumenta a produção microbiana de enzimas que são excretados para o meio ambiente e que são capazes de clivar limites específicos da cadeia de polímero que está disponível para o sistema enzimático na superfície do material polimérico. Assim, a camada de polímero sólido é destruída pela camada superior (erosão de superfície). Enzimas hidrolítica são secretadas por microrganismos que cortam ligações de éster localizadas na superfície sólida. Os produtos de clivagem (monómeros, dímeros, etc.) são dissolvidos e metabolizado no interior de células dos microrganismos. Numa situação ideal, o polímero é completamente decomposto e finalmente convertido em biomassa, CO_2 e H_2O .

Entre os vários fenômenos biológicos, químicos e físicos envolvidos na degradação microbiana de polímeros, a reação catalítica na superfície sólida do material geralmente hidrofóbico é assumida para desempenhar um papel importante no processo global. Fatores tais como o ambiente químico das ligações clivadas, a rigidez da cadeia do polímero, a massa molar do polímero, a adsorção de superfície e a ativação da enzima, a remoção e a dissolução dos produtos de fissão a partir da superfície, etc. são abordados para controlar o processo de degradação. [13,14].

Polímeros biodegradáveis sofrem quebra das cadeias poliméricas formando oligômeros solúveis ou monômeros. A degradação procede por processo biologicamente ativo pela presença de enzimas ou por clivagem hidrolítica passiva. O termo *biodegradável* normalmente se refere a materiais em que os processos biológicos ativos estão envolvidos. Polímeros *bioreabsorvíveis* se dissolvem gradualmente e são eliminados através dos rins ou outros meios. Uma grande variedade de ambos os polímeros sólidos e do tipo de hidrogel têm sido desenvolvidos e são aplicados tanto na área de fármacos quanto na engenharia de tecidos. Um exemplo de dispositivos a serem fabricados com polímeros bioreabsorvíveis são as placas e parafusos aplicados na engenharia de tecido ósseo, onde ocorre a transferência de carga para o osso em recuperação (Figura 1).

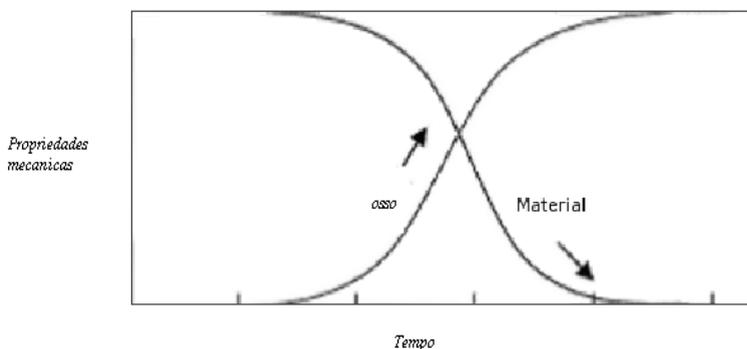


Figura 1: Ilustração do comportamento típico do material bioreabsorvível: diminuição de propriedade mecânica e transferência de carga para o osso em recuperação [13].

Na medicina e biologia, o termo biodegradável tem definições distintas. No sistema do corpo humano, o material polimérico tem diferentes respostas ao ser implantados e, por isso, diferem-se entre biodegradáveis, bioabsorvíveis e bioreabsorvíveis. Como descrito por Vert *et al.* [14], citado em Barbanti *et al.* [2], “*biodegradável* é um termo utilizado para polímeros e dispositivos sólidos que devido à degradação macromolecular sofrem dispersão *in vivo*, mas sem a eliminação dos produtos e subprodutos pelo organismo. Polímeros biodegradáveis podem ser atacados por elementos biológicos de forma que a integridade do sistema seja afetada, formando-se fragmentos ou outros subprodutos de degradação, que podem ser removidos do seu local de ação, mas não necessariamente do organismo. *Bioreabsorvíveis* são materiais poliméricos e dispositivos sólidos que mostram degradação através da diminuição de tamanho e que são reabsorvidos *in vivo*; i.e., materiais que são eliminados por rotas metabólicas do organismo. Bioreabsorção é um conceito que reflete a eliminação total do material e dos subprodutos de degradação (compostos de baixa massa molar) sem efeitos colaterais residuais. O uso da palavra “bioreabsorção” é utilizado quando a eliminação é total. *Bioabsorvíveis* são materiais poliméricos e dispositivos que podem se dissolver em fluidos corpóreos sem qualquer clivagem da cadeia macromolecular ou diminuição de massa molecular (Figura 2). Por exemplo, este é o caso da lenta dissolução de implantes solúveis em fluidos orgânicos. Um polímero bioabsorvível pode ser bioreabsorvível se suas macromoléculas são excretadas” [2, 14].

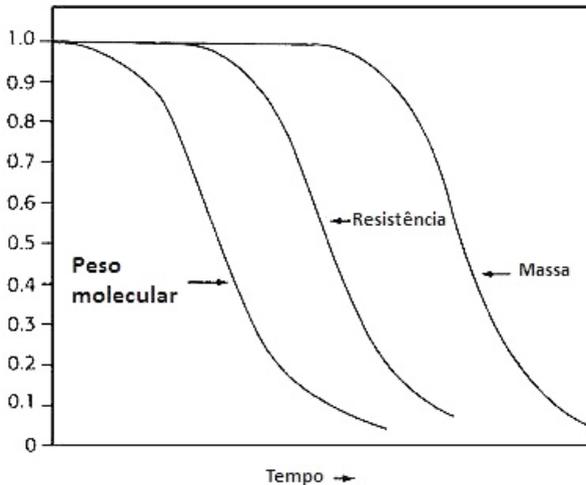


Figura 2. Curva genérica de perda de peso molecular, de resistência mecânica e de massa de dispositivos bioreabsorvíveis implantados [3].

Polímeros bioreabsorvíveis podem ser definidos como materiais ou dispositivos que, uma vez implantados no corpo, apresentam a característica de degradarem com o passar do tempo, em produtos atóxicos que são, por sua vez, eliminados do organismo via rotas naturais e, idealmente, não deixam traços de sua presença após terem sua absorção completa [15].

2.2.2. Poli (ácido lático-co- glicólico), PLGA

O tempo de degradação do homopolímero que apresenta L-ácido lático, tal como o PLLA, é muito mais lenta do que do polímero PDLLA, que apresenta D-L-ácido lático, requerendo mais que 2 anos para ser completamente absorvida. Assim, copolímeros de L-ácido lático com glicólico ou com dl-ácido lático são preparados para interromper a cristalinidade do L-ácido lático e acelerar o processo de degradação [16].

O poli (ácido lático), PLA, é um dímero cíclico de ácido lático, que existe como dois isômeros ópticos, D e L (Figura 3). O isômero L-ácido lático é de ocorrência natural e o D-L-ácido lático é a mistura sintética de D e L-ácido lático. O homopolímero de L-lático (LPLA) é um polímero semicristalino, já o poli (D, L- ácido lático), PDLLA, é um

polímero amorfo que possui uma distribuição aleatória de ambas as formas isoméricas de ácido láctico e, conseqüentemente, é incapaz de providenciar uma estrutura cristalina organizada. Este material tem menor resistência à tração e alongamento maior, além de um tempo de degradação mais rápido, tornando-o mais atrativo em determinadas aplicações. Poli (l -ácido láctico) é de cerca de 37% cristalino com um ponto de fusão de 175-178 °C e uma temperatura de transição vítrea de 60-65 °C [3, 10 e 12].

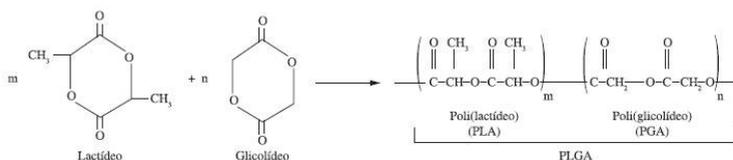


Figura 3. Reação de copolimerização do poli(ácido láctico-co-glicólico) [3, 94].

O poli (ácido glicólico), PGA, é um dos primeiros polímeros degradáveis já investigados para uso biomédico. Com um ponto de fusão (T_m) superior a 200 °C, uma temperatura de transição vítrea (T_g) de 35-40 °C e uma resistência à tração muito elevada (12,5 GPa) [16], o PGA foi utilizado como sutura degradável desde 1970, registrado por DEXON®.

O dímero glicólico é sintetizado a partir da dimerização de ácido glicólico. A polimerização por abertura do anel de glicólico permite a obtenção de materiais com elevado peso molecular, com cerca de 1-3% de monômero residual presente. O poli (ácido glicólico), PGA, é altamente cristalino (45-55%). Devido ao seu elevado grau de cristalização, não é solúvel na maioria dos solventes orgânicos, salvo os quais são altamente fluorados, tal como o hexafluoroisopropanol. As fibras de PGA exibem alta resistência e módulo e são demasiadamente rígidas para ser utilizadas como material de sutura, exceto como trançada. As suturas de PGA perde cerca de 50% de sua força depois de duas semanas e de 100% em quatro semanas e são completamente absorvidos em 4-6 meses. O glicólico é copolimerizado com outros monómeros para reduzir a rigidez das fibras resultantes. PGA e PLLA apresentam elevada resistência à tração e baixo alongamento e, conseqüentemente, tem um alto módulo, o qual os tornam mais aplicáveis do que os polímeros amorfos para suporte de carga, tais como na fixação ortopédica e suturas [3 e 12].

Devido à rápida degradação e insolubilidade do PGA em muitos solventes comuns, tem sido realizada uma investigação limitada com dispositivos de administração de fármacos baseados em PGA. Em vez disso, pesquisas mais recentes tem se concentrado em *scaffolds* de engenharia de tecidos de curto prazo e a utilização de PGA como um material acoplado com outros polímeros degradáveis. A degradação rápida leva à perda de resistência mecânica e à produção local significativa de ácido glicólico. Embora o ácido glicólico seja bioreabsorvível pelas células através do ciclo do ácido cítrico [17], o alto nível de ácido glicólico tem sido associado a uma resposta inflamatória indesejável [18 e 19].

A copolimerização aleatória de PLA (formas L- e D, L-lactida) e PGA, conhecida como poli (lactide-co-glicólido) (PLGA), é o polímero degradável mais investigado para aplicações biomédicas e tem sido utilizado em suturas, fármacos, e *scaffolds* de engenharia de tecidos. Uma vantagem particular é que, uma vez que PLA e PGA têm propriedades significativamente diferentes, a escolha cuidadosa da composição de copolímero permite a otimização do PLGA para as aplicações pretendidas. A modulação da propriedade é ainda mais significativa para os copolímeros de PLGA, uma vez que com uma composição de 25-75% de ácido láctico o PLGA forma polímeros amorfos que são muito hidroliticamente instáveis em comparação com os homopolímeros de outras composições [20, 21]. Isto é evidente nos tempos de degradação de PLGA 50:50, 75:25 PLGA e 85:15 PLGA sendo 1-2 meses, 4-5 meses e 5-6 meses, respectivamente [10, 22]

O PLGA demonstra grandes propriedades de adesão e proliferação celular tornando-se um excelente candidato para aplicação na engenharia de tecidos. O PLGA foi fabricado em *scaffolds* por várias técnicas diferentes, incluindo a formação de espuma por gaseificação [23, 24], microesferas de sinterização [25, 26] electrospinning [27, 28] e polimerização [29, 30]. A impressão de polímeros, em particular, é uma nova técnica que é muito promissora na concepção de *scaffolds* de engenharia de tecidos. A capacidade de utilizar esta tecnologia com outros polímeros degradáveis é promissora ao permitir o design de estruturas semelhantes a órgãos que até agora têm sido complicadas replicar. *Scaffolds* de PLGA têm sido utilizados na engenharia de tecido ósseo [25, 31-33], cartilagem [34-36] e tecido nervoso [37, 38].

2.3. Traumatologia craniofacial

A cirurgia de fixação para correção de fraturas ou assimetrias na estrutura óssea consiste no implante de dispositivos, como placas e parafusos, para imobilizar a estrutura a ser corrigida. As placas têm a função de dar suporte e estabilidade à fratura, mantendo uma redução anatômica dos fragmentos, e os parafusos fixam a placa ao osso.

A traumatologia facial, que envolve a região do crânio, centro da face e maxilar, denominada craniofacial, é causada por fatores como acidentes, esportes, assimetrias ou estética. O trauma facial ocorre decorrente de inúmeros fatores, podendo comprometer os ossos faciais, provocando grandes assimetrias na face. As fraturas faciais ocorrem normalmente por traumas de baixo impacto. O trauma depende da região da face e sua intensidade para, então, avaliar a gravidade de fratura. A força necessária para provocar fraturas faciais é definida pela força da gravidade e cada região suporta diferentes intensidades (Figura 4).

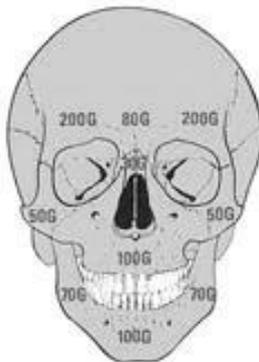


Figura 4. Força necessária para causar fratura no osso da face [37, 38].

Os traumas de alto impacto são classificados em traumas com força acima de 50 vezes a força da gravidade ($> 50G$) e os de baixo impacto são definidos quando são menores de 50 vezes a força da gravidade ($< 50G$). As áreas menos resistentes a traumas estão na região nasal (30G) e a região zigomática (50G). As mais resistentes, como o ângulo mandibular (70G), sínfise mandibular (100G) e margens supra orbitais (200G) [38].

Esse tecido possui um comportamento adaptativo aos esforços mecânicos aos quais o mesmo está sendo submetido: dentro de limites suportados pelo tecido, a solicitação mecânica age como estímulo para crescimento do mesmo. Assim, no caso de implantes muito mais rígidos

que o osso, o implante pode diminuir o nível de solitação mecânica do osso causando desmineralização e perda óssea local.

O crescimento do tecido, especialmente em paciente jovens e em aplicações craniofacial-faciais, não pode ser acompanhado pelo implante necessitando futuras intervenções cirúrgicas. Na ocorrência de problemas após a inserção dos implantes, pode ser necessária uma segunda intervenção (cirurgia de revisão). Os implantes metálicos retidos podem ser problemáticos no momento da revisão, pois a retirada deste componente pode danificar o tecido subjacente. Além disso, os materiais metálicos interferem em técnicas de avaliação pós-operatória por imagens, como a radiografia e a tomografia [39].

O desenvolvimento de implantes fabricados em polímeros bioreabsorvíveis permitiu a concepção de produtos que esses eliminam ou minimizam a ocorrência destes problemas. Esses dispositivos são degradados pelo organismo, transferindo gradativamente os esforços mecânicos aos tecidos adjacentes, desaparecendo por completo após um determinado período de implantação. No caso de uma cirurgia de revisão ser necessária, pelo fato serem substituídos por tecido ósseo, permite se que a revisão seja feita semelhantemente a um procedimento primário, com colocação de novos implantes [40]. Com rigidez muito mais próxima do tecido ósseo do que os materiais metálicos, a utilização de implantes poliméricos pode reduzir a ocorrência do fenômeno de *stress shielding*. Finalmente, os polímeros são menos opacos a radiografia e não-interferentes em tomografia e outras técnicas de análise por imagens.

2.3.1. Tipos de fraturas e dispositivos relacionados

O tratamento cirúrgico das fraturas necessita de um método de estabilização, neutralização e muitas vezes, compressão entre os fragmentos ósseos. Conforme a localização anatômica do osso fraturado e o tipo de fratura, aplicam-se os conceitos biomecânicos e os biológicos para a escolha do método e do sistema de osteossíntese a ser utilizado. Os primeiros estudos em osteossíntese foram elaborados no ano de 1949, utilizando placas rígidas modificando a maneira de provocar os apertos nos parafusos [41].

René Le Fort [42] descreve os traços de fraturas observados em cadáveres, submetidos a impactos desferidos de várias direções como a linha da fratura que tangencia a margem inferior da abertura piriforme e dirige-se horizontalmente, através da parede anterior do seio maxilar até a tuberosidade (bilateralmente), comprometendo o processo pterigóide do osso esfenóide e causando a fratura ou disjunção ptérigo-maxilar. A

Fratura tipo Le Fort II caracteriza-se por uma linha de fratura que se inicia na região dos ossos nasais, descendo pelo processo frontal do osso maxilar, e estendendo-se lateralmente através dos ossos lacrimais ao assoalho da órbita, rebordo infraorbitário e sutura zigomático-maxilar. A linha atinge então a parede lateral da maxila e estende-se até o processo pterigóide do osso esfenóide, no qual causa a fratura pterigo-maxilar [43].

Fratura tipo Le Fort III: (Disjunção craniofacial) caracteriza-se por uma linha de fratura que se estende desde a região da sutura fronto-nasal, passando pelas paredes mediais e dos assoalhos das órbitas, alcançando as suturas zigomático-frontal e zigomático-temporal. Há ainda a fratura tipo Lannelangue que foi descrita inicialmente no ano de 1879. Geralmente ocorre em associação à fratura transversa baixa. Caracteriza-se por uma disjunção ao nível da região mediana da maxila, entre os processos horizontais do osso palatino [44]. Algumas osteotomias de maxila com fixação de placas e parafusos de titânio (Figura 5) e bioreabsorvíveis (Figura 6).

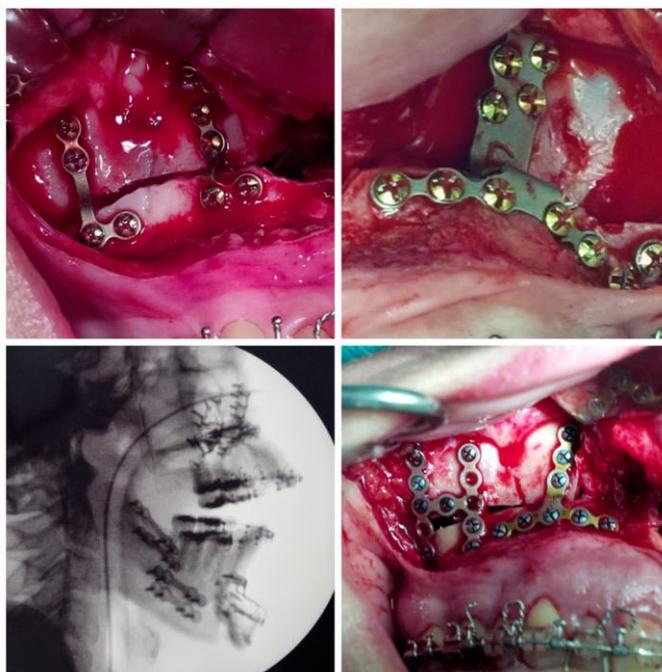


Figura 5. Várias osteotomias de maxila com fixação de placas e parafusos de titânio [43].

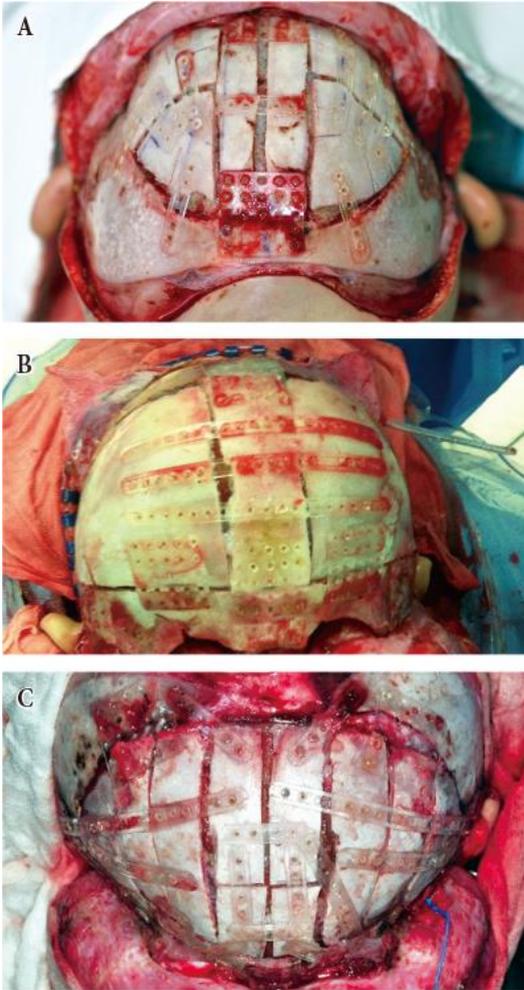


Figura 6. Fixação interóssea rígida com placa absorvível e parafuso, incluindo o tipo reto, tipo duplo Y, tipo quadrado 5×5 e placas retangulares de 5×10 [45].

As fraturas do osso zigomático (Figura 7) podem ser consideradas como a mais delicada fratura dos ossos faciais. Devido à anatomia da região, o osso zigomático articula-se com os ossos do crânio e face, preenchendo $2/3$ do assoalho da órbita.

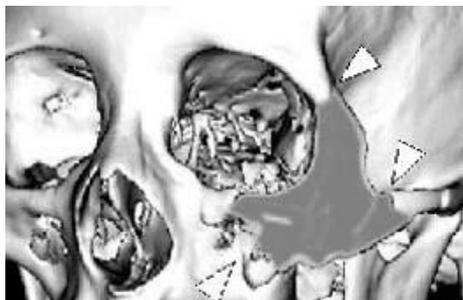


Figura 7. Osso do zigomático [43].

A fratura pode ocasionar achatamento facial e cada classificação de fraturas faciais precisa de um método conveniente, específico, descritivo e reprodutível de denotar padrões de fratura. Para isso, é necessário avaliar as características de graus de severidade das fraturas faciais críticas para a redução e reconstrução cirúrgica [46].

Fraturas orbitais podem causar uma má posição do globo ocular e pode causar restrição no movimento, prejudicando a função da visão. O maior diâmetro da órbita é encontrado aproximadamente a 1,5 cm da borda inferior da órbita, onde o teto da órbita tem uma concavidade de 5 mm e o assoalho tem uma profundidade de 3 mm em relação à borda orbitária. O assoalho apresenta convexidade posterior e látero posteriormente se separa da grande asa do esfenóide pela fissura orbitária inferior. O forame do nervo óptico se localiza posteriormente no plano da parede orbitária medial, medialmente e superiormente ao ápice verdadeiro da órbita [47].

A reconstrução das paredes orbitárias com dispositivo de fixação somente pode ser realizada após a reconstrução do zigoma e dos sistemas de suporte vertical e horizontal; isso inclui a reconstrução anatômica da barra frontal até as extremidades onde o complexo orbito zigomático está fixado. As fraturas do teto da órbita são então reparadas, tendo-se em mente que se deve reposicionar o fragmento ósseo do teto ou enxerto acima do local original, pois a convexidade superior é difícil de ser reproduzida e um teto reconstruído que parece estar em nível correto, está frequentemente abaixo do ideal, levando a deslocamento inferior do globo. A parede lateral da órbita deve ser corretamente posicionada em relação à órbita e asa do esfenóide. Raramente é necessário utilizar-se de enxerto para corrigir um defeito na parede lateral que cause herniação de tecidos moles para as fossas temporal e infra temporal, entretanto, se um trauma de alto impacto produzir cominação e deslocamento da parede

lateral, um enxerto de crânio é a escolha ideal, pois nestas cirurgias deve-se utilizar uma via lateral que exponha as possíveis lesões ósseas retrobulbares. Um segmento de osso chato plano pode reproduzir o contorno da parede lateral da órbita, sendo fixado ao osso frontal ou zigoma com fios finos de aço [48].

As fraturas da pirâmide nasal são muito frequentes, e aproximadamente 39% das fraturas craniofacial-faciais são nasais. O trauma nasal é o terceiro em incidência, atrás do trauma de clavícula e de pulso. A pirâmide óssea nasal fratura mais frequentemente em zonas fracas estruturais do osso. Para os autores, 80% das fraturas ocorrem nas regiões de junção maxilar - osso próprio nasal e ramo ascendente do osso maxilar. Os ossos nasais são espessos e rígidos em sua junção com o frontal e mais delgados na sua porção inferior, na articulação com as cartilagens laterais superiores. Assim, a maioria das fraturas ocorre na porção inferior dos ossos nasais. O septo nasal ósseo é frequentemente fraturado na junção condro-óssea que delimita a porção cartilaginosa móvel anterior com a porção óssea e fixa [49].

2.3.2. Anatomia da face e solicitações mecânicas

A arquitetura dos ossos faciais está adaptada às exigências mecânicas de tração e pressão. Regiões mais sujeitas a forças mecânicas respondem produzindo uma cortical mais espessa. A força mastigatória é a que mais induz força no esqueleto facial. Sendo assim, a face possui em sua arquitetura zonas de resistência horizontais (pilares horizontais) e verticais (pilares verticais), assim como zonas de fragilidade. O esqueleto do terço médio da face consiste de um sistema de suportes horizontais e verticais (pilares) que se combinam para formar uma estrutura entrelaçada que mantém as dimensões horizontais e verticais, protege as órbitas, seios paranasais, cavidades oral e nasal.

O sistema esquelético é dividido entre cabeça, tórax, coluna vertebral, membro superior e membro inferior, totalizando 206 ossos. O esqueleto da cabeça é dividido em neurocrânio e esqueletos da face. O neurocrânio fornece o invólucro para o cérebro e as meninges encefálicas, partes proximais dos nervos cranianos e vasos sanguíneos. O crânio possui um teto semelhante a uma abóbada – a calvária – e um assoalho ou base do crânio que é composta do etmoide e partes do occipital e do temporal (Figura 8). O esqueleto da face consiste em ossos que circundam a boca e o nariz e contribuem para as órbitas [50].

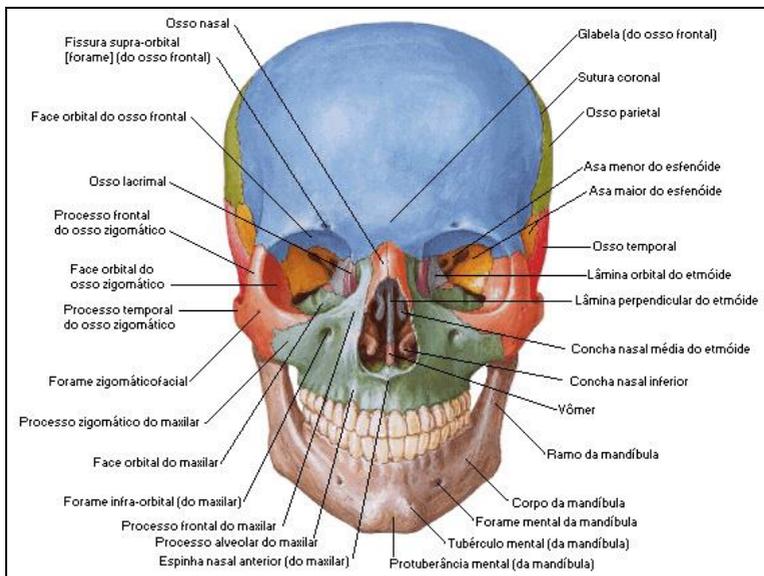


Figura 8. Vista frontal do crânio [50].

O sistema de osteossíntese consiste na união das extremidades dos fragmentos ósseos fraturados e sua manutenção em posição anatômica correta com auxílio de placas, fios, pregos, parafusos, etc. Material reabsorvível, segundo cirurgiões e descrito por Bailey (2001) [49], é mais indicado para fraturas em crianças, fraturas bem posicionadas, técnica de manuseio muito sensível e na região do terço médio da face.

2.4. Resultado clínico

O desenvolvimento da fixação interna rígida representou um avanço significativo no campo da cirurgia craniofacial, nos seus diversos segmentos, tais como a traumatologia, a cirurgia ortognatia e a reconstrução dos ossos maxilares [51].

Um copolímero poli-l-láctico e ácido glicólico (PLLA/PGA) representa outro avanço da tecnologia no uso de materiais bioreabsorvíveis para fixação interna rígida, mostrando ser eficaz em reconstrução de abóbada craniana, porém a efetividade de usar este copolímero em áreas que requerem carga aumentada, como a mandíbula, ainda devem ser pesquisadas [52].

Montag *et al.* (1997) [9] estudaram 35 pacientes pediátricos que necessitavam de cirurgias craniofaciais e verificaram clinicamente, com o uso de materiais bioreabsorvíveis, aspectos como: estabilidade, padrão cicatricial, contorno e palpabilizada. Não encontraram nenhuma complicação. Ainda neste estudo, compararam o tempo do procedimento cirúrgico no qual cinco casos de sinostose sagital simples foram tratados por métodos convencionais (fixação com titânio) e cinco casos de sinostose sagital foram tratados com sistema LactoSorb® (82% PLLA/18% PGA). Observou-se que a duração da cirurgia não foi alongada, mas na realidade, encurtada em média de 40 minutos por caso, quando se utilizou o método reabsorvível.

Eppley *et al.* (1997) [53] descreveram o uso de placas reabsorvíveis e parafusos para fixação óssea na cirurgia craniofacial pediátrica, particularmente da abóbada craniana. Ao longo de um período de 7 anos, mais de 200 casos foram realizados pelos autores com o copolímero específico PLLA-PGA sem quaisquer complicações relacionadas ao material, como inflamação, reações estrangeiras ou perda de estabilidade de fixação, necessitando de operação. O mesmo autor com demais colaboradores (1997) [54] trataram 30 pacientes com fratura facial, utilizando o sistema de fixação reabsorvível. Observaram as reações inflamatórias do tecido no pós-operatório e a não manifestação de do desenvolvimento de reações de corpo estranho.

Edwards, Kiely e Epplex (2000) [55] revisaram 29 casos de osteotomias Le Fort-I no qual sistemas de PLA/PGA tinham sido usados com um período de observação entre duas semanas e um ano e não informaram nenhuma complicação.

Em estudos nos quais se operaram 31 pacientes que necessitavam de cirurgia ortognatia, usando o sistema de fixação óssea reabsorvível (parafusos bi corticais 2.5 para mandíbula/ placas 2.0 e 2.5 para maxila), não foram observadas evidências de parafusos ou placas fraturadas durante a colocação, deiscência da ferida, exposição da fixação ou infecção crônica. Em um paciente desenvolveu-se uma infecção bucal, localizada duas semanas após a cirurgia, que foi solucionada com o uso de antibióticos, entretanto não foi encontrada nenhuma evidência que a fixação reabsorvível fosse a causa primária da infecção. Em 6 pacientes desenvolveu-se mobilidade moderada da maxila no período pós-operatório inicial com 1-2 mm de mordida aberta em dois casos e quatro casos de mordida aberta posterior. Estas discrepâncias oclusais foram totalmente corrigidas com o uso de elásticos intermaxilares, num período de duas semanas [56].

De acordo com o estudo de Haers *et. al.*, 1998 [57], as técnicas cirúrgicas e os primeiros resultados de um caso de cirurgia craniofacial fixa com material bioreabsorvível sem fixação craniofacial-mandibular rígida no pós-operatório podem ser observados na Figura 9. As placas e parafusos são de PLDLA na razão molar 85:15 e foram fixadas bilateralmente da região paranasal e ao longo do osso zigomático.

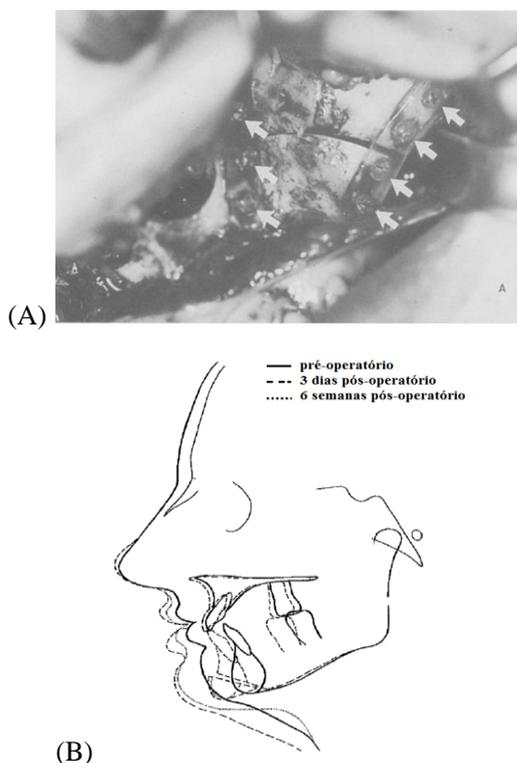


Figura 9. (A) Implante do sistema placa-parafuso no procedimento cirúrgico. (B) A análise cefalométrica dos movimentos cirúrgicos e o padrão de estabilidade, 6 semanas do pós-operatório [57] (adaptado).

Segundo o autor, a recuperação foi sem complicações. Seis semanas de pós-operatório, o exame clínico revelou o maxilar e mandíbula estáveis. A oclusão esteve dentro da posição prevista. Não houve nenhuma recaída detectável tanto dental quanto esquelética, no canto superior e maxilar inferior, exceto para o ponto lateral, onde a recaída de 0,5 mm foi observada.

Holmes et al. (2004) [58] obtiveram resultados clínicos avaliando 164 pacientes entre 8 a 48 meses de pós-operatório com implante de sistema de fixação rígida de PLDLA (Figura 10). Posteriormente, um novo polímero de maior reabsorção, feito com poli (D, L-ácido lático-co-ácido glicólico) 85:15, PLGA, foi colocado e relatados os resultados preliminares nos 29 primeiros pacientes. O mesmo autor também realizou o estudo com 164 pacientes, de 6 semanas a 61 anos de idade, que foram sujeitos a cirurgia craniofacial com dispositivos bioreabsorvíveis de PLDLA. Os autores acreditam que isso representa uma vasta experiência para estudos com dispositivos bioreabsorvíveis. Do grupo de estudo, 131 foram crianças e 33 adultos. Os procedimentos cirúrgicos incluíram Monobloc, osteotomias LeFortIII e LeFort I (n = 16); crânio-osteotomia reconstrutiva (n = 44); reconstrução traumática e pós-traumática (n = 14); osteotomia exposta (n = 16); distração da média face (n = 14); e procedimentos craniofaciais *miscelâneas* (n = 60). Os dispositivos bioreabsorvíveis de PLDLA foram mais fáceis para manusear na forma desejada, não houve interferência nas imagens, ocorreu transferência de carga, houve excelente convergência com a regeneração modulada de células na haste, poucas complicações (91.5% dos pacientes não tiveram complicações) e 100% dos pacientes não precisaram utilizar metais como reparo.

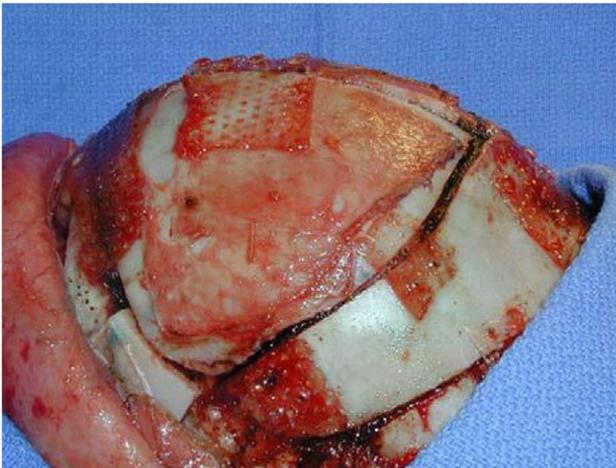
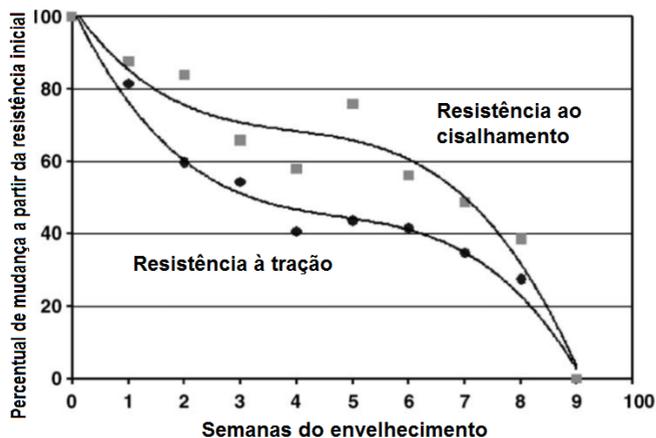


Figura 10. Malha de PLA (0.5 mm) utilizada para regeneração do osso temporal em cirurgia craniofacial pediátrica [58].

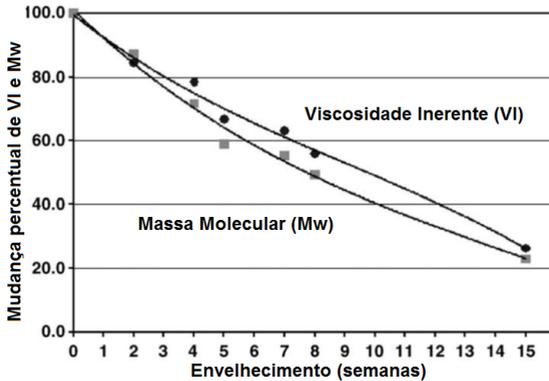
Os resultados sobre as características do PLGA utilizado podem ser descritos relacionando a tensão inicial aplicada, de tração e de cisalhamento, com o tempo (Figura 11), assim como a massa molecular com o tempo (Figura 12).



● = Resistência a tração; ■ = Resistência ao cisalhamento.

Figura 11. Mudança percentual na tensão e força de cisalhamento *versus* semanas em tempo real do envelhecimento para MacroPore FRP (PLGA) (adaptado) [58].

Esses resultados demonstram uma controlada e rápida degradação nas propriedades mecânicas do material, com resistência suficiente para aplicações pediátricas craniofaciais, segundo os autores. O produto utilizado no estudo foi o PLDLA da marca MacroPore PLDL, que foi testado em condições críticas, com temperatura a 70°C.



■ = Massa molecular; ● = Viscosidade inerente.

Figura 12. Mudança percentual na viscosidade inerente *versus* semanas em tempo real do envelhecimento para MacroPore FRP (PLGA) (adaptado) [58].

Um total de 25 pacientes foram avaliados na pesquisa, acompanhados por seis meses ou mais. Na avaliação de 6 meses, todos os pacientes tiveram uma fixação estável e cicatrização óssea. Em todos os casos, a aparência estética permaneceu satisfatória e ausência de inchaço pós-operatório. Complicações em pós-operatório, ocorreu em cinco pacientes, dois deles com queda e hematomas e um com encefalocele e o outro com defeito ósseo; todos tratados com intervenções cirúrgicas. Não houve complicações referentes ao material implantado. Os resultados clínicos avaliados no período mais que 6 meses indicaram que o material FRP é seguro e aplicável a cirurgias craniofaciais [58].

Bakelen et al. (2014) [59] realizou um estudo *in vivo* com as seguintes variáveis: (1) demografia: sexo feminino, idade (2) tipo de procedimento cirúrgico: BSSO (*Bi-lateral-Sagittal-Split Osteotomy*), osteotomia Le Fort-I, osteotomia bi maxilar, fratura mandibular, maxila ou zigoma; (3) Número de operações por cirurgias com bioreabsorvíveis. Em 15 dos 70 pacientes (21.4%) que foram tratados com BSSO, houve fraturas mandibulares em 55.6% dos casos. Não houve interrupção em pacientes tratados com a osteotomia Le Fort-I ou em pacientes tratados com fratura no zigomático. No estudo, foi relatado que fraturas mandibulares tem um risco maior de complicações com biodegradáveis da Inion CPS do que com as placas e parafusos de titânio da KLS Martin em comparação com a BSSO. No entanto, pode ser tirado conclusões definitivas, porque uma em cada 5 complicações de fraturas de mandíbula foi devido a problemas de logística ou razão desconhecida.

2.5. Dispositivo bioreabsorvíveis para tecido ósseo

A fabricação de dispositivos bioreabsorvíveis implantáveis tais como placas e parafusos nas cirurgias de fixação rígida na especialidade craniofacial começaram em 1960. No Brasil, a fabricação desses dispositivos bioreabsorvíveis está em avaliação pelos órgãos responsáveis e requer estudos que viabilizem a produção nacional. No entendimento do estado da arte da fabricação de dispositivos craniofaciais bioreabsorvíveis é possível identificar que as necessidades de estudo na área englobam os processos de fabricação, na definição de propriedades mecânicas e como melhorá-las de acordo com as condições do material e seu tempo de degradabilidade.

Um exemplo do sistema placa-parafuso (Figura 13) é demonstrado no trabalho de Haers *et. al.*, (1998) [57]. Segundo o autor, o auto reforço do homopolímero poli (L-ácido lático) (PLLA) e do poli (L / D-lático) com L/D na razão molar de 85/15 obteve-se força suficiente para superar a necessidade de suporte adicional para a fixação de fraturas. As placas podem ser dobradas à temperatura ambiente [57].

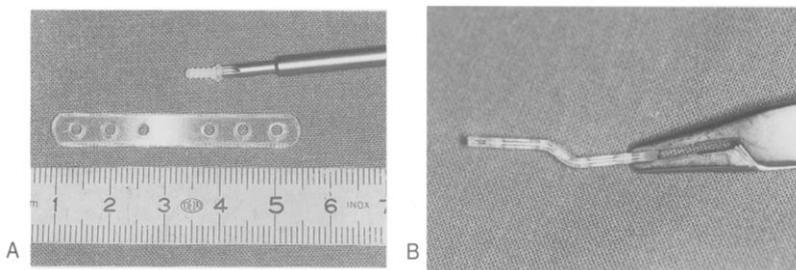


Figura 13. (A) Parafusos de 2 milímetros e placas de encaixe. (B) as placas são dobradas planas com fórceps, sem a necessidade de um dispositivo de aquecimento para manter a forma desejada [57].

Um outro exemplo do sistema foi demonstrado por Wittwer *et al.* (2007) [60], onde os tipos de rosca do parafuso variam e demonstram diferentes impactos de tensões nas placas (Figura 14).



Figura 14. Placas e parafusos bioreabsorvíveis utilizados em aplicações craniofacial-faciais [60].

As principais fabricantes de dispositivos para cirurgia craniofacial, focadas em placas e parafusos bioreabsorvíveis, estão listadas a seguir (Tabela 4).

Tabela 4. Fabricantes e marcas de dispositivos craniofaciais.

Fabricante	Linha de bioreabsorvíveis	País de origem
Stryker	Delta System	Alemanha
DePuy Synthes	PolyMax	Suíça
Inion	Inion CPS	Finlândia
BIOMET	Lactosorb	EUA
kLS Martin	ResorbX	Alemanha
Medtronic	MacroPore	EUA
Implantes BionX	SmartPins	Finlândia
Arthrex	TRIM-IT PINS	EUA
Conmed	BioScrew	EUA

Cada marca utiliza um polímero específico na sua fabricação, com determinado grau de reabsorção, contendo características de placas e parafusos específicas. Os resultados das propriedades de rigidez e da deflexão em placas do tipo SPS®, nos ensaios mecânicos de flexão e torção, por exemplo, apresentam interferência das variantes de números de furos nas placas e o espaço entre as placas, ou seja, quanto maior o número de furos nas placas e menor o espaço entre elas maior a rigidez e menor a deflexão. Os autores afirmam que a rigidez e a deflexão variaram proporcionalmente ao número de furos nas placas e ao espaço entre elas [42].

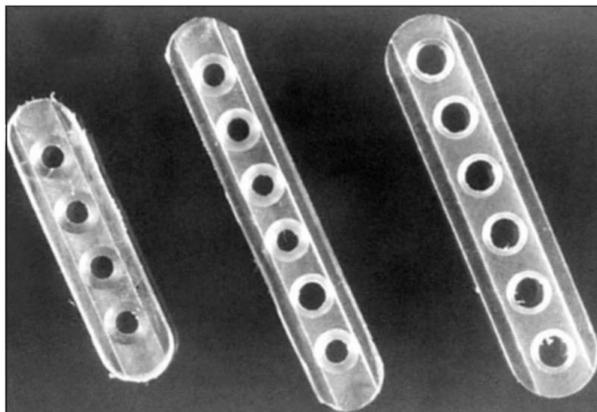


Figura 15. Placas bioreabsorvíveis de quatro e seis furos compostas de ésteres polimerizados (poliésteres) com aproximadamente 82% de ácido polilático e 18% de ácido poliglicólico. As placas de seis furos medem 25 mm de comprimento, 5 mm de largura e 1,5 mm de espessura [61].

Outro exemplo de dispositivos de fixação bioresorbíveis compostos por ésteres polimerizados (poliésteres) com aproximadamente 82% de ácido polilático (PLA) e 18% de ácido poliglicólico (PGA) são da marca LactoSorb, Lorenz / Biomet Inc, Varsóvia, Ind (Figura 15) [61].

2.6. Moldagem por injeção de polímeros bioreabsorvíveis

Segundo Birley *et al.* (1991) [62], independentemente do processo, as três etapas básicas de transformação de polímeros são a plastificação, conformação e estabilidade da forma. Plastificação para levar o material, por meio de aquecimento, dissolução ou uso de reagentes líquidos, a um estado em que sua forma possa ser modificada na etapa seguinte. A conformação é para que a forma geométrica da peça desejada seja obtida, normalmente pela reprodução da forma de uma ferramenta (molde/matriz), com auxílio de pressão externa. E, por fim, a estabilização da forma, é obtida pelo endurecimento do material, por resfriamento, cura ou remoção de solventes até a temperatura ambiente.

O processamento do polímero determina a estrutura e o *design* do dispositivo e influencia de maneira intensa a massa molar do material. O efeito do processamento dos poli (ácido láticos) resultam, em média, em

uma queda de 40 % do valor de massa molar anterior ao processo de moldagem [63].

Placas e parafusos de PLA-PGA utilizados em cirurgia podem ser fabricados por moldagem por injeção [64]. As propriedades físicas e mecânicas do produto final são, em parte, determinadas pelos parâmetros de processo da moldagem. Essas propriedades incluem peso molecular, percentual de cristalinidade e orientação da cadeia.

A temperatura de processamento é um fator fundamental no êxito do processo de obtenção dos dispositivos, em especial pelo fato dos polímeros biodegradáveis serem, na maior parte das vezes, sintetizados por meio de polimerização por abertura de anéis de seus monômeros. Leenslag et al. (1987) [65] descreveu o uso de 200°C de temperatura de injeção para a fabricação de implantes de PLLA. Neste tipo de polimerização (abertura de anéis cíclicos) existe um equilíbrio termodinâmico tanto no sentido da polimerização como também no sentido da reação inversa, ou seja, da formação do monômero, sendo que o emprego de temperaturas elevadas, durante o processamento do material, poderia deslocar o equilíbrio da reação no sentido de formação do monômero. Esse deslocamento causaria uma queda muito acentuada de massa molar no dispositivo, o que por sua vez comprometeria as suas propriedades mecânicas [66].

Entretanto, outros parâmetros afetam a qualidade do produto, tais como velocidade e pressão de injeção, tempo de preenchimento do molde e geometria do molde [67]. Além disso, uma quantidade excessiva de monômero no polímero sintetizado também pode agir como um plastificante, mudando assim as propriedades mecânicas do dispositivo, além de catalisar a hidrólise do material [3]. Portanto, esses materiais devem ser processados na menor temperatura possível.

A moldagem por injeção é um processo de transformação composto por várias etapas executadas em uma ordem que se repete a cada ciclo, produzindo-se uma ou mais peças por vez, apresentando ciclos de produção curtos, indução de excelentes superfícies dos manufaturados, além de possibilitar a moldagem das mais variadas formas de produtos [67]. Esse processo é empregado em mais de 33% de todos os materiais plásticos processados mundialmente, devido sua maior versatilidade no que se diz respeito à complexidade geométrica, aplicação e produtividade. É uma técnica de fabricação de peças poliméricas que permite design complexos e várias condições de processamento.

A técnica consiste na injeção de um material na cavidade do molde, sob uma dada temperatura e pressão. A máquina de injeção (Figura 16)

funciona através de ciclos, definidos por parâmetros ajustáveis calculados.

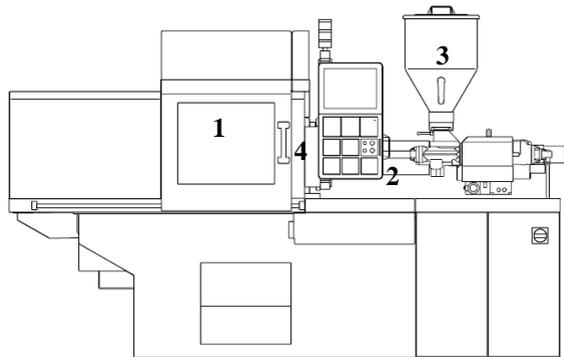


Figura 16. Máquina de moldagem por injeção: (1) Molde; (2) Parafuso de injeção; (3) Funil de alimentação; (4) Bico de injeção. Fonte: próprio autor.

Um ciclo de injeção é composto de etapas onde o material plástico passa por transformações e por etapas de cunho operacional (conhecidas como etapas do “ciclo seco”). Quando o parafuso gira, o material sólido proveniente do funil é arrastado contra a parede interna do cilindro de aquecimento ou canhão. Assim, a força de atrito criada aquece e empurra o material pelo canal, em direção à ponta do parafuso. Com o aquecimento por atrito e o calor proveniente das resistências elétricas que envolvem a parede externa do cilindro, aos poucos o material é plastificado, até que, próximo à ponta do parafuso, não restem mais partículas sólidas.

Como o bico de injeção deve estar encostado no molde fechado e preenchido, o material plastificado não consegue sair do cilindro, e acumula-se à frente do parafuso. A pressão do material empurra o parafuso para trás, até que atinja uma posição determinada pelo operador. Nesse ponto, o parafuso para de girar e termina o processo de plastificação. A massa de material plastificado, que fica dosada entre o bico de injeção e a ponta do parafuso deve ser suficiente para preencher totalmente a cavidade e o sistema de alimentação do molde.

Uma vez dosado, o material deve ser injetado, ou seja, transportado para a cavidade do molde fechado. O parafuso avança, como se fosse o êmbolo de uma seringa, criando a pressão necessária para que o material consiga passar pelo canal do bico de injeção, canal de alimentação do

molde e ponto de entrada da cavidade e preencher a cavidade. Como as paredes do molde possuem canais para circulação de água ou óleo, gradualmente a peça moldada e o material que fica no canal de injeção são resfriados. Após o preenchimento, ocorre o recalque: o parafuso é mantido avançado até que o ponto de entrada do material na cavidade seja solidificado. O resfriamento da peça injetada prossegue, e aos poucos a cavidade e o canal de alimentação solidificam-se por completo.

Como durante o resfriamento o parafuso está ocioso e a prensa está fechada, a máquina pode aproveitar esse tempo para plastificar e dosar o material que será injetado no ciclo seguinte, por meio da rotação do parafuso simultaneamente ao seu recuo até uma posição pré-definida. Uma vez solidificada e resfriada até uma temperatura em que não seja mais deformada, a peça está pronta para ser extraída. Realiza-se, então, o ciclo seco, que consiste das etapas de abertura do molde, extração (desgrudar a peça do molde) e fechamento. Terminado o ciclo, o material dosado é injetado, repetindo-se o ciclo até que se atinja a produção desejada.

O comportamento reológico dos plásticos é a propriedade mais importante para o processamento, em virtude deste comportamento afetar todos os processos onde ocorre o escoamento do material seja dentro do cilindro plastificador ou no molde. O preenchimento do molde é especialmente influenciado pelo comportamento reológico dos polímeros, visto que a viscosidade determina certas características tais como, pressão de injeção ou força de fechamento necessárias para a máquina injetora, estabelecendo também a mínima espessura de parede ou o máximo comprimento de fluxo da peça [68].

Ghosh *et al.* (2007) [69] analisaram a influência dos parâmetros de processamento na recuperação da deformação de corpos de prova em PLLA. Vieira *et al.* (2013) [70] concluiu em estudos com corpos de prova de PLDLA que as peças processadas em menor temperatura, de maneira geral, apresentaram maior resistência mecânica, devido a orientação molecular na estruturada peça injetada. Assim, para maximizar a resistência mecânica de peças injetadas em PLDLA e submetidas a esforços trativos, o autor recomenda o uso de baixa temperatura de fundido.

Placas e parafusos podem, também, serem moldados em blocos de material. Nos casos em que o calor e a quantidade de solventes devem ser restritos, PLA-PGA podem ser moldados por compressão em alta pressão sem aplicação de calor [71].

2.6.1. Sistemas de injeção

O material depois de fundido é conduzido até as cavidades do molde por um sistema que contém o canal de injeção, os canais de distribuição primário e secundário, a retenção do canal e as entradas de injeção. Para o projeto desse sistema é necessário o conhecimento do fluxo do material no estado fundido nos canais de distribuição, que pode ser avaliado em softwares de simulação de injeção, verificando, também, o ponto de injeção para o melhor fluxo.

Durante o fluxo de injeção, o contato da parede do molde com o material fundido pode resultar na formação da camada congelada, “frozen layer” na Figura 17 [72]. Quanto maior o tempo de injeção, maior o tempo de contato com a parede do molde, portanto maior é a espessura da camada congelada formada. Aumentar a velocidade de injeção para diminuir o tempo de preenchimento obtém-se um fluxo de canal mais largo e com menor espessura da camada congelada.

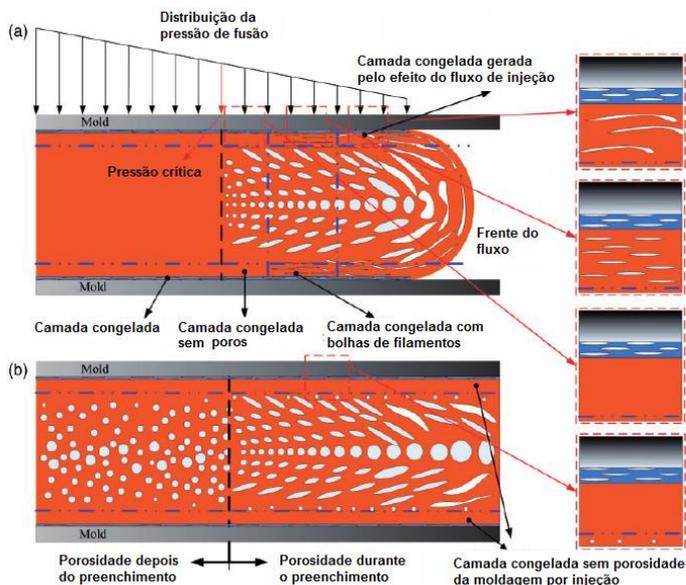


Figura 17. Fluxo de injeção e presença da camada congelada e a frente de fluxo na parede da cavidade do molde. Diagrama esquemático dos processos de formação da camada congelada na parte moldada por injeção: (a) durante a fase de preenchimento; B) após a fase de preenchimento (adaptado) [72].

A frente do fluxo (Flow Front) durante o preenchimento também apresenta uma camada resistente ao fluxo devido ao atrito com a parede do molde. Para evitar que esse material afete a cavidade de preenchimento do produto, são projetadas as retenções do canal.

O ponto de injeção também influencia no fluxo e na formação da camada congelada. A localização do ponto de injeção nas paredes mais espessas da geometria do produto, gera um preenchimento melhor da cavidade menos espessas, ou seja, o fluxo se torna mais fluido na direção de camadas mais espessas para as menos espessas. A estabilidade da peça e sua homogeneidade está associada as linhas de solda (ou ementa fria) que são formadas no percorrer do fluxo e quanto menor for a distância entre as linhas de solda formadas, melhor é a estabilidade do produto [72].

2.6.2. Parâmetros da moldagem por injeção

Pode-se ter um controle da moldagem por meio dos parâmetros de injeção, os quais são programados no equipamento que age sobre o processo. No processamento de um termoplástico por moldagem por injeção, o parâmetro de injeção tem influência direta e indireta no produto formado. As consequências de cada parâmetro são apresentadas na Tabela 5 [73-76].

Tabela 5. Parâmetros da moldagem por injeção [73-76].

Parâmetro de injeção	Definição
Temperatura de massa	é a temperatura local do material injetado em um determinado tempo durante o ciclo de injeção; pode-se assumir a temperatura de injeção (temperatura do material dosado no canhão) como referência inicial, mas ao longo do processo seu valor é alterado por efeito das demais variáveis
Taxa de resfriamento	é a velocidade com a qual o material perde calor; isso modifica, por exemplo, o grau de cristalinidade e/ou o tamanho dos cristais do material, tendo efeitos importantes nas propriedades dimensionais, mecânicas e óticas do moldado.

Parâmetro de injeção	Definição
Pressão na cavidade	é a pressão do material no interior da cavidade; costuma-se assumir como referência a pressão máxima atingida durante a moldagem; essa variável controla a quantidade de material injetado no molde e, por consequência, a massa e a precisão dimensional das peças, além de influir em tensões residuais e empenamento.
Velocidade de escoamento	é a velocidade com a qual o material flui pela cavidade durante o preenchimento; está fortemente associada à taxa de cisalhamento e, por isso, tem efeitos sobre temperatura de massa, orientação molecular, degradação e tensões residuais
Velocidade de avanço do fuso ou perfil de injeção	quanto maior for seu valor, maior será a velocidade de escoamento do material pela cavidade, conseqüentemente, maior a taxa de cisalhamento, favorecendo a dissipação viscosa, o que modifica a temperatura da massa;
Pressão de injeção	controla a força e a velocidade do movimento axial do parafuso durante a injeção;
Pressão de recalque ou perfil de recalque	regula a pressão no interior da cavidade após a injeção, o que promove maior ou menor compactação das macromoléculas poliméricas;
Tempo, posição ou pressão de comutação	momento em que o avanço do parafuso deixa de ser controlado pela velocidade programada e passa a respeitar a pressão de recalque preestabelecida, marcando a transição entre injeção e recalque. Assim como o parâmetro anterior, este também tem influência na pressão na cavidade;
Tempo de recalque	define o período que a pressão de recalque ficará atuando sobre o material no interior da cavidade. Este fator, associado a pressão de recalque, garante que não exista contra fluxo de material da cavidade para o fuso;
Temperatura do cilindro de aquecimento	regula a temperatura da massa

Parâmetro de injeção	Definição
Tempo de residência	influencia a temperatura da massa. É o tempo máximo que o material pode permanecer no “canhão” sem que ocorra sua degradação;
Velocidade de rotação do parafuso	influencia a temperatura da massa;
Temperatura do fluido de resfriamento do molde	ajusta a temperatura das paredes da cavidade do molde, influenciando a taxa de resfriamento do termoplástico no interior da cavidade;
Vazão do fluido de refrigeração	assim como a variável anterior, controla a taxa de resfriamento;
Tempo de molde fechado	altera a taxa de resfriamento do material, pois após a abertura do molde, o componente passa a resfriar não uniformemente, tendo primeiramente apenas um dos lados resfriado ao ar, fato este que só é balanceado após a extração;
Contrapressão	é a pressão do atuador do parafuso contrária ao seu retorno durante a etapa de dosagem, modifica a temperatura e a homogeneidade da massa;
Curso de dosagem	modifica a quantidade de material dosado, assim pode alterar a pressão no interior da cavidade durante a injeção e o recalque;
Força de fechamento	caso esse parâmetro seja inferior ao correto, o material sai da cavidade para a superfície de fechamento do molde, por consequência diminuindo a pressão na cavidade. Isso resulta em alteração da massa, erro dimensional e surgimento de rebarbas.
Número de Pontos de Injeção	têm influência sobre o gradiente de pressão e temperatura da massa no interior da cavidade, os quais estão relacionados com a estabilidade dimensional da peça e também linhas de molde.
Temperatura do molde	têm influência na cristalinidade e na formação da camada congelada. Quanto maior a troca térmica, maior a formação de esferulitos menores na estrutura do material moldado.

Durante o processo de injeção os termoplásticos passam por um ciclo termomecânico bastante complexo, o qual promove uma grande variação nas propriedades reológicas, mecânicas e fluídicas do material, devido aos altos gradientes de temperatura, pressão e da taxa de cisalhamento tanto ao longo da espessura da peça injetada, quanto ao longo do fluxo do material [77]. Como consequências do histórico termomecânico sofrido pelo material durante seu processamento podem resultar: empenamentos, retrações localizadas, variações nas propriedades mecânicas e tensões residuais, fatores estes que influenciam diretamente a qualidade final, o desempenho mecânico e a vida útil da peça.

Ghosh et al (2007) [69] avaliaram propriedades mecânicas tais como módulo e tensões máxima e de ruptura em consequência da variação dos parâmetros de injeção, em um delineamento fatorial envolvendo temperatura de fusão (T_m) do PLLA, pressão de injeção, temperatura do molde e pressão de recalque. Foram estudadas as variáveis da injetora, a morfologia e as propriedades finais (módulo, tensão de ruptura, tensão máxima). Um outro fato decorrente do processo de moldagem por injeção em termoplástico é a presença de tensões residuais no produto moldado devido à pressão exercida na injeção, à pressão de recalque ou o volume a ser injetado.

De acordo com Almen e Black (1963) [78], de uma forma simples e geral, entende-se por residuais as tensões existentes em um corpo sem que nele estejam agindo quaisquer forças externas. As tensões residuais são elásticas e se superpõe as cargas de serviços, podendo ser benéficas ou deletérias às estruturas e ou equipamentos, dependendo de sua magnitude, sinal e distribuição. Este estado de tensões é auto equilibrante e, portanto, a resultante das forças e de momentos que as tensões residuais produzem é zero. Qualquer perturbação como remoção de material, aplicação de carregamentos térmicos e mecânicos alteram o seu estado e causam a sua redistribuição de modo que as tensões se equilibrem novamente. Vários casos apontam as tensões residuais como principal causa de falha de equipamentos, tendo como agravante o fato de a maioria das vezes permanecerem incógnitas, desde a fabricação até a falha.

2.7. Parâmetros e propriedades do material bioreabsorvível que influenciam na degradação

Muitos fatores determinam a resposta inflamatória e a taxa de degradação dos polímeros bioreabsorvíveis, entre eles: local de implante, solitação mecânica, massa molar, distribuição da massa molar, composição química/esterioisométrica, cristalinidade, sua morfologia, envolvendo o tamanho e geometria do suporte desenvolvido, porosidade, rugosidade da superfície, energia livre de superfície, carga da superfície, pH, presença de aditivos e outros [3, 77, 78].

2.7.1. Localização do Implante

Na localização do implante deve-se levar em conta a vascularização local e a solitação mecânica. Se um polímero bioreabsorvível é implantado num local de alta vascularização (grande atividade vital), sua velocidade de degradação será mais rápida em relação à uma região menos vascularizada, de funções passivas. Locais de grande solitação mecânica também têm sido descritos como aceleradores da degradação [79].

2.7.2. Composição Química

No caso do poli (ácido lático), a quiralidade do carbono permite a síntese de compostos enantiômeros, *levo* (L) e *destro* (D) rotatórios, dando origem à uma família de polímeros: poli(L-ácido lático) (PLLA), poli(D, L-ácido lático) (PDLLA) e copolímeros em diferentes proporções. Segundo Bendix (1998) [80], devido à distribuição aleatória das unidades L e D na cadeia polimérica, o polímero racêmico não possui domínios cristalinos, sendo um material amorfo e com propriedades mecânicas significativamente menores quando comparado ao semicristalino PLLA. A cinética de hidrólise do PDLLA tem sido verificada e demonstra ser mais rápida do que o PLLA. O grupo metila presente nas cadeias de PLA é responsável pelo impedimento estérico na reação de hidrólise. Dessa forma, a presença de unidades de ácido glicólico favorece a penetração da água e consequentemente a taxa de degradação. Para copolímeros PLGA, a composição química das unidades de ácido lático e ácido glicólico é avaliada como fator

determinante na degradação por hidrólise. Miller *et al.* [21] avaliaram a degradação *in vivo*, durante 11 meses, para amostras de PLA(100), PLGA(25/75), PLGA(50/50), PLGA(75/25) e PGA(100), através da inclusão de isótopos ^{14}C e ^3H na cadeia polimérica. Medindo-se a perda de radioatividade dos implantes em ratos, os autores concluem que a meia-vida é menor para as estruturas de PLGA (50/50) e está fundamentalmente relacionada com a cristalinidade dos materiais.

2.7.3. Peso Molecular

Alto peso molecular dos PLAs e PGAs e seus copolímeros são obtidos pela polimerização de seus diésteres cíclicos, dos quais são os ácidos lático e os glicólico. No caso dos polímeros que contém maiores quantidades de LA em sua composição apresenta maiores valores de degradação, assim como maiores valores de propriedades físicas e mecânicas (Figura 18). A degradabilidade vai depender da distribuição da massa molar dos monômeros presentes. Outra característica que influencia na degradação é a conformação polimérica, pois polímeros em conformação aleatória degrada mais rápido que a distribuição em bloco [81].

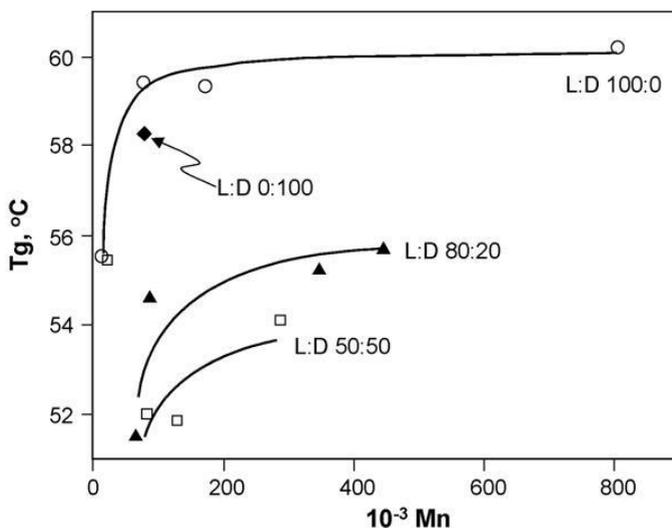


Figura 18. Influência da massa molar e do tipo de copolímero na temperatura de transição vítrea do PLA [81].

2.7.4. Cristalinidade

A influência da cristalinidade na velocidade de degradação dos polímeros bioreabsorvíveis foi relatada por Fischer et al. (1989) [82] através de distribuições tri modais de M_w utilizando dados de degradação *in vitro* para copolímeros de PDLLA. A degradação de polímeros parcialmente cristalinos ocorre, fundamentalmente, em duas etapas: Devido à disposição espacial das cadeias poliméricas, o efeito da cristalinidade influi na taxa de absorção de água pelo polímero. O primeiro estágio de degradação consiste na penetração e difusão das moléculas de água nas regiões amorfas do material, e subsequente cisão hidrolítica das ligações ésteres das cadeias poliméricas. O segundo estágio se dá quando parte considerável da região amorfa está degradada, e prossegue no centro dos domínios cristalinos. Dessa forma, para polímeros parcialmente cristalinos, a literatura descreve um aumento porcentual da porção cristalina devido à absorção dos fragmentos pela rede cristalina e pela formação de novos cristais, através do rearranjo das cadeias de menor massa molar originadas no processo de degradação.

2.7.5. Porosidade e geometria do implante

A influência da porosidade e geometria do suporte polimérico é também relatada como um dos fatores determinantes na velocidade de degradação e indução ao crescimento celular. No início da década de 90, diversos trabalhos e patentes relacionadas à metodologia de preparo de suportes bioreabsorvíveis e suas aplicações [83] propuseram que a taxa de penetração e crescimento celular em suportes porosos está diretamente relacionada com o tamanho e distribuição do tamanho dos poros no material. Através de implantes subcutâneos, a invasão celular foi avaliada em 25 dias de experimento. A conclusão foi que a perda de massa, a adesão e o crescimento celular estão diretamente relacionados com o tamanho dos poros e a cristalinidade do material. Na faixa de 50-150 μ m, quanto maior o tamanho do poro do material maior foi a taxa de crescimento celular, devido à facilidade de difusão dos nutrientes dos fluidos orgânicos locais.

Lu et al. (2000) [84] descrevem o estudo da degradação *in vitro*, em tampão fosfato (pH=7,4), de estruturas porosas de PLLA preparadas pela adição de sal em diferentes granulometrias e concentrações. Os autores concluem que a influência do tamanho do poro (e distribuição do

tamanho de poros) não tem influência na morfologia porosa durante 46 semanas de degradação, entretanto, o efeito auto catalítico é observado e descrito como sendo uma função da espessura da parede do poro.

Quanto maior a espessura, menor a difusão dos produtos ácidos de degradação e conseqüentemente maior a velocidade de perda de massa. Estudos da degradação de membranas densas e porosas de PLLA em tampão fosfato (pH=7,4) e em meio de cultura HAM F10 mostram que o efeito auto catalítico é observado nas estruturas densas quando comparadas às porosas, entretanto, o tamanho do poro não mostrou ter influência na morfologia das amostras durante o período de degradação, nem em função da adesão celular. Comumente, os fatores que influenciam a degradação são estudados conjuntamente [84]. A variação da concentração e tamanho dos poros também não tem influência na degradação dos materiais e que estruturas de PLGA(50/50) degradam mais rapidamente que as estruturas de PLGA(85/15), devido à maior porcentagem de unidades de ácido glicólico.

2.8. Reabsorção do implante polimérico

Polímeros bioreabsorvíveis são normalmente projetados para degradar no corpo humano pela ação da água, fenômeno chamado hidrólise. O mecanismo de reabsorção é por desencadeamento de moderada reação inflamatória que promoverá hidrólise dos componentes e micro fragmentação da placa que será fagocitada por macrófagos que converterão os fragmentos em dióxido de carbono e água. Para dispositivos médicos, tais como placas e parafusos craniofaciais fabricados com PLA, em 12 meses ocorre reabsorção total da placa com permanência de resíduos da membrana fibrosa que a envolve e, em 15 meses, no sítio do parafuso, há preenchimento com tecido fibroso ou neoformação óssea [85, 86].

O processo bioreabsorção dos poli (α -hidróxi ácidos) é descrito na literatura como sendo uma sucessão de eventos. Exposto aos fluidos aquosos do corpo, inicialmente o material sofre hidratação. Com a presença das moléculas de água, o processo de degradação dá-se através da hidrólise das ligações ésteres, originando produtos na forma de oligômeros (ou monômeros) solúveis e não tóxicos. A degradação prossegue por um processo biologicamente ativo (por enzimas) ou pela clivagem hidrolítica passiva, sendo caracterizada pela perda de massa, diminuição de massa molar ponderal média (M_w) e pela perda das suas propriedades mecânicas, como a resistência à tração e à compressão [79]

A autocatálise foi avaliada inicialmente por Li *et al.* (1990) [87] estudando copolímeros de PDLA. Segundo os autores, após 12 semanas de degradação *in vitro* em tampão fosfato, o interior do material sofre significativa diminuição de massa. Resultados semelhantes são obtidos nos estudos *in vivo*. A degradação de maneira heterogênea foi avaliada e confirmada pelos estudos subsequentes.

A bioreabsorção pelo organismo ocorre quando a biodegradação gera produtos e subprodutos com as características dos metabólitos orgânicos, especificamente os ácidos do Ciclo de Krebs. Terminada a hidrólise do material a degradação segue o processo de oxidação a ácido lático (para o PLA) e conversão das unidades de PGA em glicina, que por sua vez são convertidos em ácido pirúvico. Na presença da acetil coenzima A, ocorre a liberação de CO₂ e, conseqüentemente, a decomposição em citrato. O citrato será então incorporado no Ciclo de Krebs, resultando em CO₂ e H₂O, podendo sua eliminação ser feita através da urina e da respiração. O material foi reabsorvido e metabolizado [88].

2.9. Degradação *in vitro*

A avaliação de implantes envolve testes *in vitro*, *in vivo* e estudos clínicos, para caracterização da interação dos materiais com o ambiente biológico e os riscos relacionados à sua aplicação. A biocompatibilidade de um implante está relacionada aos efeitos que este pode causar no organismo e as ações do ambiente fisiológico sobre o implante, permitindo identificar as características adequadas à utilização em estudos clínicos.

Testes *in vitro* permitem detectar a toxicidade dos biomateriais para aplicação clínica que não devem causar reações adversas e nem lesar o organismo do paciente. A norma ISO 10993-5 apresenta três categorias de testes de citotoxicidade *in vitro*: teste de extrato, teste de contato direto e teste de contato indireto. Os testes de extrato e de contato direto possibilitam a avaliação qualitativa e quantitativa da citotoxicidade dos materiais ou da viabilidade das células quando em contato com os materiais. Por outro lado, o teste de contato indireto permite apenas a avaliação qualitativa da citotoxicidade.

Conforme a norma, o ensaio de citotoxicidade *in vitro* é o primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material para uso em dispositivos biomédicos. Comprovada a sua não toxicidade, o estudo da

biocompatibilidade do produto pode ter continuidade realizando-se os ensaios *in vivo*. O parâmetro mais utilizado para avaliar a toxicidade é a viabilidade celular. Testes de citotoxicidade utilizando culturas celulares consistem em colocar o material direta ou indiretamente em contato com uma cultura de células de mamíferos, verificando as alterações celulares por diferentes mecanismos, entre os quais a incorporação de corantes vitais ou a inibição da formação de colônias celulares [89].

A viabilidade celular pode ser evidenciada com auxílio de corantes vitais como o vermelho neutro, solúvel em água e que passa através da membrana celular, concentrando-se nos lisossomos, fixando-se por ligações eletrostáticas hidrofóbicas em sítios aniônicos na matriz lisossomal. Muitas substâncias danificam as membranas resultando no decréscimo de captura e ligação do vermelho neutro. Desse modo, distingue-se entre células vivas e danificadas ou mortas, pela medida de intensidade de cor da cultura celular [90].

O mecanismo da degradação *in vitro* dos polímeros bioreabsorvíveis tem sido avaliado nos últimos anos e demonstra ser um processo heterogêneo na extensão do material (Figura 19). Dentre os produtos da hidrólise das ligações ésteres, a presença de terminais ácidos catalisa a reação de degradação. É o chamado efeito auto catalítico dos poli (α -hidróxi ácidos). O processo é homogêneo inicialmente, gerando oligômeros solúveis em água em toda a extensão do material.

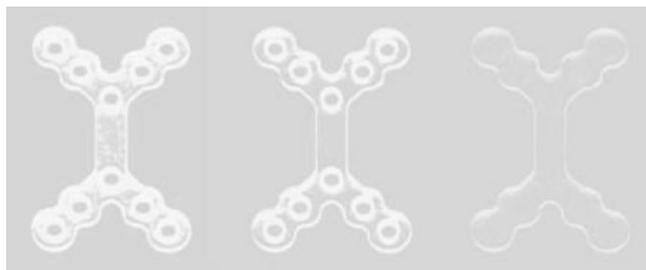


Figura 19. Degradação de uma placa para fratura no osso nasal nos períodos de 0, 6 e 12 meses [81].

Os produtos presentes na superfície da matriz são difundidos para o meio, entretanto, a baixa taxa de difusão dos produtos da reação no interior do material gera um acúmulo de ácidos, fazendo com que estruturas densas tenham uma erosão inicial na superfície, mas apresentando uma degradação mais acentuada no centro [81].

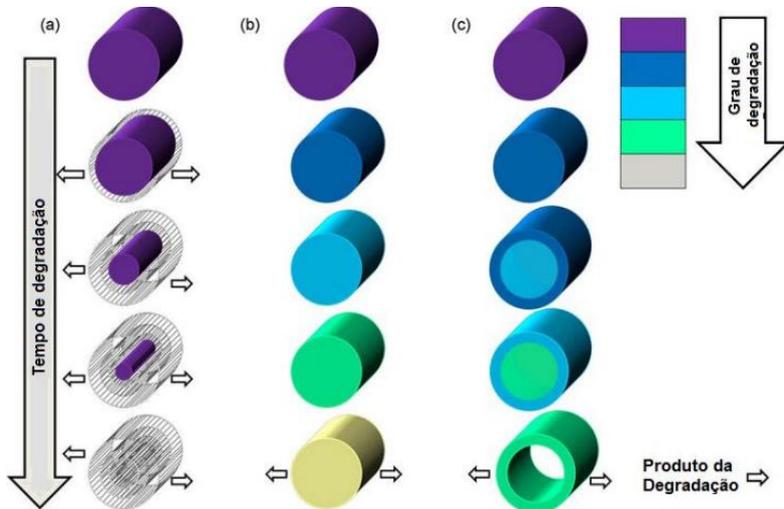


Figura 20. Modelos de degradação para polímeros biodegradáveis: Erosão da superfície (a), degradação volumétrica (b) e degradação volumétrica com autocatálise (c) [91] (Adaptado).

De modo mais específico tem-se a degradação dos poli (α -hidroxi) ésteres, classe que contempla os PLGAs como constituintes. Neste caso é importante destacar dois caminhos principais de degradação: a degradação por erosão da superfície e a degradação volumétrica. A Figura 20 apresenta uma representação esquemática destes fenômenos de redução de massa.

No primeiro caso (letra a) pode ser observado o fenômeno de erosão da superfície onde a perda de massa é exclusivamente de fora para dentro, sempre que a difusão das moléculas de água, por exemplo, seja mais lenta que o desprendimento de fragmentos da superfície. A vantagem deste mecanismo é a maior facilidade em prever o sentido de degradação.

No segundo caso (letra b) a degradação volumétrica ocorre quando a água penetra na matriz polimérica de forma homogênea, causando hidrólise em toda ela. Neste evento verifica-se um equilíbrio entre a hidrólise das cadeias, sua difusão e a erosão. Se ocorrer algum distúrbio, este equilíbrio pode ser desfeito e pode ocorrer uma variação do mecanismo conhecido como autocatálise via grupos carboxílicos e hidroxílicos (letra c). Esta autocatálise na degradação volumétrica provoca um gradiente ácido na parte interna do corpo, fazendo com que

ocorra uma degradação acelerada neste local em comparação com a superfície. Os oligômeros gerados nas regiões centrais podem facilmente difundir para superfície. Este efeito, acompanhado da presença de produtos ácidos pode resultar em reações inflamatórias. Vale ressaltar que a degradação de dispositivos implantados no corpo humano, objeto de interesse deste trabalho, tende a apresentar um aumento na taxa de difusão e conseqüente degradação do mesmo devido à temperatura corporal situada em torno de 37 ° C, variações no pH e ainda eventuais esforços que podem aumentar a probabilidade de quebra das ligações [91].

2.10. Degradação *in vitro* versus *in vivo*

Os métodos *in vitro* limitam o número de variáveis experimentais, obtendo dados significativos mais facilmente além do período de teste ser, em muitos casos, mais curto. Tais características apresentam vantagens em relação aos *in vivo*. Além disso, é possível selecionar os produtos mais adequados para a aplicação *in vivo*, minimizando a quantidade de aplicações em estudo com animais experimentais. Testes com culturas celulares são reprodutíveis, rápidos, sensíveis e financeiramente acessíveis para a execução do estudo de biocompatibilidade *in vitro*.

Em estudos *in vivo*, o processo de biodegradação e bioreabsorção é um mecanismo complexo de eventos celulares e bioquímicos. Com o implante do material sintético o organismo promove uma típica resposta à uma reação inflamatória de corpo estranho. A influência na degradação pela presença de peróxidos, enzimas e células fagocitárias, representa ainda hoje um importante enfoque nas pesquisas dos polímeros bioreabsorvíveis. A degradação *in vitro* mostra-se como uma boa alternativa quando comparados aos estudos *in vivo*, sendo fundamentais e necessários. Os custos são menores, o processo pode ser acelerado e as condições do ensaio, como temperatura, pH, produtos e subprodutos de degradação, podem ser quantificados e monitorados [29, 79, 92].

Um trabalho realizado por LANDES et. al. (2006) [93] avalia e compara as taxas de degradação do poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), com razão molar 85:15, em pacientes com o copolímero implantado na região craniofacial *in vitro*. Foram avaliados cinco pacientes com osteossíntese do PLGA 85:15 (mulheres e homens, 26-55 anos, com média de 33 anos) após 3, 6, 9, 12, 18 e 24 meses da cirurgia para o implante. O peso molecular médio de PLGA diminuiu de 44.600 a 22.000 após 3 meses em pacientes e *in vitro*, e para 11000 e 1300 em pacientes *in vitro* aos 6 meses. No meio hospitalar e em temperaturas de

transição de vidro-vidro diminuiu de 60° C a 50° C ao longo de 18 meses. A cristalinidade, em implantes foi 16% e 30% em PLGA aos 6 e 12 meses, respectivamente. O copolímero foi decomposto de forma confiável em pacientes no prazo de 12 meses ($p < 0,005$). In vitro, as taxas eram significativamente mais rápida ($p < 0,005$). A cristalinidade associada a reações de corpo estranho foi menor e não inibiu a decomposição.

2.11. REFERÊNCIAS

- [1] RECUM, A. F. Biomaterials: Educational Goals. In: Annual Biomaterials Society Meeting. Boston, MA: Biomaterials Society. 1994.
- [2] HENCH, L. L; ERTHRIDGE, E. C.. Biomaterials: An Interfacial Approach, Noordergraaf, Ed. New York: Academic Press. vol. 4, A. 1982
- [3] MIDDLETON, J. C.; TIPTON, A. J. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. Biomaterials. Volume 21, Issue 23. p 2335-2346. 2000.
- [4] MAZZONETTO, R. A. Utilização de Sistema de Fixação Rígida Reabsorvível em Cirurgia Ortognática. Órgão Oficial do Colégio Brasileiro de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo- Facial. Ano 5, n. 21, 2000.
- [5] KOHN J., R. LANGER. Materiais bioabsorvíveis e biodegradáveis. Ciência Biomateriais, Academic Press, Nova Iorque. pp. 64-72. 1996
- [6] GILDING, D. K.; REED, A. M.. Biodegradable polymers for use in surgery — polyglycolic/poly(lactic acid) homo — and copolymers: 1. Polymer, vol 20, pp. 1459–1464. 1979
- [7] PELTONIEMI H., ASHAMMAKHI N., KONTIO R., WARIS T., SALO A., LINDQVIST C., GRÄTZ K., SUURONEN R. The use of bioabsorbable osteofixation devices in craniomaxillofacial surgery. Oral Surg Oral Med Oral Pathol radiol Endod. n. 1, v. 94, p. 5-14, 2002.
- [8] MONTAG, M. E.; MORALES JR., L.; DAANE, S. Bioabsorbable: Their Use in Pediatric Craniofacial Surgery. J Craniofacial Surg, v. 8, n. 2, p.100-102, mar. 1997
- [9] MANAVITEHRANI, I.; FATHI, A.; BADR, H.; DALY, S.; NEGAHI SHIRAZI, A.; DEGHANI, F. Biomedical Applications of Biodegradable Polyesters. Polymers. , 8, 20. 2016.
- [10] NATHAN A, KOHN J. Amino acid derived polymers. In: Shalaby SW, editor. Biomedical polymers Designed to degrade systems. New York: Hanser, p. 117-251. 1994.

- [11] PIETRZAK WS, SARVER DR, VERSTYNEN BS. Bioabsorbable polymer science for the practicing surgeon. *J. Craniofacial Surg*;2:87-91. 1997
- [12] LIMA L. T., AURASB R., RUBINOB M. Processing technologies for poly(lactic acid). *Progress in Polymer Science*: v. 33 p 820–852. 2008.
- [13] MARTEN, E.; MÜLLER, R. J.; DECKWER, W. D. Studies on the enzymatic hydrolysis of polyesters I. Low molecular mass model esters and aliphatic polyesters. *Polymer degradation Stability*. p. 485–501, 2003.
- [14] VERT, M.; LI, M. S.; SPENLEHAUER, G. & GUERIN, P. Bioresorbability and Biocompatibility of Aliphatic Polyesters. *Journal of materials science. Materials in medicine*. vol:3 iss:6 pg:432 -446. 1992.
- [15] CICCONE, W., Motz, C., Bentley, C., Tasto, J. Bioabsorbable Implants in Orthopaedics: New Developments and Clinical Applications. *J Am Acad Orthop Surg*; vol. 9: p. 280-288. 2001.
- [16] BERGSMA, J.E.; BRUIJN, W.C.; ROZEMA, F.R.; Bos, R.R.M.; BOERING, G. Late degradation tissue response to poly(L-ácido láctico) bone plates and screws. *Biomaterias*. Volume 16, Issue 1, Pages 25-31. 1995.
- [17] GUNATILLAKE, P., MAYADUNNE, R., & ADHIKARI, R. Recent developments in biodegradable synthetic polymers. *Biotechnology Annual Review*. 12, 301–347. 2006.
- [18] CEONZO K, GAYNOR A, SHAFFER L, KOJIMA K, VACANTI CA, STAHL GL. Polyglycolic acid induced inflammation. *Tissue Engineering*. 2006; 12:301–308
- [19] OTTO J, BINNEBOSEL M, PIETSCH S, ANUROV M, TITKOVA S, OTTINGER AP, JANSEN M, ROSCH R, KAMMER D, KLINGE U. Large-Pore PDS Mesh Compared to Small-Pore PG Mesh. *Journal of Investigative Surgery: the Official Journal of the Academy of Surgical Research*. 23:190–196. 2010
- [20] MAURUS PB, KAEDING CC. Bioabsorbable implant material review. *Operative Techniques in Sports Medicine*. 12:158–160. 2004.
- [21] MILLER RA, BRADY JM, CUTRIGHT DE. Degradation rates of oral resorbable implants (polylactates and polyglycolates): Rate modification with changes in PLA/PGA copolymer ratios. *Journal of Biomedical Materials Research*. 11:711–719. 1977.
- [22] VANDROVCOVÁ M., BAČÁKOVÁ L. Adhesion, Growth and Differentiation of Osteoblasts on Surface Modified Materials Developed for Bone Implants. *Physiol. Res*. 60: 403-417, 2011.

- [23] CHUNG HJ, KIM IK, KIM TG, PARK TG. *Tissue Engineering Part A*. 2008; 14:607–615.
- [24] ZHU XH, LEE LY, JACKSON JSH, TONG YW, WANG C-H. *Biotechnology and Bioengineering*. 2008; 100:998–1009.
- [25] SIMPSON RL, WIRIA FE, AMIS AA, CHUA CK, LEONG KF, HANSEN UN, CHANDRASEKARAN M, LEE MW. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2008;84B:17–25.
- [26] SPALAZZI JP, VYNER MC, JACOBS MT, MOFFAT KL, LU HH. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2008; 466:1938–1948.
- [27] BASHUR CA, DAHLGREN LA, GOLDSTEIN AS. *Biomaterials*. 27:5681–5688. 2006;
- [28] AVISS KJ, GOUGH JE, DOWNES S. *European Cells & Materials*. 19:193–204. 2010;
- [29] GE Z, WANG L, HENG BC, TIAN X-F, LU K, FAN VTW, YEO JF, CAO T, TAN E. *Journal of Biomaterials Applications*. 23:533–547. 2008;
- [30] AVISS KJ, GOUGH JE, DOWNES S. *European Cells & Materials*. 19:193–204. 2010;
- [31] WEST ER, XU M, WOODRUFF TK, SHEA LD. *Biomaterials*. ;28:4439–4448. 2007
- [32] YU NY, SCHINDELER A, PEACOCK L, MIKULEC K, BALDOCK PA, RUYS AJ, LITTLE DG. *European Cells & Materials*. 22:431–442. 2010;
- [33] ABBARZADEH E, STARNES T, KHAN YM, JIANG T, WIRTEL AJ, DENG M, LV Q, NAIR LS, DOTY SB, LAURENCIN CT. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105:11099–11104. 2008;
- [34] ANDREAS K, ZEHBE R, KAZUBEK M, GRZESCHIK K, STERNBERG N, BAUMLER H, SCHUBERT H, SITTINGER M, RINGE J. *Acta Biomaterialia*. 2011
- [35] TANAKA Y, YAMAOKA H, NISHIZAWA S, NAGATA S, OGASAWARA T, ASAWA Y, FUJIHARA Y, TAKATO T, HOSHI K. *Biomaterials*. 2010;31:4506–4516.
- [36] SPALAZZI JP, VYNER MC, JACOBS MT, MOFFAT KL, LU HH. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 466:1938–1948. 2008;
- [37] BHANG SH, LIM JS, CHOI CY, KWON YK, KIM B-S. *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition*. 18:223–239. 2007;

- [38] OLSON HE, ROONEY GE, GROSS L, NESBITT JJ, GALVIN KE, KNIGHT A, CHEN B, YASZEMSKI MJ, WINDEBANK AJ. *Tissue Engineering Part A*. 15:1797–1805. 2009;
- [39] PARK, J. B. & BRONZINO, J. D. *Biomaterials: principles and applications*, p. iii. Boca Raton, FL: CRC Press LLC. 2003.
- [40] PURCELL P.M., BOYD I.W. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw. *Med J Aust*. 182:417–418. 2005.
- [41] YONEDA, A.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; SHIMANO, A. C. Propriedades mecânicas de um sistema de osteossíntese de estabilidade relativa. *Acta ortop*. 2008, vol.16, n.1
- [42] PATTERSON, R. The Le Fort fractures: René Le Fort and his work in anatomical pathology. *Can J Surg*. 1991; 34:183–184.
- [43] CRUZ, R. L.; COSTA, E. A. Fraturas de maxila, In: PSILAKIS, J.M.; ZANINI, S.A.; MÉLEGA, J.M.; CRUZ, R.L. *Cirurgia Craniocraniofacial: Osteotomias Estéticas da Face*. Rio De Janeiro: Medsi, p.515-534, 1987.
- [44] GRAZIANI, Mário. Anatomia Aplicada, In: GRAZIANI, M. *Traumatologia Craniofacial*. RIO DE JANEIRO:Guanabara Koogan, p. 176-183, 1982 .
- [45] NAM SB, NAM KW, LEE JW, SONG KH, BAE YC. Treatment of Nonsyndromic Craniosynostosis Using Multi-Split Osteotomy and Rigid Fixation with Absorbable Plates. *Arch Craniofac Surg*. 2016 Dec;17(4):211-217.
- [46] DONAT TL, ENDRESS C, MATHOG RH. Facial fracture classification according to skeletal support mechanisms. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, Dec;124(12):1306-14 1998.
- [47] BAILEY, B. J. *Head and Neck Surgery-Otolaryngology*. Philadelphia, JB Lippincott Company, vol. 1, cap.65-69. 2001.
- [48] CUMMINGS, CW. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. St. Louis, USA, Mosby Year Book. vol. 1. 1993.
- [49] BAILEY, B. J. *Head and Neck Surgery-Otolaryngology*. Philadelphia, JB Lippincott Company, vol. 1, cap.65-69. 2001.
- [50] NETTER, F. H. *Atlas de Anatomia Humana*. 2ed. Porto Alegre: Artmed. 2000.
- [51] FILHO, J.R.L.; CAMARGO, I.B.; FERREIRA, D.M.R.; BARROS, T.Q. - Fixação interna rígida reabsorvível. *Rev. Cir. Traumat. Buco - Maxilo-Facial*, v.2, n.2, p. 31-40, jul/dez - 2002
- [52] QUERESBY, F. A. et al. The Efficacy of Bioresorbable Fixation in the Repair of Mandibular Fractures: An Animal Study. *J Oral Maxillofac Surg*. v. 58, p. 1263-1269, 2000.

[53] EPPLEY, B., D.M.D.; SADOVE, M.; HAVLIK, R. Resorbable Plate Fixation in Pediatric Craniofacial Surgery. *Plast Rec Surg.* 1997

[54] EPPLEY, B. L.; PREVEL, C. D. Nonmetallic Fixation in traumatic Midfacial Fractures. *J Craniofacial Surg.* v. 8, n. 2, p.103-109, mar. 1997 .

[55] EDWARDS, R. C.; KIELY, K. D.; EPPLEY, B. L. Resorbable Fixation Techninque for Genioplasty. *J Oral Maxillofac Surg.* v. 58, p.269-272, 2000.

[56] SHAND, J. M.; HEGGIE, A. A. C. Use of a Resorbable Fixation System in Orthognathic Surgery. *British J Oral and Maxillofac Surg.* v. 38, p. 335-337, 2000.

[57] HAERS, P. E.; SUURONEN, R.; LINDQVIST C.; SAILER, H. Biodegradable poly(lactide) plates and screws in orthognathic surgery: technical note. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery.* vol.26,p. 87-91. 1998.

[58] HOLMES RE, COHEN SR, MELTZER H, et al. MacroPore resorbable devices in craniofacial surgery. *Clin Plastic Surg.* Vol. 31. p. 393– 406. 2004.

[59] BAKELEN, N.B; BUIJS, G.J.; JANSMA, J.; VISSCHER, J.G.A.M.; HOPPENREIJS, Th.J.M.; BERGSMA, J.E.; STEGENGA, B.; BOS, R.R.M. Decision-making considerations in application of biodegradable fixation systems in maxillofacial surgery – a retrospective cohort study. *J Craniomaxillofac Surg*, 42 (2014), pp. 417–422.

[60] WITTWER, G, ADEYEMO, Wl, WAGNER, A, ENISLIDIS, G. Computer-guided flapless placement and immediate loading of four conical screw-type implants in the edentulous mandible. *Clin Oral Implants Res.* Vol 8(4):534-9. 2007.

[61] MINGRONE M. D., MD; JENNIFER P. PORTER, MD; DAVID B. LOVICE, MD; MICHAEL J. KEENAN, MD; KEVIN O'GRADY, BS; TAPAN K. BHATTACHARYYA; DEAN M. TORIUMI, MD. The Effects of Resorbable Plates on Rabbit Ear Cartilage. *Arch Facial Plast Surg.* 1999;1(3):177-181.

[62] BIRLEY, A. W.; BATCHELOR, J.; HAWORTH, B. *Physics of Plastics.* Munich: Hanser Gardner, 1997.

[63] WEILER, A. et al. Pull-Out Force and Stiffness. *The American Journal of Sports Medicine Exhibits.* Sports Medicine, 1998.

[64] GIBBONS, D.F. Tissue response to resorbable synthetic polymers. In Plank, H., Dauner, M., and Renardy, M., eds. *Degradation Phenomena on Polymeric Biomaterials.* New York: Springer-Verlag, 1992, pp. 97-104.

- [65] LEENSLAG, J.W., Pennings, A.J., Bos, R.R.M., Rozema, F.R., and Boering, G. Resorbable materials of poly(L-ácido láctico): VI. Plates and screws for internal fracture fixation. *Biomaterials* 8, 70, 1987.
- [66] HYON, S.H.; JAMSHIDI, K.; IKADA Y. Synthesis Of Polylactides With Different Molecular Weights. *Biomaterials*, 18, p.1503-1508. 1997.
- [67] CHIN-PING FUNG. Manufacturing process optimization for wear property of fiber-reinforced polybutylene terephthalate composites with grey relational analysis, *Wear*, Volume 254, Issues 3–4, February 2003, Pages 298-306
- [68] ROSATO, D. V. Injection molding. Holanda: Kluwer. 3rd ed. 2000.
- [69] GHOSH, S. et al. Effect of Processing Conditions on Morphology and Mechanical Properties of Injection-Molded Poly (L - lactic acid). *Engineering*, 2007.
- [70] VIEIRA, A.C.; VIEIRA, J.C.; FERRA, J.M.; MAGALHÃES, F.D.; GUEDES, R.M. e MARQUES, A.T. Mechanical study of PLA-PCL fibers during in vitro degradation. *Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Materials*, v. 4, p. 451-460, 2011.
- [71] BODMEIER, R.; CHAN, H. Evaluation of biodegradable poly(ácido láctico) pellets prepared by direct compression. *J. Pharmaceut. Sci.* 78, 819, 1989.
- [72] GUIWEI D., GUOQUN Z., YANJINGUAN, SHUAI L., XIA OXIN W. Formation mechanism and structural characteristics of unfoamed skin layer in microcellular injection-molded parts *Journal of Cellular Plastics*. Vol 52, Issue 4, pp. 419 - 439
- [73] ROSATO, Don. V.; ROSATO, Dom. V. *Injection Molding Handbook*. London: Chapman & Hall, 1994.
- [74] CAVALHEIRO, A. Z., Influência dos parâmetros de moldagem na estrutura e propriedades de peças de paredes espessas e finas de polipropileno isostático injetadas em moldes-protótipo fabricados por vazamento de resina EPÓXI. Florianópolis: Tese de Doutorado 246p. UFSC, 2007.
- [75] MALLOY R. A. *Plastic Part Design for Injection Molding: An Introduction*. Hanser Publishers, 1994 - Technology & Engineering - 460 pages.
- [76] JOHANNABER, F. *Injection Molding Machines*. Carl Hanser Verlag GmbH & Co. KG Edition: 4th Edition Year: 2007. Pages: 390.
- [77] VIANA, J. Structural interpretation of the strain-rate, temperature and morphology dependence of the yield stress of injection

molded semicrystalline polymers. *Polymer*, v. 46, n. 25, p. 11773–11785, nov. 2005.

[78] ALMEN, J. O., BLACK, P. H., *Residual Stresses and Fatigue in Metals*. New York, MacGraw Hill, Book Company, 1963.

[79] BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A. C. *Polímeros Bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos*. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 15, n° 1, p. 13-21, 2005

[80] BENDIX, D. Chemical synthesis of polyácido láctico and its copolymers for medical applications. *Polymer Degradation and Stability*. Volume 59, Issues 1–3, 3 January 1998, Pages 129–135

[81] LI, S. Hydrolytic degradation characteristics of aliphatic polyesters derived from lactic and glycolic acids. *Journal of Biomedical Materials Research*. Volume 48, Issue 3, pages 342–353, 1999.

[82] FISCHER, E. W., GODDAR, H., SCHMIDT, G. F. Determination of degree of crystallinity of drawn polymers by means of density measurements. *Journal of Polymer Science Part A-2: Polymer Physics* Provider: John Wiley & Sons, Ltd. (1) 1542-9377. 1969.

[83] MIKOS, A. G. & TEMENOFF, J. S. Formation of highly porous biodegradable scaffolds for tissue engineering. *J. Biotechnol.*, 3, p.114 (2000).

[84] LU, L.; PETER, S. J.; LYMAN, M. D.; LAI, H.; LEITE, S. M.; TAMADA, J. A.; VACANTI, J. P.; LANGER, R.; MIKOS, A. G. *Biomaterials*, 21, p.1595 (2000).

[85] FILHO, J.R.L.; CAMARGO, I.B.; FERREIRA, D.M.R.; BARROS, T.Q. Fixação interna rígida reabsorvível. *Rev. Cir. Traumat. Buco - Maxilo-Facial*, v.2, n.2, p. 31-40. 2002

[86] TURVEY T.A.; BELL R.B.; TEJERA T.J.; PROFFIT W. R. The use of self-reinforced biodegradable bone plates and screws in orthognatic surgery. *J Oral Maxillofac Surg*. v. 60, p. 59-65, 2002.

[87] LI, S.; GARREU, H.; VERT, M. Structure-property relationships in the case of the degradation of massive poly(α -hydroxy acids) in aqueous media. *Journal of Materials Science: Materials Medicine*. Vol 1, p.198-206, 1990.

[88] ALI, S.A.M.; ZHONG, S. P.; DOHERTY, P. J.; WILLIAMS, D. F. Mechanisms of polymer degradation in implantable devices: I. Poly(caprolactone). *Biomaterials*. Volume 14, Issue 9, July 1993, Pages 648–656

[89] CRUZ, R. L.; COSTA, E. A. Fraturas de maxila, In : PSILAKIS, J.M.; ZANINI, S.A.; MÉLEGA, J.M.; CRUZ, R.L. *Cirurgia Craniocraniofacial: Osteotomias Estéticas da Face*. RIO DE JANEIRO: MEDSI, p.515-534, 1987

[90] CIAPETTI G, VERRI E, GRANCHI D, CENNI E, GAMBERINI S, BENETTI D, MIAN M, PIZZOFERRATO A. In vitro assessment of phagocytosis of bovine collagen by human monocytes/macrophages using a spectrophotometric method. *Biomaterials*. 1996 Sep;17(17):1703-7.

[91] WOODRUFF, M.A.; HUTMACHER, D.W. The return of a forgotten polymer-Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science*, v. 35, p. 1217-1256, 2010.

[92] LANDES CA, BALLON A, ROTH C. Maxillary and mandibular osteosyntheses with PLGA and P(L/DL)LA implants: a 5-year inpatient biocompatibility and degradation experience. *Plast Reconstr Surg*. 2006 Jun;117(7):2347-60.

[93] KIREMITÇI-GÜMÜSDERELIOĞLU, M.; DENİZ, G. Synthesis, Characterization and in Vitro Degradation of Poly(DL-Lactide)/Poly(DL-Lactide-co-Glycolide) Films. *Turk J Chem* 23 (1999), 153 - 161.

I. CAPÍTULO: INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE PROCESSO NO COMPORTAMENTO MECÂNICO E MORFOLOGIA DO PLGA MOLDADO POR INJEÇÃO

I.1. OBJETIVO

O presente capítulo tem como objetivo investigar a influência da temperatura do fundido e da vazão de moldagem por injeção em relação às propriedades mecânicas e morfológicas do copolímero bioreabsorvível poli (ácido láctico-co-ácido-glicólico), através de ensaios de resistência à tração e ensaios dinâmicos-mecânicos. O capítulo visa concluir o parâmetro mais influente de moldagem por injeção e as possíveis consequências da geometria do molde, a fim de definir os parâmetros a serem utilizados na fabricação de uma placa craniofacial, cuja a descrição encontra nos Capítulos II e III.

I.2. INTRODUÇÃO

Implantes para aplicações médicas utilizando polímeros reabsorvíveis derivados de poliésteres alifáticos, poli (hidroxiácidos), são amplamente utilizados para a fixação de fratura interna, fechamento de feridas, suturas, *stents* de pequenos vasos e liberação controlada de fármacos [1,2]. Durante o processo de moldagem por injeção, os materiais poliméricos passam por um histórico termodinâmico complexo e mudanças significativas em suas propriedades reológicas, mecânicas e termoquímicas devido às grandes variações de pressão, tempos de resfriamento, geometria do molde e processo de fabricação [3-7]. As propriedades mecânicas do polímero (módulo de elasticidade aparente, resistência máxima), morfologia, cristalinidade e espessura da camada congelada também são influenciadas por parâmetros de moldagem por injeção, tais como temperatura do fundido e vazão de injeção [2, 8-11]. O poli (glicólico) e o poli (L-láctico-co-glicólico), que são os copolímeros sintéticos de ácido láctico (ou ácido α -hidroxi-propanoico) e ácido glicólico (ou ácido hidroxiacético), têm boas propriedades de formação de fibras; o histórico termomecânico pode influenciar a ductilidade e a degradabilidade dos dispositivos fabricados. [12, 13].

A cristalinidade e a espessura da camada congelada são controladas pelo efeito combinado da taxa de aquecimento e os campos de tensão impostos durante o processo de fusão [14, 15]. Ghosh e colaboradores [3] concluíram que a espessura da camada congelada de PLLA aumenta com o nível de tensão e diminui com a temperatura,

enquanto seu grau de cristalinidade aumenta com os esforços de cisalhamento e com a temperatura. Por outro lado, Pantani et al (2005) [17] indicaram que a espessura da camada congelada de poli (ácido láctido) aumenta quando o fluxo ou a temperatura do molde são mais baixas e que existe uma correlação entre os dois parâmetros. As tensões residuais e as orientações moleculares ao longo de um produto fornecem informações importantes sobre como esse produto funcionará. As tensões residuais são introduzidas por quase todas as técnicas usadas para a fabricação de polímeros e também podem ser introduzidas por fluxo não uniforme ou resfriamento. Portanto, uma avaliação do comportamento mecânico e das características estruturais do PLGA resultante de parâmetros de moldagem por injeção distintos de polímeros absorvíveis pode proporcionar informações valiosas.

Neste estudo, a influência de diferentes condições de processamento sobre as propriedades mecânicas do PLGA é investigada. Dois grupos de amostras com geometrias diferentes (entalhadas e não entalhadas) foram moldados por injeção utilizando duas temperaturas de fusão e taxas de fluxo (baixa e alta). Essas escolhas geraram quatro condições de processamento diferentes para ambos os grupos. Para cada condição de processamento, foram avaliadas as propriedades mecânicas (módulo de elasticidade aparente, resistência final, alongamento à falha, módulo de armazenamento e tangente de perda), morfologia na superfície da fratura e tensão residual.

I.3. MÉTODOS

I.3.1. Material

Os grânulos de poli (L-ácido láctico-co-glicólico) 85/15 (Purasorb PLG 8531) foram adquiridos pela empresa PURAC BU Biomaterial (Holanda). O PLGA 85/15 possui um peso molecular médio de $M_n = 224,27 \text{ g / mol}$, um índice de polidispersão de 1,87 (Cromatografia de Permeação em Gel, Viscotek VE 2001, detector Viscotek TDA 302, EUA, 2008) e $3,04 \text{ dl / g}$ de viscosidade intrínseca (clorofórmio, 25° C , $c = 0,1 \text{ g / dl}$). As temperaturas de transição declaradas pelo fabricante são $T_g = 57 \pm 1^\circ \text{ C}$ e $T_m = 140^\circ \text{ C}$ (PURAC, 2012).

I.3.2. Fabricação dos corpos de provas

As amostras foram investigadas em dois grupos de geometrias de corpo de prova, entalhados e não entalhados, adaptados de ASTM D1822

tipo S [18] e ASTM D638 tipo V [19]. Ambos os grupos tem um formato retangular de 62 por 16 mm e uma secção transversal de 10 por 2 mm. As amostras entalhadas possuem um raio de 1,5 mm (fator de concentração de tensão de 2,4), enquanto que as amostras não entalhadas, uma secção mais estreita com um raio de 60 mm (Figura 21).

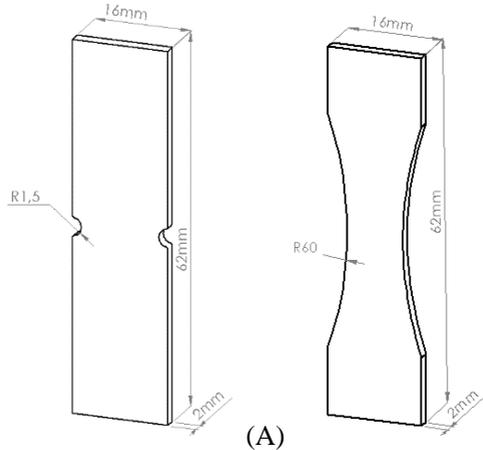


Figura 21. Amostras com entalhe (A) e não entalhadas (B), ambas de espessura 2mm. Um tipo caracteriza um entalhe que representa um concentrador de tensão agudo e outro tipo não tem entalhe, mas possui uma presença suave do concentrador de tensão.

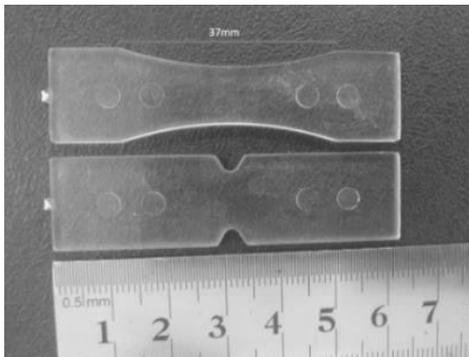


Figura 22. Região reduzida dos corpos de prova utilizados para testes de tração.

A região reduzida dos corpos de provas (posição do indicador no ensaio de tração realizado) tem 37 mm de comprimento e a região com a menor área transversal tem 16 mm de largura e 2 mm de espessura, em ambos os tipos de geometria (Figura 22).

I.3.2.1. Planejamento fatorial da moldagem por injeção

Os parâmetros de processo da moldagem por injeção em baixo e alto valor de temperatura do material fundido ($T = 210^{\circ}\text{C}$ e 240°C) e de vazão de injeção ($Q = 10\text{ cm}^3\text{ s}^{-1}$ e $25\text{ cm}^3\text{ s}^{-1}$) foram investigados em cada geometria de corpo de prova apresentada ($N =$ presença de entalhe), como mostrado na Tabela 6.

Tabela 6. Planejamento fatorial da moldagem por injeção do PLGA

Nível	Variáveis de entrada		
	T	Q	N
Alto (+)	240°C	$25\text{ cm}^3\text{s}^{-1}$	Entalhe
Baixo (-)	210°C	$10\text{ cm}^3\text{s}^{-1}$	Sem entalhe

O experimento fatorial completo para as condições de injeção, com ordem de corridas aleatórias, foi realizado para a investigação sobre rigidez, tensão e deformação plástica máxima (Tabela 7).

Tabela 7. Planejamento de experimento fatorial completo para o estudo do material PLGA 85:15.

Variável Resposta	Y: Rigidez (GPa)
Fatores e níveis	Fator T: Temperatura de injeção (Níveis: T_{-1} : 210°C e T_{+1} : 240°C) Fator V: Vazão de injeção (Níveis: V_{-1} : $10\text{cm}^3/\text{s}$ e V_{+1} : $25\text{cm}^3/\text{s}$) Fator E: Presença de entalhe (Níveis: E_{-1} : sem entalhe e E_{+1} : com entalhe)
Número de tratamentos	$2^3 = 8$
Número de réplicas	3
Número de corridas	$8 \times 3 = 24$

Foram investigadas duas temperaturas de injeção de fusão (baixa e alta) e duas taxas de injeção (baixa e alta), gerando quatro condições de injeção mostradas na Tabela 8.

Tabela 8. Condições do delineamento fatorial com dois fatores e dois níveis dos parâmetros da moldagem por injeção.

Parâmetros da moldagem por injeção	
Condição I	T_{+1} : 240°C e Q_{+1} : 25cm ³ /s
Condição II	T_{+1} : 240°C e Q_{-1} : 10cm ³ /s
Condição III	T_{-1} : 210°C e Q_{+1} : 25cm ³ /s
Condição IV	T_{-1} : 210°C e V_{-1} : 10cm ³ /s

Os outros parâmetros de processamento foram mantidos os seguintes valores fixos: temperatura do molde 25 ° C, pressão de injeção 1500 MPa, pressão de retenção 25 MPa, tempo de injeção 2 s, tempo de resfriamento 90 s e velocidade do parafuso 100 rpm.

I.3.3. Caracterização mecânica

I.3.3.1. Testes de tração

Os dois tipos de corpos de prova foram testados numa máquina de ensaio EMIC, modelo DL-3000, no modo de tração de acordo com a ISO 527-1. O alongamento dos corpos de prova foi medido utilizando um extensômetro Instron / EMIC 2630-107. Os ensaios foram realizados utilizando uma velocidade de agarramento móvel de 1 mm min⁻¹ a uma temperatura ambiente controlada de 23 ° C. A célula de carga utilizada tem uma capacidade máxima de 5 kN e a pré-carga aplicada foi de 3 N. A resolução da aquisição de dados foi de 0,001. Foram testados seis corpos de prova ($n = 3$) para cada condição para cada grupo. As propriedades mecânicas investigadas foram o módulo de elasticidade aparente (tomado como o declive inicial da curva de tensão / tensão de engenharia) E ; resistência máxima (valor de tensão máximo da curva de tensão / tensão de engenharia) σ_u ; e deformação na ruptura , ε_f . Os valores de deformação na ruptura foram obtidos aplicando a Equação (1).

$$\varepsilon = \int_0^l \frac{dl}{l_0} \quad \text{Eq (1)}$$

Após a aquisição dos dados, a tensão é calculada pela relação entre a tensão usada para causar tensão nas amostras na área da seção transversal inicial (20 mm²) e o deslocamento linear calculado de acordo

com a Equação (1), resultando em curvas tensão-deformação do PLGA estudado.

I.3.3.2. Análise dinâmico-mecânica (DMA)

Utilizou-se um analisador DMA-Q800 (TA instruments) em modo single-cantilever pelo método *strain-multifrequency* para os testes viscoelásticos. A análise mecânica dinâmica (DMA) proporcionou os valores de módulo de armazenamento E' e $\tan \delta$ a uma frequência de 1 Hz dentro da faixa de temperatura de 30 ° C a 120 ° C com uma taxa de aquecimento de 3 ° C / min e uma amplitude de deslocamento transversal de 0,3 % do comprimento efetivo da amostra

I.3.4. Microscopia eletrônica de varredura

A análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para avaliar a superfície fraturada dos corpos de prova PLGA (85/15) submetidos ao ensaio de tração e observar a espessura da camada congelada e outras características morfológicas como a orientação molecular da força de cisalhamento causada pela moldagem por injeção. A análise foi realizada em todas as condições para os dois grupos de corpos de prova.

A fim de obter imagens de PLGA de boa qualidade, os corpos de prova foram fixados a um suporte com uma fita de carbono de dupla face. Para a condutividade eletrônica, os corpos de prova foram cobertos com uma fina camada de ouro em um modelo de pulverização D2 diodo Sputtering System, fabricado pela ISI (International Scientific Instruments). As superfícies fraturadas e as espessuras foram observadas utilizando um microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6390LV (FEI Company, Japão) com uma tensão de aceleração de 5 kV JEOL, localizado no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina (LCME).

I.3.5. Análise em calorímetro diferencial de varredura

Utilizou-se calorimetria de varrimento diferencial (DSC) para determinar as transições térmicas e a entalpia de tensão residual dos corpos de prova de PLGA moldados por injeção num Shimadzu DSC-6000 com uma atmosfera de nitrogênio (19 cm³ m⁻¹), utilizando como

padrão o óxido de alumínio. A taxa de aquecimento foi de $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, utilizando um peso médio de amostra de 7 mg retirado da região central dos corpos de prova moldados.

I.3.6. Tensão residual por fotoelasticidade

Como material fotoelástico, a tensão residual dos corpos de prova moldados foi avaliada pela técnica de luz polarizada com polariscópio compreendendo lentes polarizantes e quartos de onda com 250 mm de diâmetro, seguindo a norma ASTM D 4093 [20].

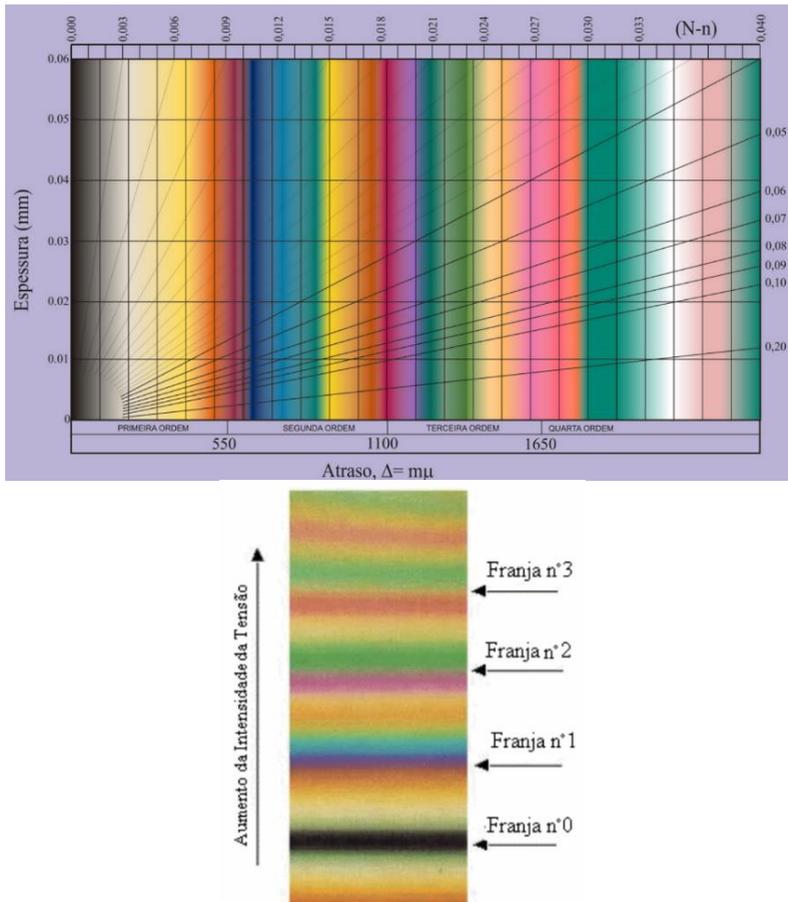


Figura 23. Ordem das franjas devido a intensidade da tensão no ensaio fotoelástico e Quadro de Michel-Levy [20].

As tensões internas do produto moldado são relacionadas aos níveis de franjas correspondente às cores de interferência (Figura 23). O Laboratório de Metrologia e Automatização/UFSC possui um polariscópio composto por lentes polarizadoras e quarto-de-onda com diâmetro de 250 mm, e pórtico de reação para aplicação dos carregamentos.

As franjas são divididas em duas classes: isoclínicas e isocromáticas. As isoclínicas representam a região em que todas as tensões principais têm a mesma direção. Os isocromáticos representam a região na qual é possível obter o ângulo entre as tensões principais (ϕ). As tensões residuais do processo de moldagem por injeção foram avaliadas, não adicionando carga para visualizar a interferência do fluxo de preenchimento do material no molde durante o processamento.

I.3.7. Tratamento estatístico dos dados

Análise de variância (ANOVA) foi realizada relacionando as propriedades mecânicas e parâmetros da moldagem por injeção, considerando um limite significativo de confiança de 95%. O valor-P foi investigado quanto à significância dos fatores.

I.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

I.4.1. Ensaio de tração e fractografia

A Figura 24 mostra as curvas de tensão versus deformação para as amostras moldadas entalhadas e não entalhadas utilizando valores baixos e elevados de temperaturas de injeção e as duas taxas de fluxo de injeção.

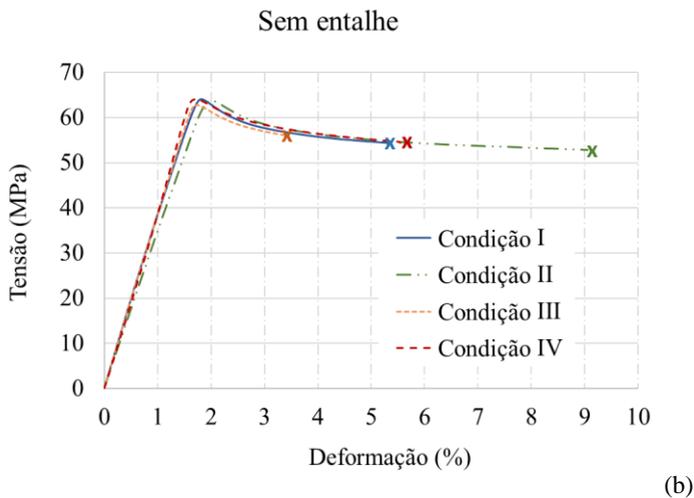
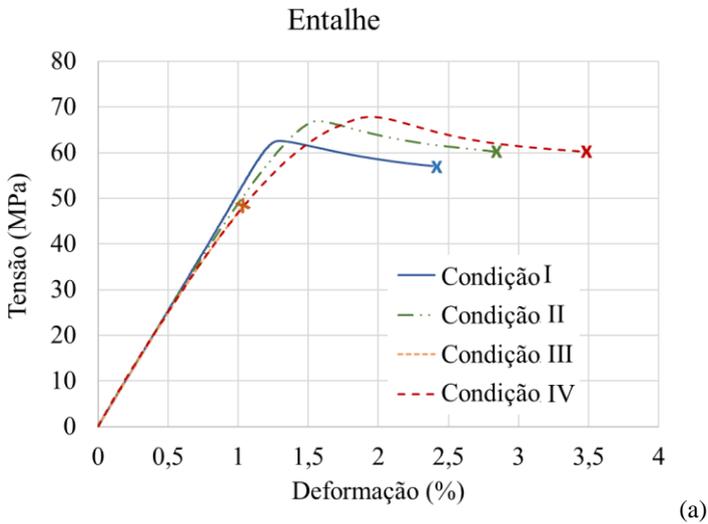


Figura 24. Curvas de tensão-deformação (médias) dos corpos de prova de PLGA moldado por injeção (a) e não entalhadas (b).

A Tabela 9 contém os valores médios de E , σ_u e ϵ_f em cada condição de injeção para ambos os grupos entalhados e não entalhados. O módulo elástico aparente E a resistência σ_u final mostram baixa sensibilidade às condições de injeção para os grupos de corpos de prova

entalhados e não entalhados. No entanto, houve um desvio padrão elevado encontrado para σ_u no grupo entalhado injetado sob a Condição III.

Tabela 9. Propriedades mecânicas das amostras PLGA entalhadas e não entalhadas injetadas sob diferentes condições de moldagem: módulo elástico aparente E ; resistência σ_u ; deformação na ruptura ϵ_f . (* $p < 0.05$)

	Condição de injeção	T_{inj} (°C)	Q_{inj} (cm ³ s ⁻¹)	E (GPa)	σ_u (MPa)	ϵ_f (%)
Entalhe	I	240	25	$5.6 \pm 0.4^*$	63.1 ± 1.2	2.7 ± 0.3
	II	240	10	4.8 ± 0.2	65.5 ± 1.4	3.3 ± 0.5
	III	210	25	4.8 ± 0.4	54.0 ± 11.0	1.9 ± 1.0
	IV	210	10	4.8 ± 0.3	67.6 ± 0.7	4.5 ± 0.3
Sem entalhe	I	240	25	3.5 ± 0.1	63.4 ± 1.1	4.3 ± 1.9
	II	240	10	3.4 ± 0.1	62.3 ± 2.3	7.1 ± 4.3
	III	210	25	3.7 ± 0.2	62.3 ± 3.0	3.4 ± 2.0
	IV	210	10	4.0 ± 0.3	64.9 ± 1.1	4.9 ± 1.1

Esta baixa sensibilidade revela um certo nível de resistência ao material. A fim de obter praticamente o mesmo valor de σ_u para ambas as geometrias, o material localizado próximo ao entalhe parece permitir que a deformação plástica durante o carregamento alcance uma distribuição de tensão quase constante antes da ocorrência de uma falha total da secção transversal (plástica). Por outro lado, é importante notar que corpos de prova, mesmo aqueles injetados nas mesmas condições, apresentaram comportamento macroscópico diferente na falha. Enquanto alguns mostraram uma formação clara de *necking*, outros fraturaram sem esta formação. Esta observação é consistente com o grande desvio padrão encontrado para ϵ_f .

A sensibilidade às condições de injeção mostrou que as condições com falha apresentaram valores médios ligeiramente maiores para as condições II e IV (baixas taxas de fluxo de injeção) do que para as condições I e III (altas taxas de fluxo de injeção), tanto para os grupos entalhados quanto para os não entalhados.

Estatisticamente, foi avaliado efeito dos fatores (isto é, temperatura, fluxo de injeção e a presença do entalhe) em relação ao

módulo (E). Através do gráfico de interações (Figura 25), pode-se observar que há diferença entre os fatores.

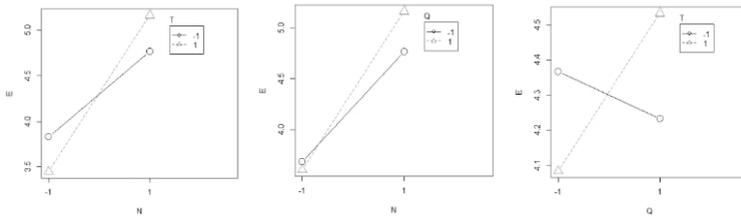


Figura 25. Gráfico de interações: temperatura (T), vazão de injeção (Q) e presença do entalhe (N) em relação ao módulo elástico aparente (E).

O gráfico de efeitos principais (Tabela 10 e Figura 26) auxilia na identificação do efeito de cada fator individualmente, isto é, verifica em qual nível do fator o efeito é mais evidente.

Tabela 10. Efeito das variáveis temperatura (T), vazão de injeção (Q) e presença do entalhe (N) em relação ao módulo elástico aparente (E).

<i>Variável</i>	<i>Limite Inferior</i>	<i>Efeito</i>	<i>Limite Superior</i>
N ₋₁	3.407479139	3.641666667	3.875854195
N ₊₁	4.732479139	4.966666667	5.200854195
T ₋₁	4.065812472	4.3	4.534187528
T ₊₁	4.074145805	4.308333333	4.542520861
Q ₋₁	3.990812472	4.225	4.459187528
Q ₊₁	4.149145805	4.383333333	4.617520861

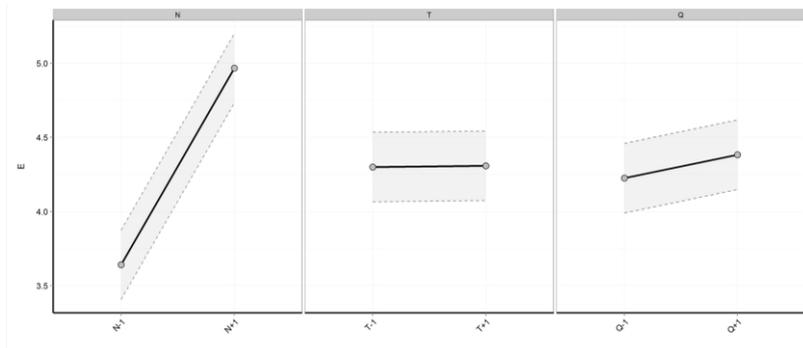


Figura 26. Gráfico de efeitos das variáveis temperatura (T), vazão de injeção (Q) e presença do entalhe (N) em relação ao módulo elástico aparente (E).

Pela tabela acima, é possível observar que a mudança do nível N_{-1} para o nível N_{+1} produz um acréscimo de $(4.97 - 3.64) = 1.33$ unidades na resposta. Ou seja, o nível N_{+1} da variável Entalhe (N), quando utilizado, oferece maiores valores de módulo aparente (E) do que quando é usado o nível N_{-1} . Isso também ocorre para T_{+1} e Q_{+1} , embora em menor escala, uma vez que para T, o acréscimo é de 0.01 unidades e, para Q, de 0.16 unidades.

Na análise, houve interação entre a temperatura e entalhe e também entre ambos separadamente, em relação ao módulo. O parâmetro vazão de injeção não mostrou relação significativa com o módulo. A presença de entalhe foi o parâmetro mais influente. A presença do entalhe resultou em maior módulo entre os corpos de prova não entalhados, na mesma condição de injeção.

Os detalhes sobre os cálculos dos efeitos dos demais fatores de resposta encontram-se no ANEXO I. Variar os fatores temperatura, vazão e entalhe influencia na rigidez e na tensão máxima, mas não influencia na tensão e deformação de ruptura.

A Figura 27 apresenta uma sequência de imagens que ilustram a localização progressiva (estiramento) antes da falha total de um dos corpos de prova entalhados injetados sob a Condição I. Nestas imagens, a capacidade do material para suportar deformação plástica é visível macroscopicamente, tal como foi mencionado ao discutir a tensão σ_u .

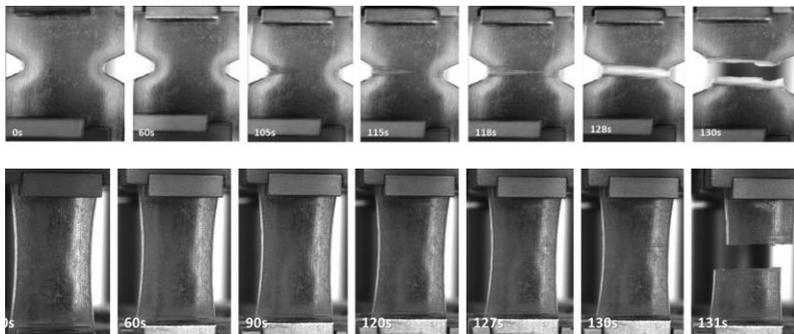
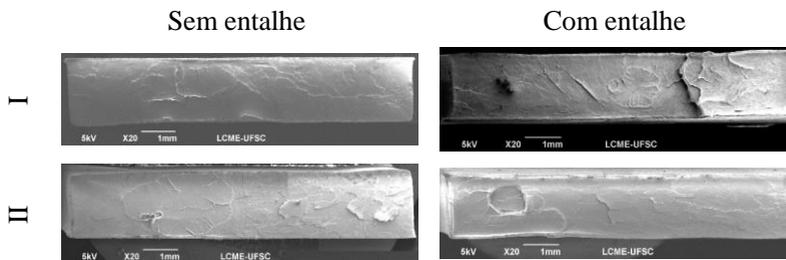


Figura 27. Sequência de imagens do teste de tração para corpos de prova entalhados (acima) e não entalhados (abaixo) injetados sob a Condição I

Vale ressaltar mais uma vez que o comportamento macroscópico diferente na falha foi observado mesmo em corpos de prova injetados sob a mesma condição.

As imagens SEM de superfícies fraturadas são mostradas na Figura 28. Estas imagens são representativas das amostras que não apresentaram uma formação de nucleação clara. Nestas figuras é possível observar superfícies planas fraturadas com algumas evidências de plasticidade, principalmente nos corpos de prova entalhados. As fraturas plásticas ao longo das bordas dos corpos de prova entalhados são claras. Isso pode estar relacionado a um comportamento diferente entre o núcleo e as bordas, possivelmente devido à existência da camada congelada. A existência de uma camada congelada mais espessa neste grupo de corpos de prova parece ser consistente com o fato de que camadas congeladas mais espessas estão relacionadas com taxas de fluxo menos elevadas, tal como visto na região entalhada deste grupo.



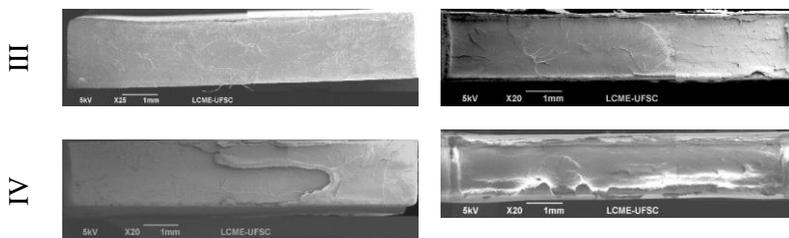


Figura 28. MEV de superfície de fratura sem entalhe (esquerda) e entalhada (direita) dos corpos de prova de PLGA moldados usando diferentes condições de processamento.

I.4.2. Análise viscoelástica

A Figura 29 mostra curvas representativas do módulo de armazenamento E' e $\tan \delta$ (sendo $\tan \delta = E'' / E'$) como funções de temperatura para corpos de prova entalhados e não entalhados. A sensibilidade do módulo de armazenamento às condições de injeção não mostrou uma clara tendência nos corpos de prova entalhados e não entalhados. Lembrando que devido às diferenças na geometria os módulos de armazenamento dos corpos de prova entalhados e não entalhados não são comparáveis. A única resposta visível é o valor mais baixo da tangente de perda ($\tan \delta$) atingido pela condição IV (temperatura e taxa de fluxo mais baixas) tanto para geometrias entalhadas como não entalhadas, caracterizando uma menor dissipação devido a micro mecanismos viscosos.

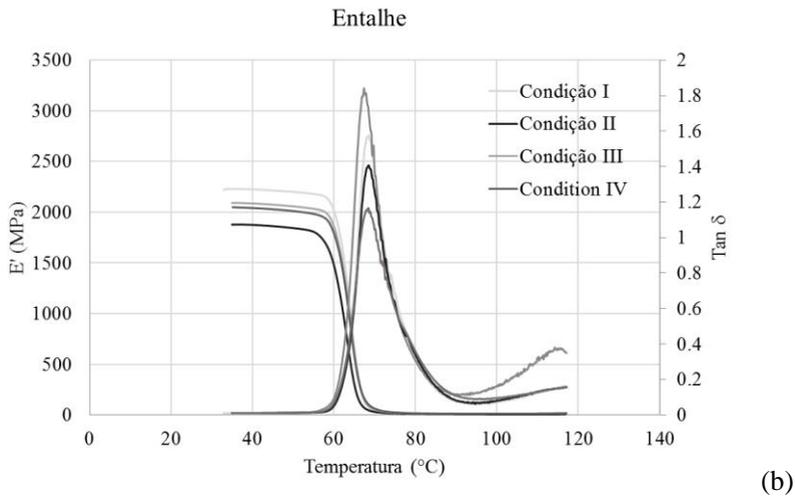
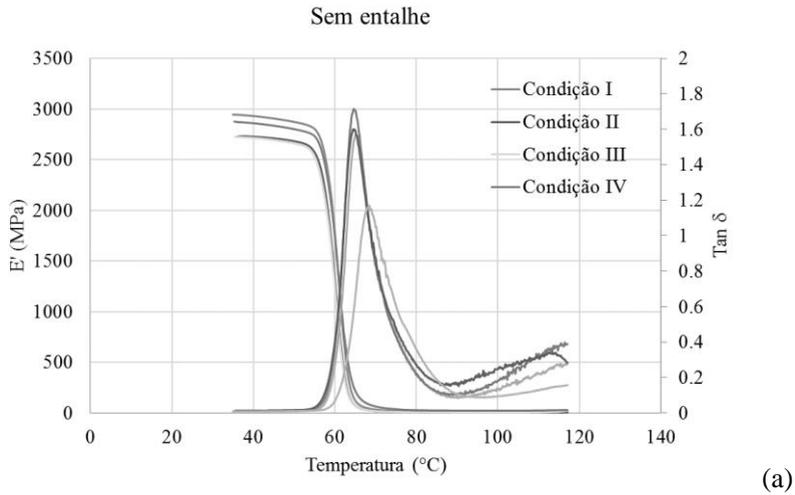


Figura 29. DMA do PLGA 85:15 em todas as condições de moldagem por injeção, comparando os corpos de prova sem entalhe (a) e com entalhe (b).

I.4.3. Tensão residual por fotoelasticidade

A moldagem por injeção de polímeros transparentes pode induzir um campo de tensão peculiar que é claramente detectado pela análise de tensão fotoelástica [20, 21]. Na Figura 30 são mostrados os mapas isocromáticos para corpos de prova entalhados e não entalhados. Notavelmente, as franjas isocromáticas têm uma distribuição de padrões assimétrica. Isto significa que a moldagem por injeção impôs um ambiente termomecânico assimétrico ao polímero injetado que está relacionado com a concentração de tensões residuais perto do ponto de injeção. A concentração de tensão diminui uniformemente no lado oposto da amostra a uma taxa diferente para cada condição de moldagem. As tensões residuais surgem durante o preenchimento e os processos de compressão. A ampla distribuição de tensões residuais presentes nos corpos de prova moldados com a temperatura mais baixa é provavelmente devido à tensão de cisalhamento não uniforme durante o preenchimento da cavidade e à rápida solidificação. Por outro lado, as tensões residuais concentradas perto do ponto de injeção presentes nos corpos de prova moldados com a temperatura mais elevada são devidas à força de compressão causada pela pressão de retenção durante a solidificação mais lenta.

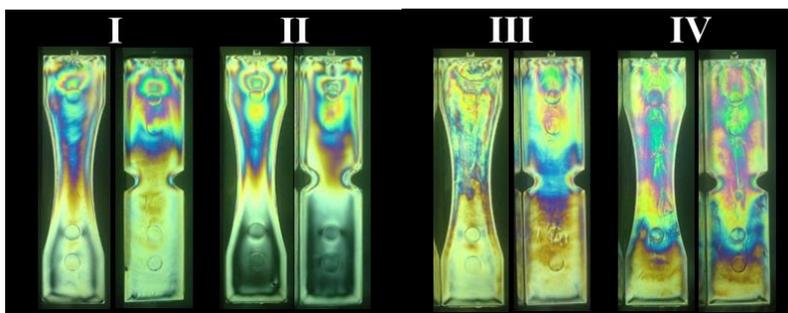


Figura 30. Franjas fotoelásticas de corpos de prova entalhados e não entalhados para as condições I, II, III, IV.

I.4.4. Calorimetria exploratória diferencial

As curvas DSC (Figura 31) mostram as transições para o pellet de PLGA e para as amostras moldadas de PLGA sob diferentes condições.

As curvas de amostras moldadas apresentam um pico endotérmico claro juntamente com a transição vítrea relacionada à entalpia de relaxamento de tensão de PLGA [23]. A tensão residual foi determinada medindo esta área do pico de entalpia de relaxamento na transição vítrea e é apresentada na Tabela 10. Os valores de entalpia de relaxamento foram maiores para os corpos de prova entalhados moldados usando as Condições III e IV, ou seja, tensões no centro dos corpos de prova na região de entalhe.

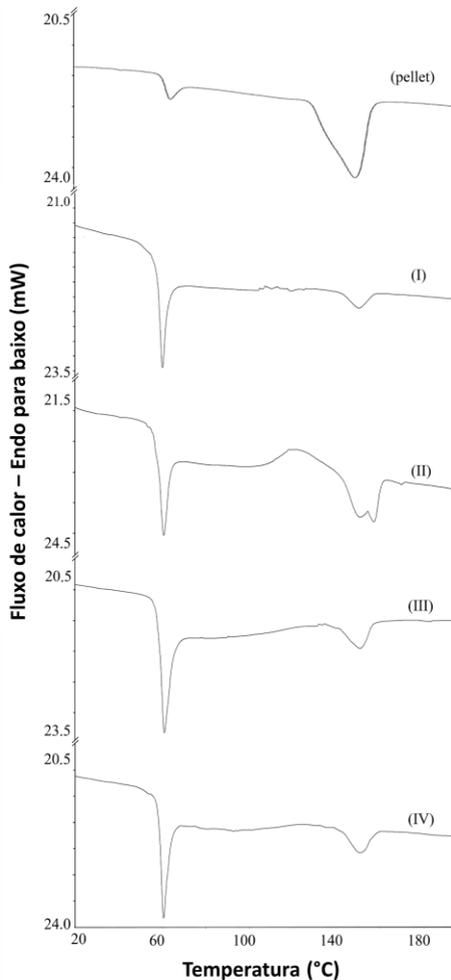


Figura 31. Curvas de calorimetria para grânulos de PLGA e corpos de prova moldados sob diferentes condições de processo (I, II, III, IV).

Tabela 11. Valores de entalpia de relaxamento para os espectros PLGA determinados por DSC.

Corpos de prova PLGA	Condição (I)	Condição (II)	Condição (III)	Condição (IV)
Sem entalhe	2,8 ($\pm 0,3$) J/g	4,2 ($\pm 0,6$) J/g	3,7 ($\pm 0,3$) J/g	3,8 ($\pm 0,5$) J/g
Com entalhe	3,6 ($\pm 0,2$) J/g	3,7 ($\pm 0,5$) J/g	5,2 ($\pm 0,3$) J/g	4,5 ($\pm 0,4$) J/g

Além disso, esta aplicação requer propriedades de flexão mais elevadas, temperatura de distorção de calor e resistência ao impacto, onde a cristalinidade é um parâmetro chave, porque aumenta a rigidez, mas reduz as propriedades de impacto [12]. A maior entalpia de relaxamento da cristalização a frio (ΔH_c) dos corpos de prova moldados usando a baixa temperatura de injeção, como mostrado na Tabela 11, sugere que a Condição III e IV apresentaram maiores tensões residuais na região central de concentração de tensão.

I.5. CONCLUSÃO

Foram encontradas propriedades mecânicas semelhantes para os corpos de prova PLGA injetados que foram moldados sob diferentes parâmetros de processamento. A morfologia das superfícies fraturadas dos corpos de prova entalhados e não entalhados mostrou fraturas planas e lisas para a maioria dos corpos de prova. O comportamento mecânico macroscópico das amostras injetadas apresentou baixa sensibilidade ao entalhe, sugerindo a existência de um certo nível de resistência ao material. As deformações apresentaram valores médios ligeiramente superiores para as Condições II e IV (baixa vazão de injeção) do que para as Condições I e III (alta vazão de injeção), tanto para os corpos de prova entalhados quanto para os não entalhados. Houve deformações localizadas perto da superfície da amostra diferente da região do núcleo. Isto pode estar relacionado com a orientação da camada congelada, especialmente nos corpos de prova entalhados. As técnicas de luz polarizada indicaram birrefringência em todas as amostras, especialmente nas moldadas sob a temperatura mais baixa, o que sugere estresse residual devido à rápida solidificação. A análise DSC confirmou a existência de estresse residual em todos os corpos de prova PLGA. Os corpos de prova moldados usando a temperatura de injeção mais baixa e menor vazão de injeção (condição IV) apresentaram menores valores de tangente de perda de acordo com DMA, maior tensão residual como mostrado por DSC e análise fotoelástica demonstraram birrefringência extensiva ao longo da amostra.

I.6. REFERÊNCIAS

- [1] L. Fambri, C. Migliaresi, K. Kesenci, E. Piskin, Biodegradable polymers, in: R. Barbucci (Ed.), *Integrated Biomaterials Science*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 119–187, 2002. ISBN 978-0-306-47583-2
- [2] J. W. Leenslag, A. J. Pennings, R. R. M. Bos, F. R. Rozema, G. Boering, Resorbable materials of poly(L-ácido láctico): VI. Plates and screws for internal fracture fixation. *Biomaterials* 8, 70, 1987. doi:10.1016/0142-9612(87)90034-2
- [3] S. Ghosh, J.C. Viana, R.L. Reis, J.F. Mano, Effect of processing conditions on morphology and mechanical properties of injection-molded poly(l-lactic acid). *Polymer Engineering and Science*, 1141-1147, 2007. <http://dx.doi.org.ez46.periodicos.capes.gov.br/10.1002/pen.20799>
- [4] D. Cardozo, Three Models of the 3D Filling Simulation for Injection Molding: A Brief Review. *Journal of Reinforced Plastics and Composites*, 2008, 27, 1963 – 1974. doi:10.1177/0731684408092386
- [5] J. C. Viana, A. M. Cunha, N. Billon, The thermomechanical environment and the microstructure of an injection moulded polypropylene copolymer. *Polymer*, 43, 4185-4196, 2002. [http://dx.doi.org.ez46./10.1016/S0032-3861\(02\)00253-7](http://dx.doi.org.ez46./10.1016/S0032-3861(02)00253-7)
- [6] Sen-lin Yang, Zhi-Hua Wu, Wei Yang, Ming-Bo Yang, Thermal and mechanical properties of chemical crosslinked polylactide (PLA), *Polymer Testing*, v27, 957-963, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2008.08.009>
- [7] L.T. Lima, R. Auras, M. Rubino, Processing technologies for poly(lactic acid). *Progress in Polymer Science*, v33, 820–852, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.05.004>
- [8] C. D. Han, *Rheology and Processing of Polymeric Materials*, Polymer Technology Oxford University Press, New York, v1, 2007. ISBN: 9780195187830

- [9] D. F. Gibbons, Tissue response to resorbable synthetic polymers. In Plank, H., Dauner, M., and Renardy, M., eds. *Degradation Phenomena on Polymeric Biomaterials*. New York: Springer-Verlag, pp. 97-104, 1992.
- [10] S. Ghosh, J.C. Viana, R.L. Reis, J.F. Mano, Bi-layered constructs based on poly(L-lactic acid) and starch for tissue engineering of osteochondral defects. *Materials Science and Engineering A*. v49, 81–89, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2006.12.012>
- [11] H. Ben Daly, B. Sanschagrin, K.T. Nguyen, K. Cole, Effect of polymer properties on the structure of injection-molded parts. *Polym Eng Sci*, v39, 1736–1751, 1999. <http://dx.doi.org.ez46.periodicos.capes.gov.br/10.1002/pen.11568>
- [12] T. Kijchavengkul, R. Auras, M. Rubino, S. Selke, M. Ngouajio, R.T. Fernandez, Biodegradation and hydrolysis rate of aliphatic aromatic polyester. *Polymer Degradation and Stability*, v95, pp. 2641–2647, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.07.018>
- [13] G. L. Racey, W. R. Wallace.; J. Cavalaris, J.V. Marguard, Comparison of a polyglycolic-polylactic acid suture to black silk and plain catgut in human oral tissues. *J. Oral Surg.* 36, 766–770, 1978. doi:10.1016/0030-4220(71)90265-9
- [14] S. H. Hyon, K. Jamshidi, Y.nIkada, Synthesis Of Polylactides With Different Molecular Weights. *Biomaterials*, 18, p.1503-1508. 1997. doi:10.1016/S0142-9612(97)00076-8
- [15] A. M. Brito, A. M. Cunha, A. S. Pouzada, R. J. Crawford, Predicting the skin-core bouldering location in injection moldings. *Intr Polymer Proc.* v4, 307-7. 1991.
- [16] H. C. Kuo, M. C. Jeng, Effects of part geometry and injection molding conditions on the tensile properties of ultra-high molecular weight polyethylene polymer, *Materials & Design*, v1, Issue 2, 884-893, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matdes.2009.07.041>.
- [17] R. Pantani, I. Coccorullo, V. Speranza, G. Titomanlio, Modeling of morphology evolution in the injection molding process of thermoplastic

polymers. *Prog. Polym. Sci.* v30, 1185–1222, 2005.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2005.09.001>

[18] ASTM D1822-13, Standard Test Method for Tensile-Impact Energy to Break Plastics and Electrical Insulating Materials, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2013. Disponível em: www.astm.org.

[19] ASTM D638-14, Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2014. Disponível em: www.astm.org.

[20] ASTM D 4093, Standard Test Method for Photoelastic Measurements of Birefringence and Residual Strains in Transparent or Translucent Plastic Materials. Conshohocken, PA: ASTM.

[21] W. Dally, and F. R. William, *Experimental Stress Analysis*, third edition, New York, 1991. ISBN-13: 978-0070152182

[22] S. Gogolewski, M. Jovanovic, S.M. Perren, J.G. Dillon, M.K. Hugues, The effect of melt-processing on the degradation of selected polyhydroxyacids: polylactides, polyhydroxybutyrate, and polyhydroxybutyrate-co-valerates. *Polym. Degrad. Stab.*, v40, pp. 313–322, 1993. DOI:10.1016/0141-3910(93)90137-8

II. CAPÍTULO: MOLDE PARA A FABRICAÇÃO DO IMPLANTE POLIMÉRICO CRANIOFACIAL POR MOLDAGEM POR INJEÇÃO

II.1. OBJETIVO

O presente Capítulo tem como objetivo a fabricação do molde de uma placa de um sistema implantável de placa-parafuso craniofacial com o material polimérico bioreabsorvível. Este Capítulo descreve o projeto e a fabricação do molde para a moldagem por injeção do implante.

II.2. INTRODUÇÃO

Na traumatologia craniofacial, a cirurgia de fixação para correção de fraturas ou assimetrias na estrutura óssea consiste no implante de placas e parafusos visando a osteossíntese e o restabelecimento da funcionalidade biomecânica da estrutura [1]. As placas têm a função de dar suporte e estabilidade à fratura, mantendo uma redução anatômica dos fragmentos, e os parafusos fixam a placa ao osso. Materiais poliméricos derivados dos poli (hidróxi-ácidos) são utilizados na engenharia biomédica como matéria-prima na fabricação desses dispositivos devido a sua biocompatibilidade e inúmeras vantagens que apresentam frente aos tradicionais implantes metálicos, além da grande sofisticação associada aos implantes bioreabsorvíveis atuais [2, 3]. O Brasil se encontra em uma posição inicial de fabricação desses dispositivos poliméricos, sendo que, em maioria, esses produtos e sua tecnologia de fabricação são importados, tornando o produto mais caro e menos acessível.

Implantes reabsorvíveis possuem a característica de resistirem aos esforços durante a consolidação óssea e serem gradualmente absorvidos, transferindo a carga exercida integralmente para estrutura óssea. O copolímero poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), produzido pela síntese de hidróxiácidos, apresenta características degradáveis e biocompatíveis, podendo ser aplicado na fabricação de implantes craniofaciais [4]. Por possuírem geometrias complexas, placas e parafusos de PLA-PGA podem ser fabricados por moldagem por injeção [5]. Em aplicações de traumatologia facial, que envolve a região do crânio, centro da face e maxilar, a definição da geometria do implante depende da anatomia do local de aplicação e da patologia a ser tratada, além da compatibilidade com a devida função biomecânica. A Figura 32

apresenta alguns exemplos de geometrias específicas de placas para cada região da face.

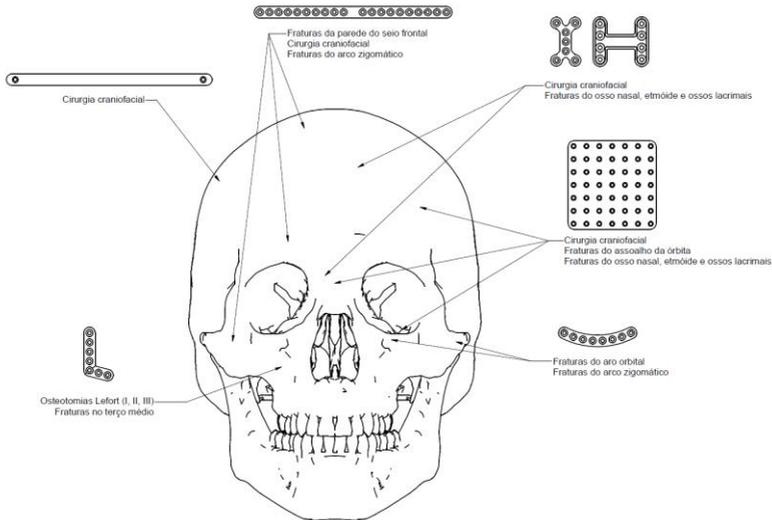


Figura 32. Modelos para o sistema placa-parafuso buco-maxilo-facial
Fonte: LEBm/UFSC.

Muitas vezes, os dispositivos médicos craniofaciais apresentam geometrias complexas que precisam ser avaliadas quanto a sua fabricação antes de obter uma produção em larga escala [6-8]. Além disso, os pontos de injeção devem ser localizados a fim de fornecer as melhores condições de fluxo em que a marca por eles deixada não afete a eficiência e a estética do produto ou que possa ser facilmente eliminada com operação posterior. O canal de entrada é a ligação entre o canal de distribuição e o componente injetado. Os canais de distribuição transferem o material fundido do bico até as entradas das cavidades. Estes devem ser projetados para distribuir simultaneamente a todas as cavidades para evitar o mau preenchimento de algumas cavidades [9].

Esse capítulo teve como objetivo desenvolver o molde de dispositivos médicos para um sistema placa-parafuso de reconstrução óssea, fabricado pelo processo de moldagem por injeção com material polimérico bioreabsorvível. Para isso, foi projetado o modelo geométrico de uma placa craniofacial que satisfaça a necessidade biomecânica funcional bem como requisitos e parâmetros de fabricação. O molde

protótipo foi, então, desenvolvido e fabricado por usinagem, projetado com os devidos canais de alimentação.

II.3.MATERIAIS E MÉTODOS

Primeiramente, foi definido o conceito geométrico da placa e canais de alimentação e selecionado o polímero a ser utilizado. Uma vez que a placa foi projetada em software CAD, adequou-se o projeto para fabricação do molde a ser utilizado na moldagem por injeção. O molde, então, foi projetado para a fabricação de quatro placas por moldagem, ou seja, foram projetados canais de injeção para distribuição em dois moldes. Finalmente, foi realizada a fabricação das placas via moldagem por injeção.

II.3.1. Projeto das placas craniofaciais

O projeto do implante tipo placa craniofacial foi projetado pelo software 3D CAD SolidWorks 2015 (Concord, MA). Com oito furos de 2.8 mm de diâmetro maior e 1.8 mm de diâmetro menor (para parafuso de rosca semicircular), espessura de 1 mm, largura de 5.8 mm e comprimento de 38.7mm (Figura 33).

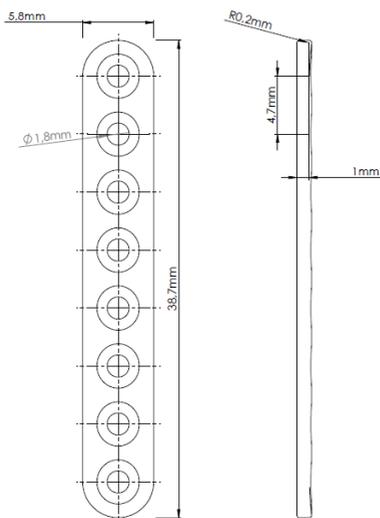


Figura 33. Dimensões do desenho em CAD da placa craniofacial.

II.3.2. Projeto do molde e canais de injeção

O projeto da geometria do implante e o inserto do negativo desta geometria, seguindo as dimensões da cavidade utilizada na injetora, foram projetados pelo software 3D CAD SolidWorks 2015 (Concord, MA). O molde da injetora segue o modelo descrito na Figura 34.

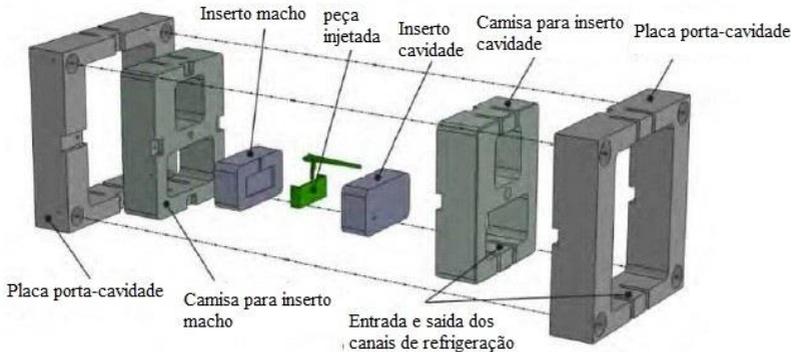


Figura 34. Cavidades e insertos do molde da máquina de moldagem por injeção [6].

II.3.2.1. Molde protótipo em composto

Para a fabricação do molde protótipo, foi utilizada a resina epóxi RENCAST CW 436 BR. O molde de resina é moldado na camisa utilizada na injetora, que tem duas partes, a fixa (sem mobilidade na injeção) e a móvel (com mobilidade). A resina é vazada na parte móvel e fixa da camisa, para estruturar o molde. Após o vazamento é feita a pós cura e o faceamento das superfícies. As dimensões da parte móvel e fixa da camisa são de 70x70x35mm cada, com uma rebarba de 5mm de espessura. Seu volume total é de 203cm³, e a massa da resina (1,6g/cm³) é de 325g.

No vazamento da resina epóxi, para a homogeneização da resina, foi utilizado um misturador simples. A haste com hélice centrífuga do agitador (mandril de baixa rotação) é mergulhada no pote de resina, inclinada e vagarosamente, sem encostar no fundo do pote, a fim de evitar o aprisionamento de ar na sua parte inferior. Esse procedimento é feito lento para evitar a formação de bolhas. A velocidade do agitador foi de

60 rpm. Em seguida, com movimentos suaves e circulares, realizou-se uma homogeneização das resinas 426 e 436 leva por cerca de 30 min.

Para a eliminação do ar que porventura foi incorporado durante a homogeneização, pode-se colocar o pote dentro do dessecador em ambiente de vácuo por 20 minutos a uma pressão inferior a 30 mmHg (absoluta). Para a mistura da resina com o endurecedor, calcula-se o volume requerido conforme proporção indicada pelo fabricante com o auxílio da balança de precisão. Para a resina epóxi 436, essa proporção é de 6%. Assim, para 325 g de resina, foi necessário 19,5 g de ligante. Os componentes foram colocados em um agitador fechado, conectado com a mangueira da bomba de vácuo. A bomba de vácuo deve ser ligada e a válvula deve ser aberta aos poucos. Após estabelecido o valor máximo de vácuo, o agitador deve ser ligado, não excedendo 60 rpm.

O tempo de mistura foi de 6 minutos. Terminada a mistura, foi equalizada a pressão no interior do misturador com a pressão ambiente. O molde onde a resina é vasada deve estar limpo e com desmoldante aplicado. Foi pincelada a resina na superfície do molde para melhor aderência. O vazamento é feito lentamente a fim de evitar bolhas. O tempo de secagem é de 48 horas em temperatura ambiente.

Após a mistura, as partes sujas do misturados devem ser limpas com papel embebido com acetona. Os materiais utilizados na limpeza devem ser descartados em recipientes apropriados. Para a pós cura do molde e faceamento, após o desprendimento do molde, os moldes são levados a forno em diferentes ciclos de pós cura, como mostra a Tabela 12.

Tabela 12. Ciclos de pós cura para molde de resina.

Etapa	Temperatura (° C)	Tempo (horas)
1	70	2
2	90	2
3	120	2
4	150	8 a 16

Esse procedimento é feito para aumentar o grau de interligação das moléculas da resina. O resfriamento foi feito a temperatura ambiente. Em seguida é feito o faceamento. Na parte inferior, onde é encaixado na injetora, o faceamento foi de 1mm. Na parte superior, 2,5mm. Pelo fato do molde ter rebarbas, foi necessário o fresamento da rebarba em 2,5 mm, para o real ajuste na camisa, obtendo, assim, o molde de resina.

II.3.3. Usinagem do molde

A cavidade do molde foi usinada no bloco de resina e em um bloco de alumínio Al 5083 por subtração, utilizando uma fresadora da marca CNC Roland MDX 540, com rotação máxima de 15000 RPM e avanço de corte de 0,01m/s, utilizando ferramenta de topo esférico de metal duro de 0,5 mm de diâmetro. Para a usinagem das cavidades do molde tanto em resina quanto em alumínio são utilizadas três fresas (Tabela 13) [10].

Tabela 13. Fresas de dois cortes helicoidais de uso geral

Código		Diâm. Ponta (mm)	Comp. Corte (mm)	Diâm. Haste (mm)	Comp. Total (mm)
205153	Reta	0,5	1,5	3	38
2133-E	Redonda	1	3	3	38
23123-E	Redonda	3	12	3	38

A nomenclatura usada segue o modelo das ferramentas da máquina ROLAND: o R significa que a ferramenta é de tipo reto e o E que é de tipo esférico. O primeiro número é o número de gumes da ferramenta, o segundo é o diâmetro da ferramenta, o terceiro é o comprimento de corte e o quarto o é comprimento total. O molde em resina e alumínio foi fabricado com tipo de corte discordante (*upcut*). Os parâmetros de corte para resina estão apresentados na Tabela 14 e para o alumínio na Tabela 15.

Tabela 14. Parâmetros de corte para resina.

	Desbaste	Primeiro acabamento	Usinagem perfil
Velocidade de corte [mm/min]	500	300	120
R.P.M. do cabeçote (Spindle) [R.P.M]	12000	12000	12000
Profundidade de corte axial (ap- cutting-in amount) [μm]	0,5	0,1	0,05
Profundidade de corte radial (ae- path rate) [μm]	1,2	0,1	0,06
Sobremetal [μm]		0	0
Ferramenta	E2-3-12-38	R2-1-3-38	R2-0,3-0,9-38

Tabela 15. Parâmetros de corte para alumínio

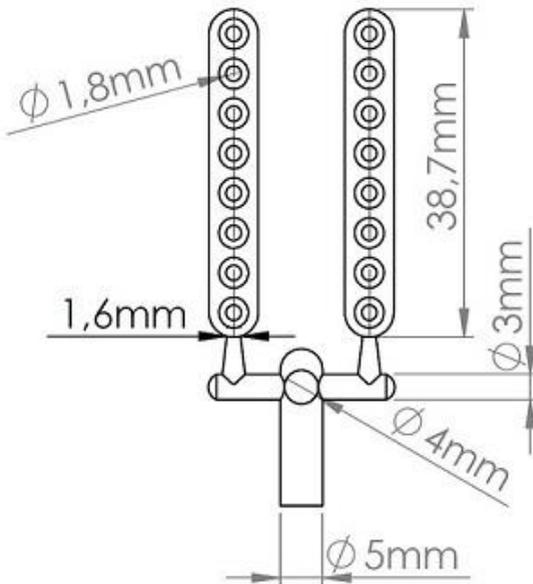
	Desbaste	Primeiro acabamento	Usinagem perfil
Velocidade de corte [mm/min]	720	120	80
R.P.M. do cabeçote (Spindle) [R.P.M]	12000	12000	12000
Profundidade de corte axial (ap- cutting-in amount) [μm]	40	30	30
Profundidade de corte radial (ae- path rate) [μm]	250	30	50
Sobremetal [μm]	-	0	0
Ferramenta	E2-3-12-38	R2-1-3-38	R2-0,5-1,5-38

II.4.RESULTADOS

II.4.1. Usinagem do perfil dos modelos

A concepção do *design* do dispositivo é caracterizada por 2 mm de espessura, 5,8 mm de largura e 38,7 mm de comprimento e por 8 furos alinhados de rosca semicircular de 2 mm, como mostra a Figura 35a.

O sistema de alimentação para cavidades múltiplas é composto por três subsistemas: canal de injeção (resultado da bucha de injeção), canais de alimentação (ou distribuição principal e secundários), entrada de injeção ou pontos de injeção (passagem do canal de alimentação para o interior da cavidade) [11]. O canal de injeção foi projetado com 5mm de diâmetro, ligando o bico da injetora aos canais de alimentação pela bucha de injeção, em formato meia lua para a adaptação em um lado do molde. Os canais de alimentação ligam o canal de injeção à entrada das cavidades [12]. Para manter a proporção e o controle da velocidade de preenchimento, o canal de distribuição foi projetado em formato cilíndrico (meia lua) com 3mm de diâmetro e a entrada de injeção projetada em formato cônico, reduzindo de 3mm de diâmetro para 1,6mm. No final da bucha e canais secundários, foi projetado um poço frio com diâmetro e profundidade iguais ao maior diâmetro do conduto. A entrada de injeção tem o posicionamento na lateral do dispositivo, como mostra a Figura 35a.



(a)

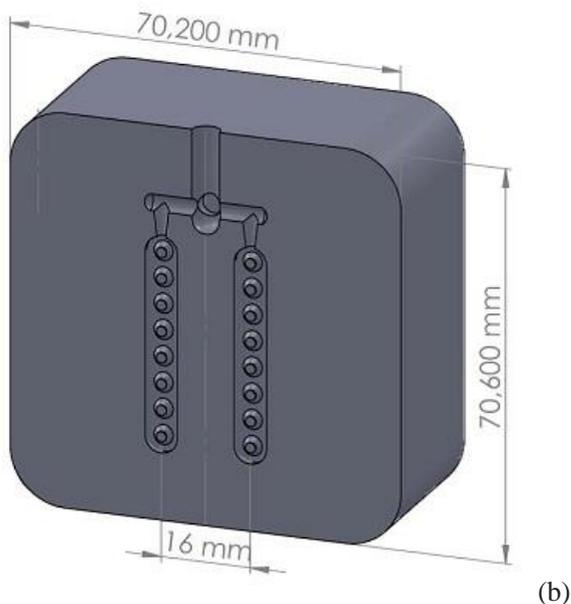


Figura 35. Dimensões da geometria do implante craniofacial (a) e o inserto para moldagem (b).

A cavidade do molde, mostrada na Figura 35b, foi projetada de acordo com o negativo do design das placas e canais, adaptando-o na posição central do bloco de alumínio de 70,6 x 70,2 mm de comprimento e largura, respectivamente.

A altura do bloco foi adaptada para o encaixe na cavidade de molde da máquina de moldagem por injeção. Para isso, foi feita a fresagem precisa na superfície do bloco a uma altura de 30,5 mm, como mostra a Figura 36.



Figura 36. Fresagem do bloco de alumínio para adaptação na cavidade da máquina de moldagem por injeção.

No processo de moldagem por injeção, a última etapa do processo é a extração da peça do molde. Nesta etapa, o molde é aberto e a peça é extraída por ação de extratores mecânicos. Na mesma máquina de fresa, foi realizada a usinagem precisa do furo extrator, para a retirada da peça do molde, quando a injeção for cumprida. Para não danificar os dispositivos na hora da extração, o furo extrator foi projetado para a extração pelo canal secundário de injeção.

Uma vez que a dimensão do bloco de alumínio foi usinada, iniciou-se a usinagem do negativo do projeto. A Figura 37 apresenta a usinagem sendo realizada. Foi realizado o mesmo processo em dois blocos de alumínio a fim de se obter quatro dispositivos por ciclo de injeção.

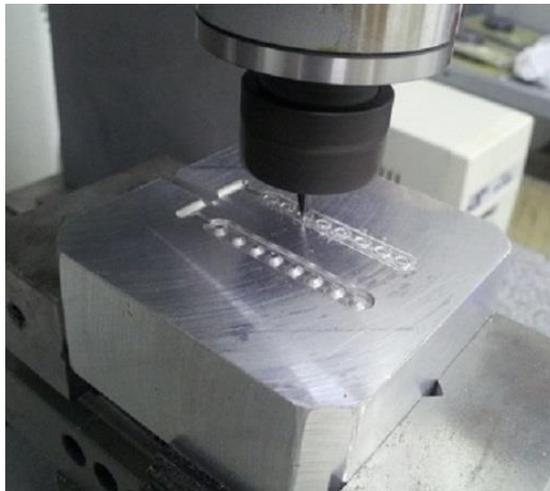


Figura 37. Usinagem da cavidade do molde das placas craniofaciais com canais de injeção.

Na moldagem por injeção, o material plastificado é pressionado para o interior do molde onde, então, sofre resfriamento e solidificação [12]. Com o molde usinado (Figura 38a), iniciou-se a moldagem por injeção dos dispositivos projetados. A fabricação de duas placas por cavidade, no total de quatro placas por ciclo de injeção, evitou o desperdício com o material, uma vez que a bucha de injeção e os canais correspondem a maior parte em massa do sistema injetável. A massa total do injetado (peças mais canais) foi de 14,5g, sendo que cada placa apresentou uma massa de 0,25g. Isto é, a bucha e os canais de injeção apresentaram 13,5g de massa e 1g para as quatro placas.

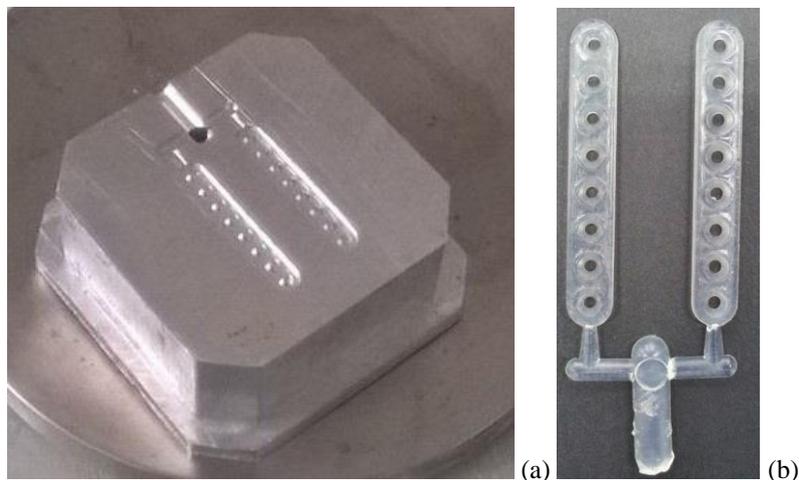


Figura 38. Molde usado (a) e dispositivo injetado com duas placas craniofaciais ligadas aos canais de injeção (b).

II.5. CONCLUSÃO

A geometria do molde apresentada permitiu a moldagem por injeção do material polimérico bioreabsorvível. O desenvolvimento de canais de injeção para igual distribuição do material no preenchimento do molde evitou desperdício de material, uma vez que permitem a fabricação de quatro placas por ciclo de injeção. Os ensaios de avaliação do processo indicaram o sucesso no controle dos parâmetros de processo utilizados. Dessa maneira, o desenho e fabricação do molde protótipo de alumínio permitiram o rápido desenvolvimento de placas craniofaciais para reparação óssea.

II.6. REFERÊNCIAS

- [1] ADAMS, K.; BEAL, M. W. Implanon: A Review of the Literature With Recommendations for Clinical Management. *Journal of Midwifery & Women's Health* v. 54, n. 2, p. 142-149, 2009.
- [2] BARBANTI, S.H.; ZAVAGLIA, C.A.C.; DUEK, E. A. R. Polímeros Bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 15, n. 1, p. 13-21, 2005.

- [3] VERT, M.; LI, S.M.; SPENLEHAUER, G.; GUERIN, P. Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters. *J. Mater. Sci: Materials in Medicine*, v. 3, p. 432 – 446, 1992.
- [4] GANGRADE, N.; PRICE, J.C. Properties of implantables pellets prepared from a biodegradable polyester. *Marcel Dekker Inc. Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.18, n.15, p. 1633-1648, 1992.
- [5] GIBBONS, D.F. Tissue response to resorbable synthetic polymers. In Plank, H., Dauner, M., and Renardy, M., eds. *Degradation Phenomena on Polymeric Biomaterials*. New York: Springer-Verlag, 1992, pp. 97-104.
- [6] MICHAELI, W.; GREIF, H.; KRETZSCHMAR, G.; EHRIG, F. *Training in Injection Molding: A text and a workbook*. Munich: Hanser. v. 2, p. 148, 2001.
- [7] PARK, S.; KIM, G.; KIM, W.; JEON, Y. C.; KOH, Y. 3D polycaprolactone scaffolds with controlled pore structure using a rapid prototyping system. *Journal of Materials Science: Material in Medicine*. v. 20, p. 229–234, 2009.
- [8] UPCRAFT, S.; FLETCHER, R. The rapid prototyping technologies. *Assembly Automation*. v. 23, n. 4, p. 318-330, 2003.
- [9] BEAUMONT, J.P. *Design Handbook*. Hanser, Munique, Alemanha, 2004.
- [10] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR ISO 3855: Fresas — Nomenclatura., 2012, 15 f.
- [11] BRYCE, D. *Plastic Injection Molding: mold design and construction fundamentals*. Dearborn: Society of Manufacturing Engineers, v. 3, p. 186, 1998.
- [12] MENGES, G.; MOHREN, P. *How to Make Injection Molds*. 2 ed. Ed. Hanser, Munique, Alemanha, 1993.

III. CAPÍTULO: PROPRIEDADES E MECANISMOS DE DEGRADAÇÃO DE UMA PLACA CRANIOFACIAL DE PLGA MOLDADA NOS LIMITES DE TEMPERATURAS DE INJEÇÃO

III.1. OBJETIVO

O Capítulo III mostra a avaliação do efeito da temperatura como parâmetro de injeção na estrutura e propriedades das placas craniofaciais de PLGA, moldadas em função, da taxa de degradação, por meio de ensaios mecânicos e físico-químicos, verificando mecanismos de hidrólise *in vitro*.

III.2. INTRODUÇÃO

Placas e parafusos craniofaciais são os principais dispositivos médicos necessários para a reparação das fraturas ósseas, que exigem propriedades mecânicas e físico-químicas específicas para dar suporte à regeneração óssea. Usualmente, utilizam-se implantes metálicos (por exemplo, titânio) para estas aplicações, mas um problema crítico relacionado com a sua utilização é o risco de corrosão, devido a liberação de uma quantidade elevada de íons metálicos que podem levar à necrose do tecido envolvendo o implante. Para evitar este problema, polímeros e copolímeros sintéticos biodegradáveis foram propostos [1-6]. Como suporte para a osteossíntese, os implantes bioreabsorvíveis, principalmente baseados em ésteres em poli- α -hidróxi, por exemplo, poli (ácido láctico), PLA e poli (ácido glicólico), PGA, evitam a cirurgia subsequente para remoção do implante e promovem o crescimento ósseo simultaneamente com a diminuição gradual da resistência mecânica. Isso permite um menor risco de osteoporose seguido pelo *stress shielding* devido à excessiva resistência [7-10].

Muitos dos problemas associados aos poli (α -hidroxiácidos) alifáticos para dispositivos médicos, isto é, composição de copolímero, proporção das formas isoméricas L e DL e porosidade, já foram resolvidos devido a um grande número de investigações conduzidas sobre estes poliésteres, especialmente relativo à síntese de polímeros [3-5, 8, 9]. No entanto, a estabilidade de propriedades mecânicas e propriedades físico-químicas também podem ser fortemente influenciadas pelo processo de fabricação e a geometria do dispositivo [10 - 14]. Uma das técnicas utilizadas na fabricação de dispositivos médicos é moldagem por

injeção, que permite a concepção e desenvolvimento de geometrias complexas como placas e parafusos.

As placas e parafusos PLGA devem possuir resistência e ductilidade adequadas para a função biomecânica, biocompatibilidade e degradação. Em particular, as temperaturas de processamento de fusão durante a moldagem por injeção poderiam desenvolver diferentes microestruturas do dispositivo fabricado, incluindo outros parâmetros operacionais, como temperatura do molde, vazão de injeção da injeção e pressão de injeção [15]. Como materiais semicristalinos, os dispositivos de PLGA são sistemas heterogêneos compostos por cristais altamente anisotrópicos, uma fase em que as cadeias apresentam uma ordem 3D de longo alcance. O tamanho e a distribuição desses cristais e a viscoelasticidade são extremamente dependentes da distribuição do peso molecular e das condições em que o material é processado [16]. Na fabricação, os parâmetros podem afetar a viscosidade e a orientação da cadeia durante o processo de dispositivos moldados, onde a cristalinidade é um parâmetro importante porque pode aumentar a rigidez de flexão e diminuir as propriedades de impacto do produto final [17, 18].

Uma vez que as propriedades dos dispositivos de polímeros reabsorvíveis são estabelecidas, a taxa de degradação deve ser avaliada. Muitos fatores podem influenciar a taxa de degradação, tais como o local do implante, estresse mecânico, distribuição de massa molar, composição química / estereoisomática, cristalinidade, morfologia, tamanho e geometria do transportador, rugosidade superficial e outros [19-26]. O processo de biodegradação e reabsorção de poli (α-hidroxiácidos) é uma sucessão de eventos. O material é inicialmente hidratado exposto aos fluidos aquosos do corpo. Com a presença de moléculas de água, o processo de degradação ocorre através da hidrólise das ligações éster, resultando em produtos sob a forma de oligômeros solúveis e não tóxicos (ou monômeros). A degradação prossegue a clivagem hidrolítica passiva, caracterizada por mudanças no peso molecular, temperatura de transição vítrea (T_g), teor de umidade e propriedades mecânicas, como resistência à tração e compressão [20, 26, 27]. Portanto, o tempo de osteossíntese deve ser inferior ao tempo da retenção de propriedades mecânicas.

O mecanismo da degradação *in vitro* dos polímeros bioreabsorvíveis tem sido avaliado nos últimos anos e demonstra ser um processo heterogêneo na extensão do material. Dentre os produtos da hidrólise das ligações ésteres, a presença de terminais ácidos catalisa a reação de degradação. É o chamado efeito auto catalítico dos poli (α-hidróxi ácidos). O processo é homogêneo inicialmente, gerando oligômeros solúveis em água em toda a extensão do material. Os produtos

presentes na superfície da matriz são difundidos para o meio, entretanto, a baixa taxa de difusão dos produtos da reação no interior do material gera um acúmulo de ácidos, fazendo com que estruturas densas tenham uma erosão inicial na superfície, mas apresentando uma degradação mais acentuada no centro. A bioreabsorvidade do material está, portanto, relacionada com os mecanismos de hidrólise, catálise ácida geral e específica [28].

Neste estudo, as placas de PLGA foram concebidas e fabricadas por moldagem por injeção como dispositivos médicos absorvíveis craniofaciais. Foram testadas duas temperaturas de fusão diferentes na última zona de aquecimento no processo de moldagem por injeção (isto é, 240 e 280 ° C). A condição de temperatura de fusão elevada foi definida como a temperatura limite de trabalho superior da fabricação por moldagem por injeção, enquanto que a temperatura mais baixa foi definida pela temperatura mínima de processabilidade. Para ambas as condições, as placas craniofaciais de PLGA foram avaliadas em termos de propriedades mecânicas (rigidez à flexão, resistência máxima à flexão, módulo de armazenamento), cristalinidade e mecanismos de degradação.

III.3. MÉTODOS

III.3.1. Material

Os grânulos de poli (L-ácido láctico-co-glicólico) 85/15 (Purasorb PLG 8531) foram adquiridos pela empresa PURAC BU Biomaterial (Holanda). O PLGA 85/15 possui um peso molecular médio de $M_n = 224,27 \text{ g / mol}$, um índice de polidispersão de 1,87 (Cromatografia de Permeação em Gel, Viscotek VE 2001, detector Viscotek TDA 302, EUA, 2008) e 3,04 dl / g de viscosidade intrínseca (clorofórmio, 25 ° C, $c = 0,1 \text{ g / dl}$). As temperaturas de transição declaradas pelo fabricante são $T_g = 57 \pm 1 \text{ ° C}$ e $T_m = 140 \text{ ° C}$ (PURAC, 2012).

III.3.2. Fabricação das placas craniofaciais

Os grânulos de PLGA foram processados utilizando uma máquina de moldagem por injeção (ARBURG 270S, modelo 250-70). O molde das placas craniofaciais foi projetado conforme descrito no Capítulo II deste trabalho e montado na máquina injetora. Para investigar a influência do processamento sobre as propriedades das placas PLGA, foram consideradas duas temperaturas de injeção de fusão diferentes:

temperatura baixa ($T = 240\text{ }^{\circ}\text{C}$, PLGA_baixaT) e alta temperatura ($T = 280\text{ }^{\circ}\text{C}$, PLGA_altaT). Os outros parâmetros de processamento foram mantidos constantes, conforme resumido na Tabela 16.

Tabela 16. Parâmetros de moldagem por injeção usados para a produção das placas de PLGA. Todos os parâmetros foram mantidos constantes, variando a temperatura de injeção de fusão ($240\text{ }^{\circ}\text{C}$ para PLGA_baixaT e $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ para PLGA_altaT).

Temperaturas de fusão de injeção	PLGA_baixaT	PLGA_altaT
	240 °C	280 °C
Vazão de injeção	10 cm ³ /s	
Temperatura do molde	25 °C	
Força máxima de fechamento do molde	250 kN	
Pressão de injeção	1500 MPa	
Pressão de recalque	25 MPa	
Tempo de injeção	2 s	
Tempo de resfriamento	90 s	
Velocidade do parafuso	100 rpm	
Temperatura ambiente	25°C	
Volume dosificação	4,6 cm ³	
Volume de comutação	1 cm ³	
Volume de descompressão	0,5 cm ³	
Vazão de purga	20 mm/s	

III.3.3. Degradação hidrolítica in vitro das placas

Os implantes foram esterilizados com álcool 70% e, cuidadosamente, pesados (m_0) e embebidos em 30ml de solução tampão fosfato salino (PBS) de pH=7,4 em um banho termostaticado a $37 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 16 semanas com tempo de retirada das amostras nos pontos de 15, 30, 60 e 120 dias, conforme mostrado na Tabela 17.

Tabela 17. Pontos de avaliação da degradação.

Período	Tempo de retirada
Ponto 0	Sem degradação
Ponto 1	15 dias
Ponto 2	30 dias
Ponto 3	60 dias
Ponto 4	120 dias

A cada ponto, o pH da solução de degradação foi registrado, utilizando um medidor de pH MS Tecnopeon portátil, e as amostras foram removidas da solução tampão, lavadas e mantidas em água destilada por 1 hora para remover a maior quantidade possível de solução tampão. Foram pesadas na condição úmida e, depois de secas em estufa a vácuo a 23 ° C por 8 h e, então, pesadas à seco. Foram realizadas mais três medições de massa para verificar a homogeneidade dos dados. As amostras foram mantidas a vácuo previamente aos testes de caracterização.

III.3.4. Caracterização mecânica

As placas das condições PLGA_baixaT e PLGA_altaT foram submetidos à caracterização mecânica, realizada por um Analisador Mecânico Dinâmico (DMA Q800, TA Instruments), nos diferentes pontos de degradação (isto é, 0, 15, 30, 60 e 120 dias).

Single Cantilever

As amostras (n = 4, comprimento de calibre = 16 mm) foram testadas ajustando a frequência a 1 Hz e 0,1% de área da tensão relativa. Os ensaios de DMA foram realizados na rampa de temperatura de 30 - 80 ° C, a uma taxa de 3 °C min⁻¹. A partir de cada teste, foram obtidas as tendências do módulo de armazenamento (E'), módulo de perda (E'') e Tanδ (E'' / E') em função da temperatura e as temperaturas de transição foram determinadas como pico nas tendências de Tanδ.

Flexão três pontos

As amostras ($n = 3$, comprimento de calibre = 20 mm) foram submetidas ao teste de flexão 3 pontos (ASTM D790) [29], a uma velocidade de 2N/min, com capacidade máxima de 18N, mantendo temperatura constante de 37°C. A partir de cada teste, foram obtidas as tendências do módulo elástico (E) e tensão máxima de ruptura (σ_r).

Os parâmetros mecânicos considerados eram rigidez à flexão (E_f); Deformação de flexão máxima (ϵ_f) e esforço de flexão (σ_f), calculado de acordo com Eq (1):

$$\sigma_f = 3PL / 2bd^2 \quad \text{Eq (1)}$$

onde: σ_f = tensão nas fibras externas no ponto médio (MPa); P = carga em um ponto determinado na curva de carga-deflexão (N); L = extensão de suporte (mm); b = largura do calibre testado (mm); e d = profundidade da viga testada (mm).

III.3.5. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Foram realizados testes de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para determinar a cristalinidade das placas de PLGA moldadas por injeção em todas as condições de processamento testadas. As propriedades térmicas (ponto de fusão, T_m , temperatura de transição vítrea, T_g , entalpia de cristalização, ΔH_c e entalpia de fusão ΔH_m foram obtidas utilizando uma máquina DSC (Shimadzu DSC-6000) numa atmosfera de nitrogênio de $19 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$, utilizando-se padrão de óxido de alumínio. A tensão residual foi associada à primeira entalpia endotérmica ΔH_g . A taxa de aquecimento aplicada foi de $10 \text{ }^\circ \text{C min}^{-1}$, de 10 a $250 \text{ }^\circ \text{C}$, usando um tamanho médio de amostra de 7 mg, retirado da região central de amostras moldadas ($n = 3$). O grau de cristalinidade (X_c) foi determinado utilizando a Equação (2).

$$X_c = 100 \times \left(\frac{\Delta H_m - \Delta H_{cc}}{\Delta H_m^c} \right) \times \frac{1}{1 - m_f} \quad (2)$$

onde ΔH_m é a entalpia de fusão, ΔH_{cc} é a entalpia de cristalização fria, ΔH_m^c é o calor de fusão do PLA puramente cristalino, considerado 93 J/g [17, 27] e $(1 - m_f)$ é a fração em peso do polímero na amostra.

III.3.6. Tensão residual

Como material fotoelástico, avaliou-se a tensão residual de corpos de prova fabricados ($n = 10$) pela técnica de luz polarizada com polariscópio (Photolastic Inc, Malvern, Pa, EUA) compreendendo lentes polarizantes e quartos de onda com 250 mm de diâmetro, seguindo o procedimento segundo ASTM D 4093. Este método permite observar anisotropia óptica ou birrefringência ao longo da geometria da placa que pode ocorrer no processo de moldagem por injeção.

III.3.7. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) foi realizada utilizando-se o modo de reflexão total atenuada (ATR) em um espectrômetro Shimadzu, modelo TENSOR 27. Os espectros foram obtidos em número de onda de 4000 a 600 cm^{-1} , com uma resolução de 4 cm^{-1} . As placas foram submetidas diretamente ao teste; as amostras do ponto 4 tiveram aspecto esfarelado e foram previamente prensadas e analisadas em forma de pastilhas. Com a técnica FTIR, foram identificados os grupos funcionais característicos presentes no copolímero bioreabsorvível e foi verificado as possíveis alterações decorrentes da degradação.

III.3.8. Cromatografia de permeação em gel (GPC)

Para verificar a distribuição de massas molares do copolímero (isto é, M_n , M_w , M_z e M_p) PLGA, foi utilizado uma cromatografia líquido de alta eficiência em um cromatógrafo da marca Viscotek VE 2001 acoplado ao detector Viscotek TDA 302, Houston, Texas – USA (2008). O solvente utilizado foi o THF como fase móvel e os parâmetros incluem: taxa de vazão a 1000 ml/min, volume de injeção de 100 μL , volume do incremento de 0,00333 ml, detector e temperatura da coluna de 45 ° C. O volume injetado foi sempre 100 μL e velocidade de fluxo de 1 $\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$. Como não havia padrões de PLGA, foi utilizado como padrão amostras de PLA. As análises foram conduzidas na Universidade Feral do Rio Grande do Sul, IQ, Química Analítica Central.

III.3.9. Microscopia eletrônica de varredura

Utilizou-se a microscopia eletrônica de varredura (MEV) para observar a morfologia superficial das placas de PLGA da degradação in vitro das placas. Em cada ponto de degradação (isto é, 0, 15, 30, 60 e 120 dias), o PBS foi removido e as amostras foram imersas em água destilada durante 2 h. Depois disso, as amostras foram mantidas a vácuo para a observação no MEV. As amostras foram cobertas com uma fina camada de ouro / paládio em um sistema de pulverização catódico D2 Diod Sputtering System (International Scientific Instruments) e observadas a diferentes aumentos (original x 13) com uma tensão de aceleração de 10 kV num microscópio eletrônico de varredura (MEV) de marca Jeol, modelo JSM-6390LV, localizado no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica, da Universidade Federal de Santa Catarina.

III.3.10. Análise estatística dos dados

Análise de variância (ANOVA) foi realizada em propriedades mecânicas e parâmetros de moldagem por injeção, considerando um limite significativo de 95% de confiança. O valor de P foi investigado quanto à significância dos fatores.

III.4. RESULTADOS

III.4.1. Caracterização Mecânica

As curvas representativas de engenharia “tensão versus deformação” obtidas pelo teste de flexão realizado em PLGA_baixaT e PLGA_altaT são mostradas na Figura 39.

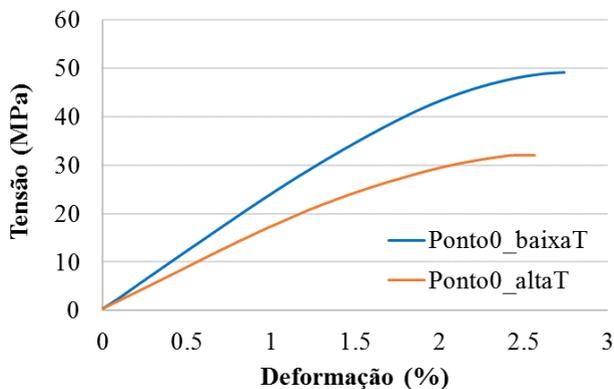


Figura 39. Curvas de tensão-deformação representativas (média) de PLGA_baixaT e PLGA_altaT obtidas por testes de flexão.

A rigidez estrutural de flexão, tensão máxima de ruptura e deformação máxima de flexão de PLGA_baixaT e PLGA_altaT estão resumidas na Tabela 18.

Tabela 18. Propriedades mecânicas das placas PLGA 85/15 moldadas por injeção (média \pm desvio padrão, $n = 3$): rigidez de flexão E , resistência à flexão σ_r e deformação máxima de flexão ϵ_r (* $p < 0,05$).

		E (GPa) *	σ_r (MPa) *	ϵ_r (%)
PLGA_baixaT	Ponto 0	2.2 ± 0.1	41.4 ± 11.8	2.6 ± 0.8
	Ponto 1	2.1 ± 0.2	54.6 ± 3.9	3.5 ± 0.5
	Ponto 2	1.5 ± 0.1	12.5 ± 7.7	1.3 ± 0.7
	Ponto 3	1.2 ± 0.1	19.05 ± 0.8	2.8 ± 0.4
PLGA_altaT	Ponto 0	1.9 ± 0.1	30.1 ± 3.1	2.3 ± 0.2
	Ponto 1	2.1 ± 0.07	42.3 ± 7.2	2.9 ± 0.6
	Ponto 2	1.9 ± 0.3	24.5 ± 15.3	1.8 ± 0.7
	Ponto 3	0.5 ± 0.1	4.1 ± 0.8	1.0 ± 0.1

Os valores de rigidez à flexão E foram 2.2 ± 0.1 e 1.9 ± 0.1 GPa para Ponto0_baixaT e Ponto0_altaT, respectivamente, e a resistência à flexão, σ_r , foi de 41.4 ± 11.8 e 30.1 ± 3.1 MPa, respectivamente. No teste de flexão, as placas PLGA apresentaram fratura em todas as condições. Isto é provavelmente devido à presença de cristalinidade e organização da cadeia enquanto o tempo de resfriamento decorrente no processo. Placas de PLGA_baixaT suportam carga adicional, exibindo maior resistência à flexão no Ponto0.

As curvas de flexão para PLGA_baixaT e PLGA_altaT durante a degradação podem ser observadas na Figura 40.

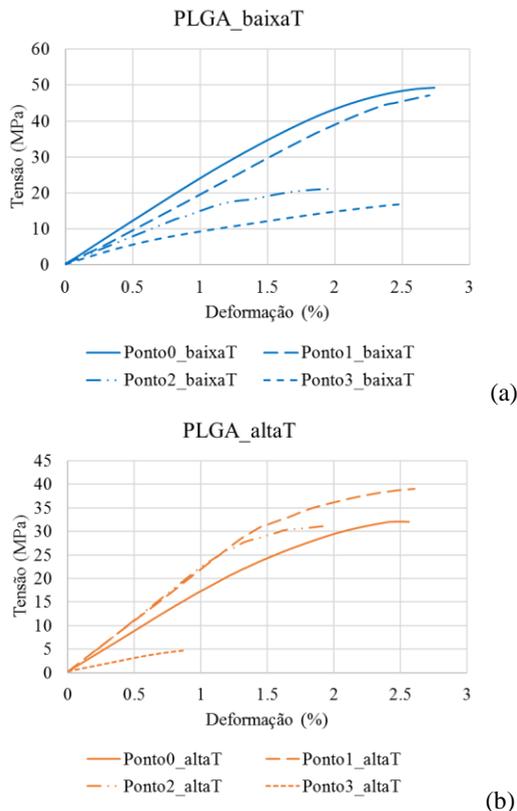


Figura 40. Curvas de tensão-deformação representativas (média) de PLGA_baixaT (a) e PLGA_altaT (b) obtidas nos diferentes pontos de degradação por testes de flexão.

Nota-se a queda das propriedades mecânicas, principalmente depois do Ponto 2 estudado.

As curvas representativas de DMA de PLGA_baixaT e PLGA_altaT são mostradas na Figura 41.

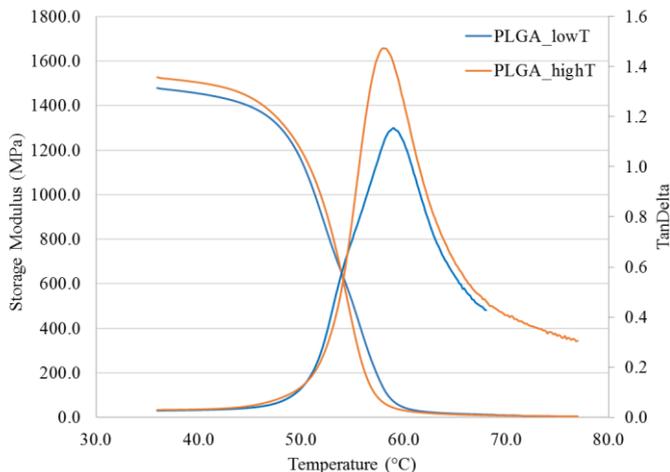
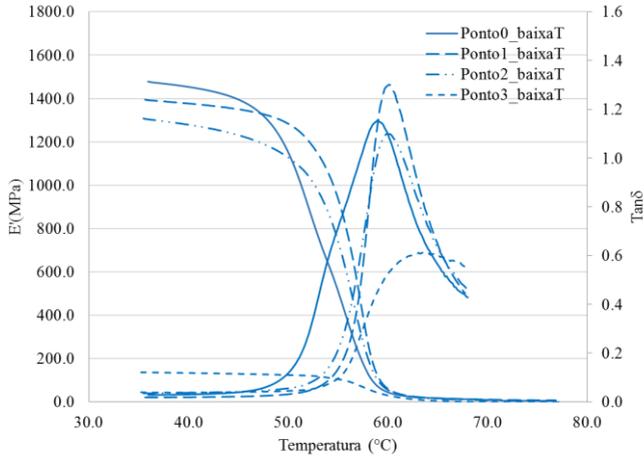


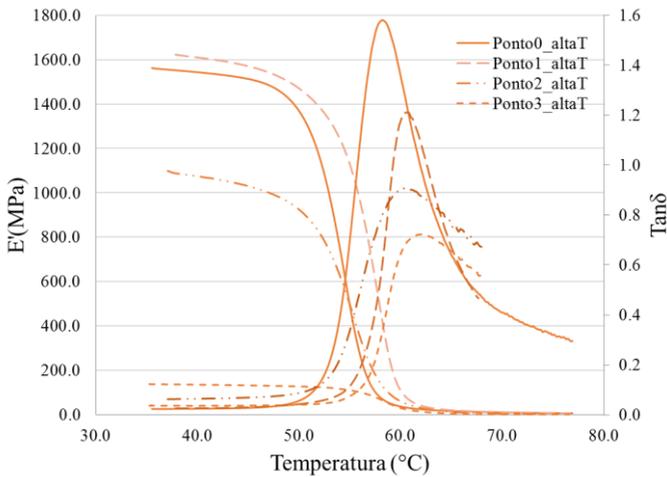
Figura 41. Curvas representativas de módulo de armazenamento (E') e $Tan\delta$ (E''/E') em função da temperatura obtida por DMA para PLGA_baixaT e PLGA_altaT

O módulo de armazenamento (E') mostrou tendências e valores comparáveis para as duas temperaturas de moldagem por injeção. O módulo de armazenamento E' (T_g a 37°C) foi de $1,2 \pm 0,2$ GPa para ambas as condições. O comportamento de $Tan\delta$ foi diferente para as duas condições processadas. Em particular, os valores mais altos alcançados referentes ao PLGA_altaT estão relacionados com um módulo de perda mais elevado. Este comportamento sugere uma maior contribuição do componente viscoso do PLGA_altaT do que PLGA_baixaT no comportamento termomecânico. A T_g detectada como pico na tendência de $Tan\delta$ foi de $57,4 \pm 1,8^\circ\text{C}$ para ambas as condições.

As curvas representativas de DMA de PLGA_baixaT e PLGA_altaT durante o estudo de degradação são mostradas na Figura 42



(a)



(b)

Figura 42. Curvas representativas de módulo de armazenamento (E') e $\text{Tan}\delta$ (E''/E') em função da temperatura obtida por DMA dos diferentes pontos de degradação (isto é, 0, 1, 2, 3) para os PLGA_baixaT (a) e PLGA_altaT (b).

Sabe-se que E' é a componente que está relacionada à energia elástica armazenada; assim como E'' está relacionada à energia viscosa dissipada. Ambas propriedades diminuíram significativamente no ponto 3 (60 dias).

III.4.2. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Os valores calculados da cristalinidade (X_c), as temperaturas de transição (T_g , T_{m1} , T_{m2} , T_c) e as entalpias detectadas (ΔH_{cc} , ΔH_m , ΔH_g) estão apresentados na Tabela 19. Os valores correspondem ao PLGA_baixaT e PLGA_altaT, nos diferentes períodos da degradação (isto é, Pellet = sem processamento; Ponto0 = processado sem degradação; Ponto1 = 15 dias; Ponto2 = 30 dias; Ponto3 = 60 dias; Ponto4 = 120 dias) e para PLGA_pellet, como controle.

Tabela 19. Grau de cristalinidade (X_c), tensão residual (ΔH_g) e propriedades térmicas medida por DSC: temperatura de transição vítrea (T_g), temperatura de fusão (T_m), entalpia de cristalização (ΔH_c) e entalpia de fusão (ΔH_m) (* $p > 0.05$).

	T_g [°C] *	T_{m1} [°C]	T_{m2} [°C]	T_c [°C] *	ΔH_{cc} [J/g]	ΔH_m [J/g]	ΔH_g [J/g] *	X_c [%]	
Pellet	60.4 ± 1.8	-	146.1 ± 0.1	-	-	33.4 ± 2.4	1.7 ± 0.4	-	
PLGA_baixaT	Ponto0	56.0 ± 0.5	153.1 ± 0.3	156.6 ± 0.2	130.7 ± 2.4	-2.3 ± 0.6	4.3 ± 1.5	5.1 ± 0.5	-
	Ponto1	53.0 ± 3.2	153.8 ± 2.2	157.5 ± 1.8	131.0 ± 0.1	-8.9 ± 2.2	5.0 ± 2.6	5.9 ± 1.3	14.8
	Ponto2	51.8 ± 1.2	153.6 ± 0.9	156.4 ± 1.0	99.9 ± 7.7	-17.5 ± 3.1	14.5 ± 6.9	9.6 ± 4.0	34.1
	Ponto3	48.3 ± 0.3	138.7 ± 4.2	147.3 ± 5.4	87.4 ± 4.1	-35.3 ± 7.8	28.6 ± 6.8	7.1 ± 12.0	68.2
	Ponto4	41.7 ± 6.6	120.4 ± 0.2	133.5 ± 1.0	95.5 ± 0.1	-30.2 ± 0.9	19.7 ± 8.7	14.1 ± 3.8	53.3
PLGA_altaT	Ponto0	52.7 ± 0.9	151.0 ± 2.2	157.9 ± 1.0	124.5 ± 4.2	-24.0 ± 8.1	17.9 ± 5.1	3.1 ± 0.3	-
	Ponto1	52.5 ± 3.1	154.1 ± 0.1	157.2 ± 2.0	127.1 ± 14.5	-9.9 ± 4.3	7.9 ± 3.0	9.1 ± 0.4	19.0
	Ponto2	52.6 ± 0.8	152.0 ± 0.1	156.6 ± 0.4	102.1 ± 8.3	-	19.1 ± 7.1	10.5 ± 0.5	-
	Ponto3	52.0 ± 1.1	153.7 ± 0.7	157.7 ± 1.7	89.0 ± 3.9	-	7.9 ± 7.0	11.8 ± 6.5	59.6
	Ponto4	41.6 ± 0.8	144.4 ± 2.8	152.4 ± 3.2	96.6 ± 1.3	-28.9 ± 6.9	23.2 ± 4.1	0.4 ± 0.1	55.7

A temperatura de transição vítrea ocorre a $56,0 \pm 0,5$ ° C para o PLGA_baixaT e a $52,7 \pm 0,9$ ° C para PLGA_altaT. A temperatura de transição vítrea das amostras de PLGA antes de processado (pellet) foi detectada a $60,4 \pm 1,8$ ° C. A Figura 43 apresenta as curvas do DSC para as placas moldadas antes do início da degradação e para o pellet de PLGA,

como controle. As mudanças nas temperaturas de transição para PLGA_baixaT e PLGA_altaT, em comparação com a PLGA_pellet, podem ser referidas a alterações relacionadas com a cadeia molecular durante o processamento por moldagem por injeção. O pico endotérmico de fusão de PLGA_baixaT apareceu a 156.6 ± 0.2 °C; considerando o PLGA_altaT, este pico ocorre duas vezes em um ombro a 151.0 ± 2.2 °C e 157.9 ± 1.1 °C, devido a diferenças na cristalinidade. A cristalinidade percentual foi medida pelo cálculo da Equação 2.

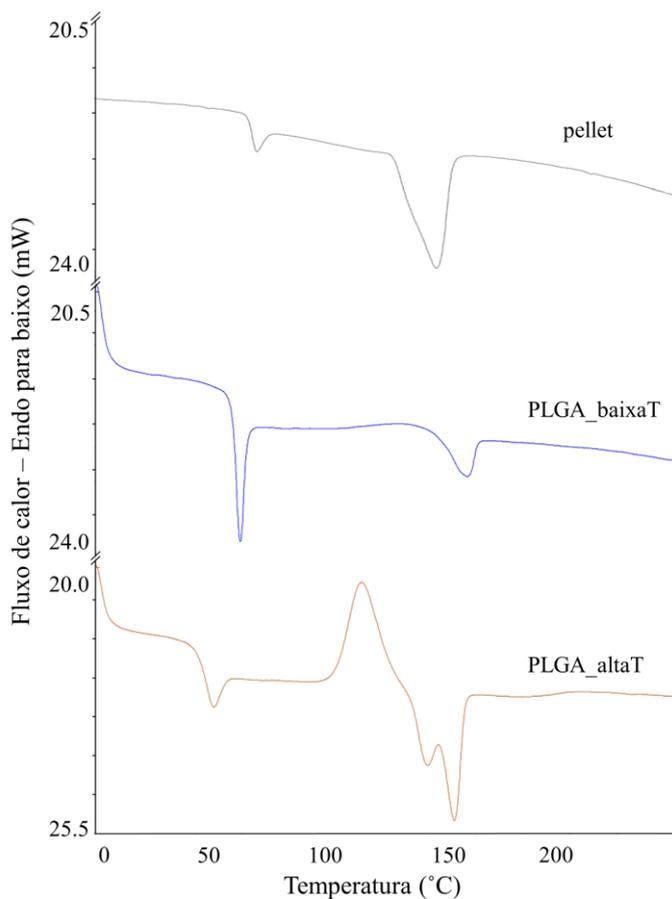


Figura 43. As temperaturas de transição no Ponto0 da degradação do PLGA_baixaT e PLGA_altaT moldados por injeção e do PLGA_pellet, testado como controle.

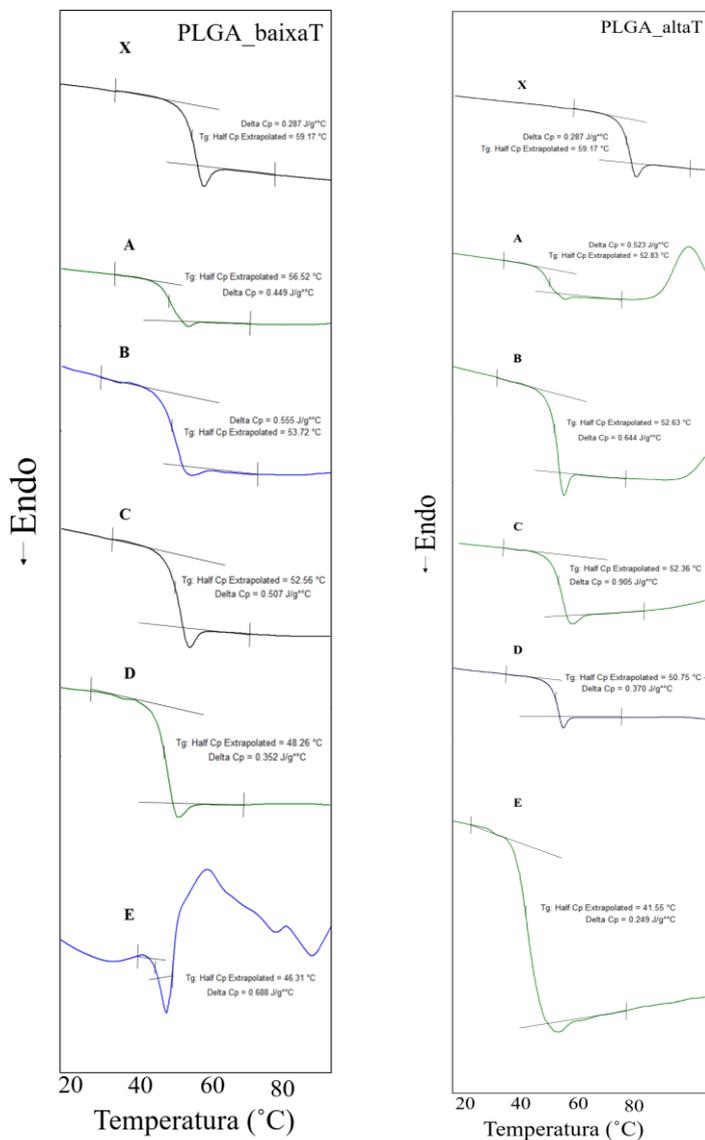


Figura 44. Temperaturas de transição vítrea (T_g) medidas pelo DSC dos pontos de degradação em meio PBS da condição PLGA_baixaT e PLGA_altaT: X = Pellet; A = Ponto0; B = Ponto1; C = Ponto2; D = Ponto3; E = Ponto4.

As curvas DSC evidenciam a diferença nos picos endotérmicos e a presença de elevada cristalinidade apenas para o PLGA_altaT. Além disso, para o último material, existe uma presença do ombro indicando duas temperaturas de fusão (146 e 157 ° C), relacionadas com as frações PGA (15%) e PLA (85%), respectivamente. Para PLGA_baixaT, ocorre um pico endotérmico de fusão muito suave a 153.1 ± 0.3 ° C, o que poderia indicar uma segunda T_m , mesmo que este valor esteja muito próximo da T_m detectada.

A Figura 44 apresenta a curva representativa da T_g detectada pelo método DSC de todos os pontos ao longo da degradação, além do pellet, como controle, em relação ao PLGA_baixaT e PLGA_altaT.

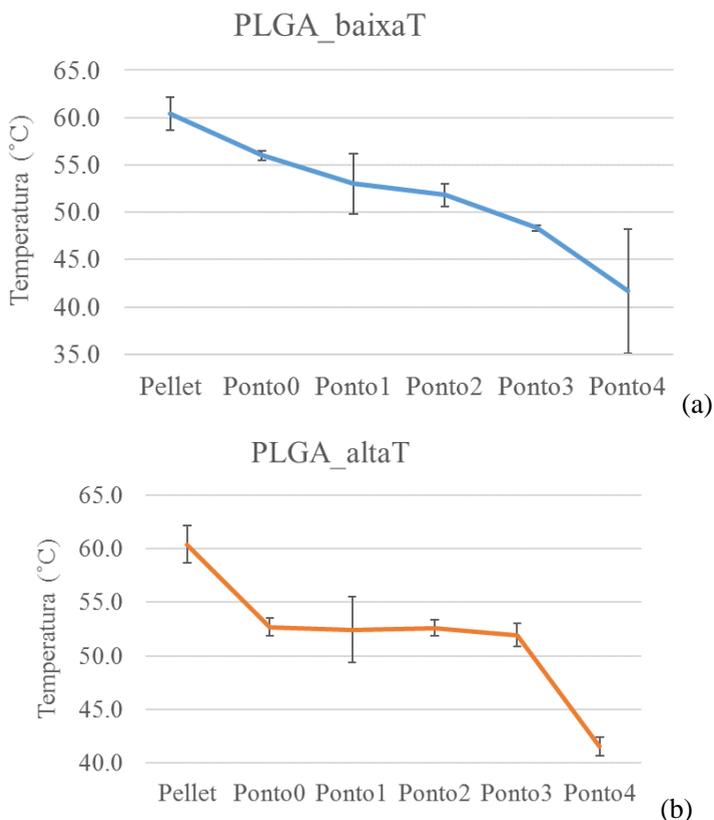


Figura 45. Temperaturas de transição vítrea (T_g) medidas pelo DSC para PLGA_baixaT (a) e PLGA_altaT (b).

A queda apresentada pela T_g do copolímero (Figura 45), em função do tempo de degradação, no período de 0 a 120 dias de estudo (de 56.0 ± 0.5 °C com 0 semanas para 41.7 ± 6.6 °C para PLGA_baixaT em 16 semanas e de 52.7 ± 0.9 para 41.6 ± 0.8 °C para PLGA_altaT) é alta, indicando rápida degradação hidrolítica das placas quando presentes no meio PBS. Tal fato é característico de copolímeros de PLGA. No início do processo de degradação a atribuição da queda da T_g pode estar associada ao efeito plastificante da absorção de H₂O pelas placas [27], e posteriormente pode ser atribuído ao avançado grau de degradação das placas a partir de 60 dias.

III.4.3. Tensão residual

Todas as amostras foram investigadas por análise fotoelástica para verificar o estresse residual possivelmente causado pelo processo de moldagem por injeção [6, 28, 29]. O estresse residual foi medido pela área do pico na transição vítrea e entalpia (Tabela 19), que foi maior para PLGA_baixaT ($5,1 \pm 0,5$ J / g) em relação ao pellet ($1,7 \pm 0,4$ J / g) e PLGA_altaT ($3,1 \pm 0,3$ J / G). A fotoelasticidade de PLGA usando luz monocromática não mostrou qualquer anisotropia óptica ou birrefringência ao longo da geometria da placa (isto é, $0 < N < 0,45$) em ambas as temperaturas moldadas por injeção de PLGA. A presença de linhas de tensão pode indicar o excesso de material injetado, o excesso de esforço de corte do material em contato com o molde ou o preenchimento de polímero inadequado da cavidade do molde. A ausência de linhas de tensão indica condições satisfatórias de moldagem por injeção. Todas as placas testadas mostraram o mesmo comportamento, conforme relatado na imagem representativa de PLGA_baixaT e PLGA_altaT (Figura 46). Este resultado indica o sucesso no controle dos parâmetros de processo utilizados, especialmente sobre a pressão e os parâmetros de projeto do canal do molde no preenchimento do material. No ponto de moldagem por injeção, quando o material começa a preencher o molde de placa, há uma ordem de franja de baixa magnitude (isto é, $0,6 < N < 1,0$) indicando tensão residual devido à pressão causada na última região do molde preenchido com o material.

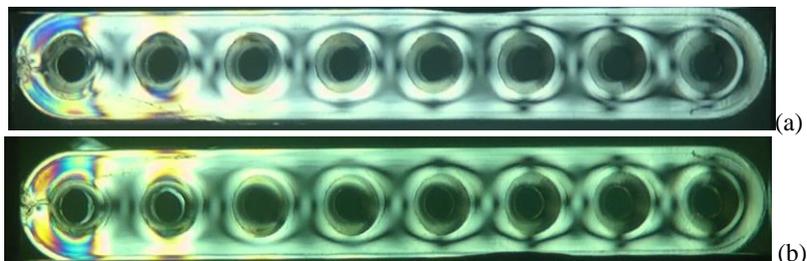


Figura 46. Fotoelasticidade da placa PLGA_baixaT (a) e PLGA_altaT (b) usando luz monocromática

III.4.4. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

No espectro das placas de PLGA_baixaT e PLGA_altaT nos diferentes períodos de degradação, foram identificadas as seguintes bandas de absorção: uma banda intensa entre 1760 e 1750 cm^{-1} , característica de carbonila (C = O), presente nos dois monômeros; uma banda de ligação (C-O), entre 1300 cm^{-1} e 1150 cm^{-1} , característica dos grupos éster. As bandas de absorção que são características dos grupos funcionais presentes no copolímero de PLGA podem ser observadas nos espectros (Figura 47) e são apresentadas na Tabela 20.

Tabela 20. Bandas de absorção identificadas no ensaio FT-IR características dos grupos funcionais presentes no copolímero PLGA.

Bandas de absorção (cm^{-1})	Grupos
3000 - 2850	CH, CH ₃ e CH ₂
1760 - 1745	C = O
1600 - 1500	O-C=O (Oligômeros)
1450 - 1370	CH ₃ e CH ₂
1350 - 1150	CH ₂ e CH
1300 - 1150	C - O
800 - 750	CH

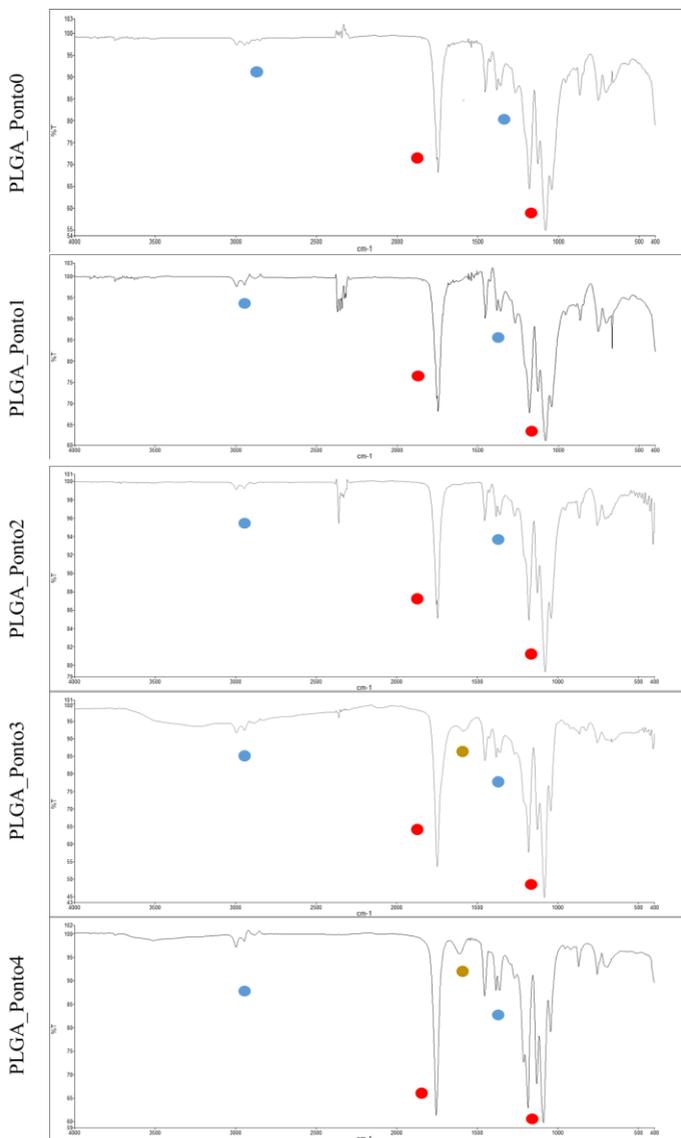


Figura 47. Espectro referente aos pontos de degradação 0 a 4 das placas de PLGA referentes ao período de 0, 15, 30, 60 e 120 dias, respectivamente. Grupos ésteres = Vermelho: 1760–1745 cm⁻¹ e 1300–1150 cm⁻¹; Grupos alcanos = azul: 3000–2800 cm⁻¹ e 1450–1370 cm⁻¹; Grupos de oligômeros = amarelo: 1600–1500 cm⁻¹

Nas análises do FTIR pode-se observar a presença do grupo C=C próximo a banda de absorção $1600 - 1500 \text{ cm}^{-1}$, indicando sinais da degradação. Nota-se que a presença dessa banda ocorre no ponto 3 e ponto 4.

A Figura 48 apresenta as curvas de todos os pontos em relação ao PLGA_baixaT e a Figura 49, mostra-se todas as curvas da condição PLGA_altaT.

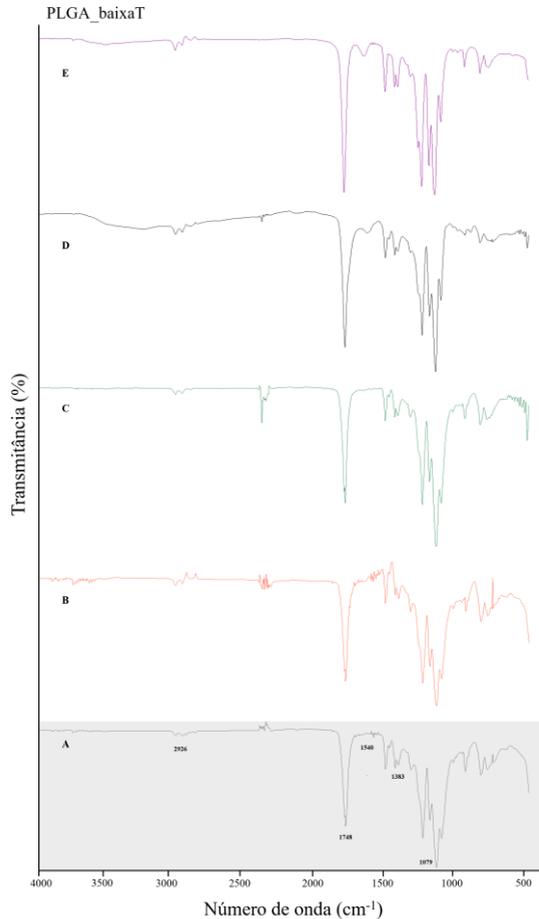


Figura 48. Número de onda (cm^{-1}) versus Transmittância (%) dos pontos de degradação em meio PBS da condição PLGA_baixaT: A = Ponto0; B = Ponto1; C = Ponto2; D = Ponto3; E = Ponto4.

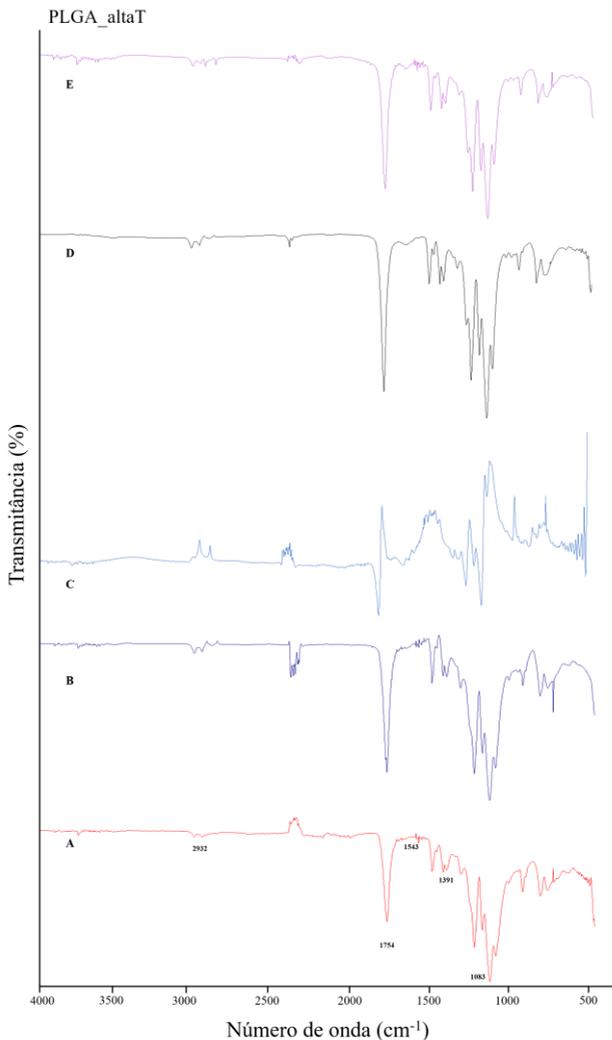


Figura 49. Número de onda (cm⁻¹) versus Transmitância (%) dos pontos de degradação em meio PBS da condição PLGA_altaT: A = Ponto0; B = Ponto1; C = Ponto2; D = Ponto3; E = Ponto4.

As reações químicas que ocorrem na degradação podem ser observada na Figura 50, onde é possível identificar a formação dos grupos funcionais e oligômeros.

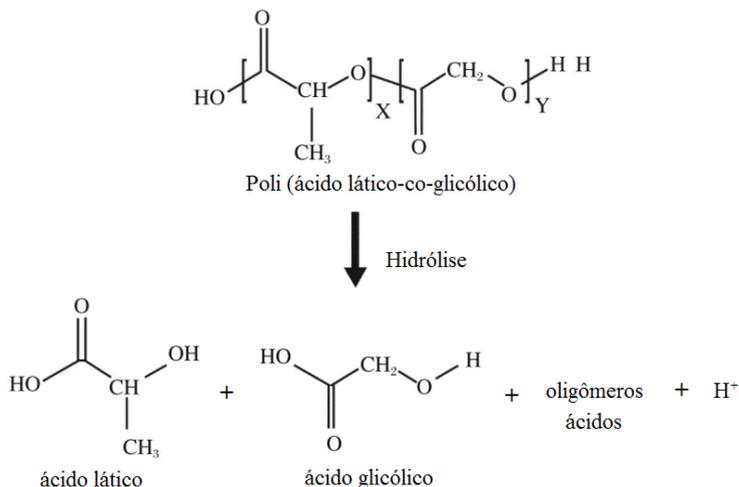


Figura 50. Reação química da degradação hidrolítica do PLGA em PBS e formação de oligômeros [45]. (Adaptado).

III.4.5. Cromatografia de permeação em gel

A Figura 51 apresenta a distribuição de massas molares (isto é, M_n , M_w , M_z e M_p) do PLGA estudado referente ao pellet e para os demais períodos de degradação.

Pelos resultados apresentados, as placas de PLGA possuem uma distribuição de massa molar estreita (baixa polidispersidade) e monomodal (somente um pico). O pellet representa o PLGA não processado e puro, do qual foi identificada uma alta massa molecular (isto é, 183407 ± 28895). A partir dos valores apresentados do Ponto 0, é possível observar uma queda da massa molar; tal fato pode ser explicado pelo resultado do processamento do material durante a moldagem por injeção, uma vez que o Ponto 0 representa as placas processadas nas condições PLGA_baixaT e PLGA_altaT.

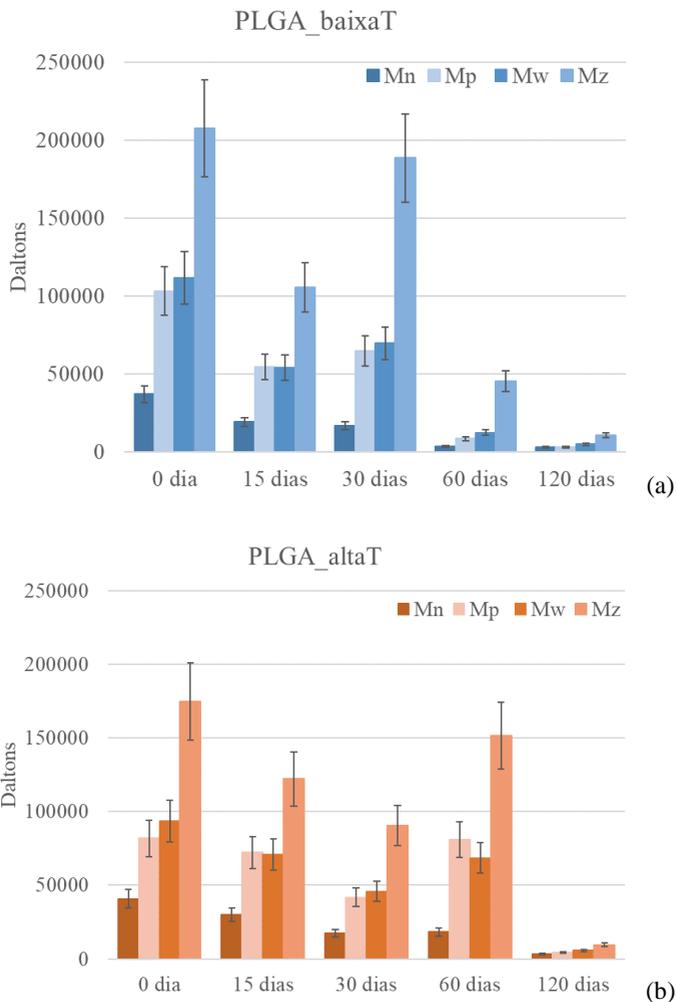


Figura 51. Massas molares médias do copolímero das placas de PLGA_baixaT (a) e PLGA_altaT (b), com desvio padrão médio de 15%.

A Figura 52 mostra as massas moleculares médias (M_n) das placas de PLGA moldadas nas duas condições estudadas durante o período de degradação.

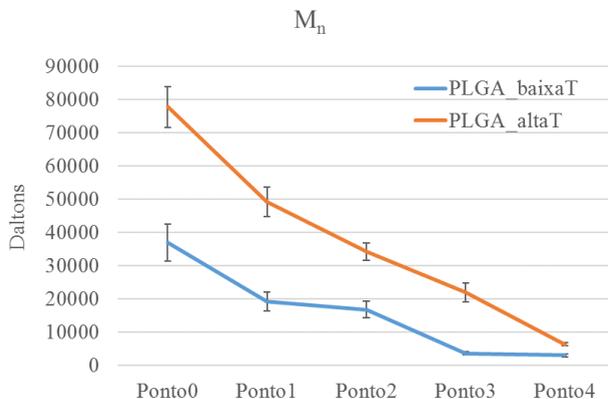


Figura 52. Massa molar média do PLGA_baixaT e PLGA_altaT durante o período da degradação.

Houve perda de massa das placas de PLGA ao longo do tempo de contato com a solução tampão fosfato, porém a velocidade entre os pontos estudados foi diferente, principalmente em relação ao PLGA_altaT para o PLGA_baixaT. Este comportamento ocorreu provavelmente devido à redução da fase amorfa dos polímeros, uma vez que a interação molecular da solução com o copolímero é mais propícia na fase amorfa. Segundo Barbanti et al (2006) [20], no primeiro estágio de degradação, há penetração e difusão da água nas regiões amorfas do polímero e cisão hidrolítica das ligações ésteres das cadeias poliméricas. Após grande parte da fase amorfa sofrer degradação começa o segundo estágio na fase cristalina, portanto, há um aumento percentual do grau de cristalinidade.

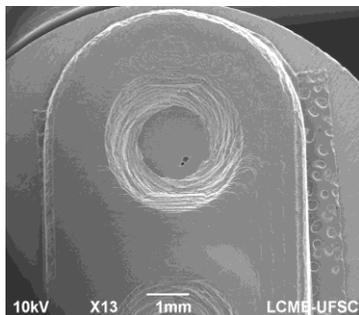
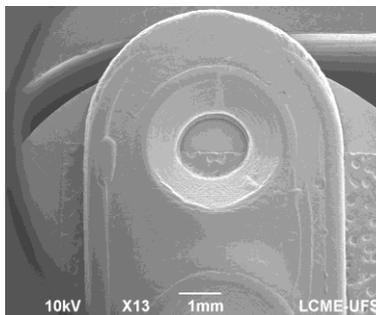
III.4.6. Microscopia eletrônica de varredura

A degradação das placas PLGA durante o período de imersão em tampão fosfato (PBS, 37 °C) é confirmada qualitativamente pelas imagens de MEV (aumento x 13) mostradas na Figura 53.

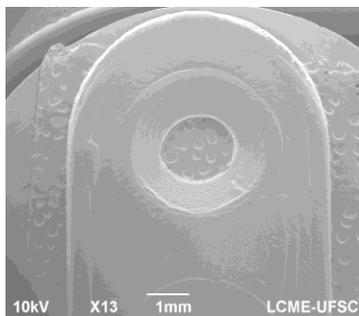
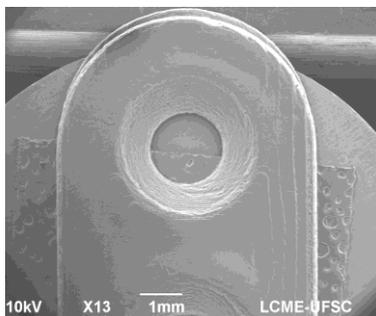
PLGA_baixaT

PLGA_altaT

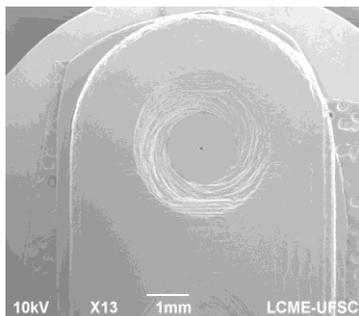
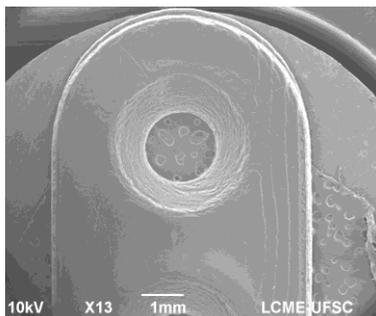
Ponto 0



Ponto 1



Ponto 2



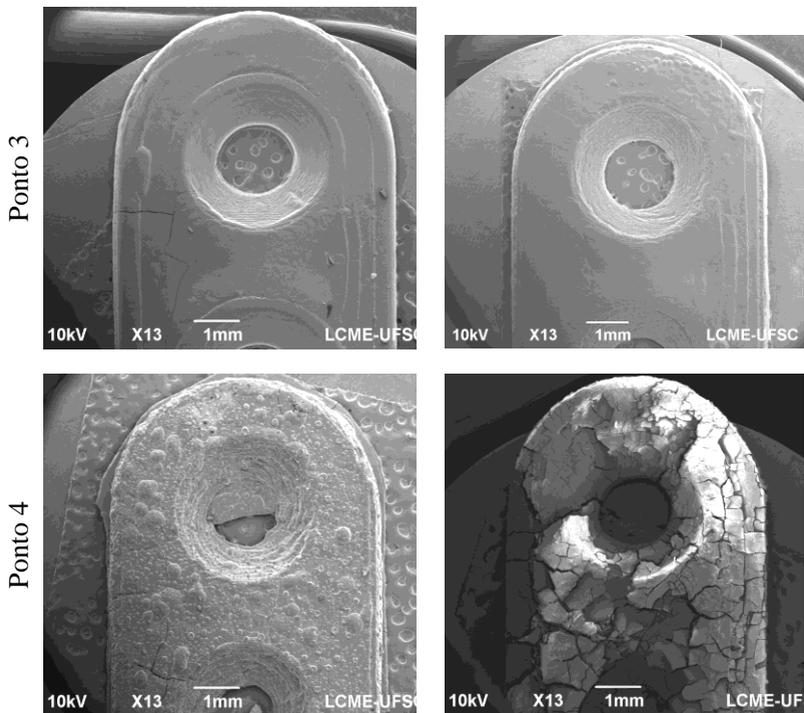


Figura 53. As imagens de MEV das placas PLGA_baixaT e PLGA_altaT nos diferentes períodos de degradação (0, 15, 30, 60 e 120 dias) (escala bar = 1 mm)

A degradação visual do dispositivo coincide com os resultados obtidos das análises. A Figura 54 permite a visualização do processo de degradação do material para o PLGA_baixaT e PLGA_altaT.

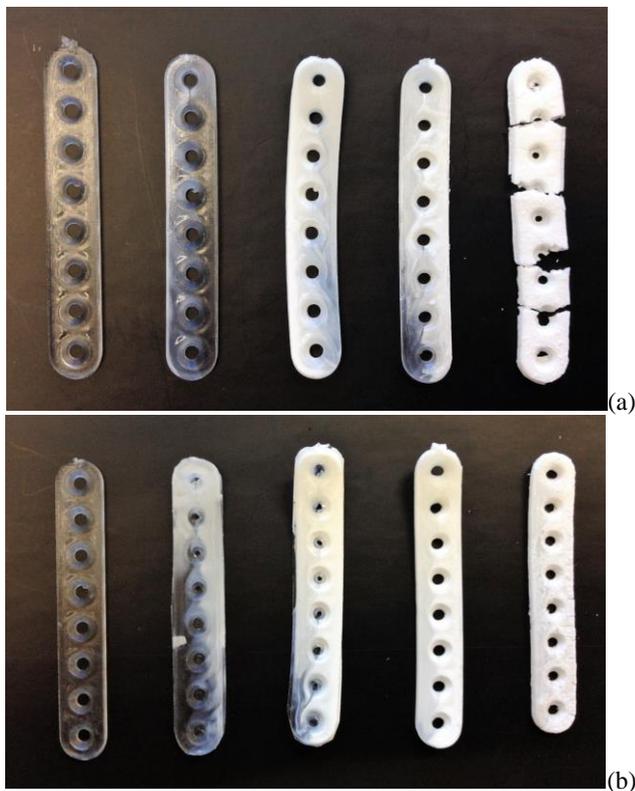


Figura 54. Imagens mostrando o aspecto visual da degradação das placas de PLGA_baixaT (a) e PLGA_altaT (b) nos diferentes pontos de degradação: 0, 15, 30, 60 e 120 dias da esquerda para direita.

Na Figura 54, é possível observar que a placa, inicialmente transparente, torna-se opaca com o início do processo de degradação. É nítido o aspecto esbranquiçado do dispositivo logo nos primeiros 15 dias em solução tampão fosfato, o que vem a ser um indício da influência do processo de degradação, em função da organização das cadeias durante a degradação. No decorrer do processo, pode ser notada a deformação e característica frágil do material. No Ponto4, o último a ser avaliado, além da forma esbranquiçada, foi possível notar o esfarelamento do material e a ausência de propriedades mecânicas.

A forma esbranquiçada pode ser notada logo no Ponto1 para PLGA_altaT, o que ocorre em menor evidência no PLGA_baixaT. Isso

pode ser indício que o PLGA_altaT é mais sensível à degradação hidrolítica em menos tempo.

III.5. DISCUSSÃO

O copolímero PLGA é um material promissor para aplicações em dispositivos médicos como placas craniofaciais. Os dispositivos médicos fabricados a partir de poliésteres alifáticos degradam-se através da hidrólise, caracterizada pela queda do peso molecular e redução das propriedades mecânicas. A degradação hidrolítica pode ser avaliada através de massa molar (GPC), presença de grupos polares ou oligômeros e monômeros (FTIR), alterações nas propriedades mecânicas (DMA), mudanças de temperatura de transição (DSC) e morfologia da superfície (SEM) [30-32]. Este estudo relatou a degradação in vitro de placas craniofaciais PLGA testadas em duas temperaturas de fusão diferentes do processo de moldagem por injeção (isto é, 240 e 280 °C), correspondendo aos limites processáveis de PLGA, em diferentes pontos de tempo. As propriedades físico-químicas, tais como o peso molecular e as propriedades mecânicas, foram monitoradas por análise FTIR, DSC e DMA. Os resultados sugeriram que as alterações de propriedade diferem de acordo com a temperatura de moldagem por injeção.

As resistências à flexão para as placas PLGA estudadas neste trabalho variaram de $1,9 \pm 0,1$ a $2,2 \pm 0,1$ GPa, que comparando com a rigidez (E) do osso ($E_{\text{osso}} \sim 6\text{-}20$ GPa), metal ($E_{\text{metal}} = 100\text{-}200$ GPa) e poli (ácido lático) (11 - 72 MPa) [33] indica uma possível utilização destas placas sob investigação em locais não portadores de carga, como por exemplo para fraturas ósseas craniofaciais. Além disso, as placas a base de PGA possuem maior taxa de degradação do que outros polímeros bioresorvíveis, o que limita o tempo útil dos dispositivos [34, 35]. Ambas as condições das placas PLGA (por exemplo, PLGA_baixaT e PLGA_altaT) apresentaram degradação rápida (isto é, cerca de três meses para a perda de propriedades mecânicas), independentemente de diferentes características da microestrutura durante a degradação.

As propriedades mecânicas avaliadas de PLGA_baixaT e PLGA_altaT mostraram valores adequados no início da degradação [36-39], com carga suficiente para o suporte de fraturas. No entanto, as placas PLGA_altaT atingiram o pico de força de flexão e a tensão máxima de flexão após 15 dias, como observado na Figura 40. Uma possível razão para este resultado está relacionada à ordem de efeito de difusão da solução de PBS às placas em PLGA: primeiro, a difusão ocorre para

cadeias de pesos moleculares mais baixos, em seguida, cadeias moleculares superiores. Além disso, como característica de polímeros degradáveis, o tempo de degradação faz cadeias de peso molecular mais elevadas quebrarem em cadeias de menor peso molecular ao longo do tempo na solução de PBS. As cadeias de polímero menores podem se espalhar e relaxar ao longo do tempo antes que as cadeias maiores se degradem. Assim, pode ocorrer a difusão da solução para cadeias de baixo peso molecular de PLGA antes da degradação das frações de peso molecular mais elevado, tornando o material mais rígido após 15 dias, mas continua a diminuir após o passar do tempo da degradação do material. A Tabela 18 confirma tal efeito, onde mostra a cristalinidade e propriedades térmicas na degradação das placas que poderiam ser associadas à hidrólise, difusão e erosão das cadeias.

No início da degradação, o fenômeno da erosão superficial pode ser observado onde a perda de peso molar é exclusivamente de fora para dentro do material, onde a difusão das moléculas de água, por exemplo, é mais lenta do que a liberação de fragmentos da superfície. Em outro caso, a degradação volumétrica ocorre quando a água penetra homogeneamente na matriz polimérica, causando hidrólise ao longo do tempo. Neste caso, existe uma relação entre hidrólise das correntes, sua difusão e erosão. Se ocorrer algum distúrbio, esse equilíbrio pode ser desfeito e pode ocorrer uma variação do mecanismo conhecido como autocatálise por meio de grupos carboxílicos e hidroxila. Esta autocatálise na degradação volumétrica provoca um gradiente ácido na parte interna do corpo, causando uma degradação mais acelerada neste local em comparação com a superfície. Os oligômeros gerados nas regiões centrais podem se difundir facilmente para a superfície. Este efeito, acompanhado da presença de produtos ácidos, pode resultar em reações inflamatórias em casos *in vivo*. Vale ressaltar que a degradação de dispositivos implantados no corpo humano, um objeto de interesse neste trabalho, tende a apresentar um aumento na taxa de difusão e conseqüente degradação devido à temperatura corporal em torno de 37 ° C, variações de pH e eventuais esforços que podem aumentar a probabilidade de quebra das cadeias poliméricas [20, 26, 27, 40]. Um aumento no peso molecular resultará em ligações mais covalentes e, portanto, em um aumento do número de emaranhados, aumentando assim o tempo de reabsorção / degradação [41].

A diminuição das propriedades (Figura 55) foi evidente em cada ponto de tempo da degradação para PLGA_baixaT; no entanto, as propriedades viscoelásticas influenciaram a dispersão para PLGA_altaT

nos primeiros 60 dias de degradação, que mostraram valores estáveis das propriedades encontradas, com queda nos últimos dois pontos.

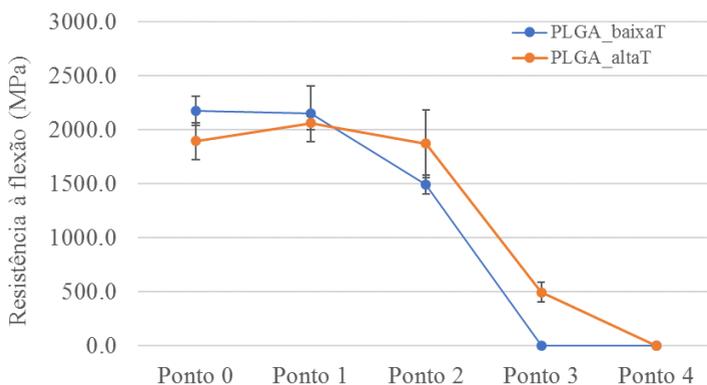


Figura 55. Resistência à flexão das placas ao longo da degradação hidrolítica das condições PLGA_baixaT e PLGA_altaT.

Nas curvas DSC, foi evidente que as placas PLGA_altaT teriam uma maior propensão para cristalizar do que as placas PLGA_baixaT devido à sua maior regularidade histórica ao longo da cadeia de polímero durante a processabilidade [35]. O PLGA_altaT moldado por injeção e o arrefecimento rápido tiveram o efeito de reduzir a T_g em cerca de 4°C . Além disso, o tempo de arrefecimento (ou seja, 90 s) de moldagem por injeção foi o mesmo para ambas as condições das placas. Isso significa que a taxa de resfriamento para atingir a temperatura do molde (25°C) foi mais rápida para as placas PLGA_altaT. Devido a esta diferença, foram formadas diferentes fases cristalinas, que podem resultar na formação de diferentes tamanhos de esferulitos e cristais irregulares na estrutura polimérica [35, 43, 44].

Além disso, várias propriedades de polímeros que são importantes em termos de sua processabilidade e aplicações estão diretamente relacionadas com a massa molar específica. Isso poderia ser relacionado que as propriedades mecânicas, químicas e físicas são drasticamente afetadas pela cristalinidade e especialmente pelas frações de massa molar baixa e alta. Os dispositivos para esta aplicação precisam ser mais profundamente investigados para superar as complicações na fabricação e nos projetos que possam influenciar a taxa de degradação após a implantação, como a estabilidade das propriedades.

III.6. CONCLUSÃO

Foi proposto um limite de trabalho de temperaturas (baixa e alta) em dispositivos médicos como placas craniofaciais de PLGA fabricadas por moldagem por injeção e testado função biomecânica das duas condições de temperatura do processo de fusão. Ambas as temperaturas de trabalho permitiram produzir dispositivos de placas craniofaciais. Em condições de baixa e alta temperatura (isto é, 240 e 280 ° C, respectivamente), as placas em PLGA foram avaliadas por propriedades mecânicas (módulo elástico aparente, tensão máxima, módulo de armazenamento), cristalinidade e resposta celular *in vitro*. As propriedades mecânicas (isto é, 2.2 ± 0.1 e 1.9 ± 0.1 GPa de rigidez à flexão) constituíram a adequação da placa para a osteossíntese em locais sem carga (por exemplo, aplicações craniofaciais). As diferenças na cristalinidade demonstraram que pode ser escolhida a placa com uma cinética de degradação mais adequada para a aplicação. Com base em todos esses resultados, pode-se concluir que as temperaturas de processo propostas são adequadas para a fabricação de placas craniofaciais PLGA, embora o estudo não tenha demonstrado as necessidades clínicas / cirúrgicas em termos de exigências mecânicas relativas à fixação das placas. A condição mais adequada para se trabalhar na moldagem por injeção, no entanto, é aquela que envolve temperaturas mais baixas durante o processamento. Essas dadas temperaturas promovem estabilidade térmica microestrutural do material moldado, ocasionando perdas gradativas de propriedades, ou seja, sem muitas oscilações como ocorre quando o material é injetado a temperaturas mais altas. Além disso, o conhecimento apresentado é útil para entender melhor os limites de trabalho dos implantes bioreabsorvíveis e o desenvolvimento de geometrias de implantes com controle de propriedades.

III.7. REFERÊNCIAS

[1] R. R. M. BOS, G. BOERING, F. R. ROZEMA, J. W. LEENSLAG, A. J. PENNING, A. B. VERWEIJ. Resorbable poly(L-lactide) plates and screws for the fixation of zygomatic fractures, *Journal Oral Maxillofac Surg.* 45 (1987) 751–753.

[2] G. ENISLIDIS, S. PICHORNER, F. KAINBERGER, R. EWERS. Lactosorb panel and screws for repair of large orbital floor defects. *J CranioMaxillofac Surg.* 25 (1997) 316–21.

- [3] P. E. Haers, R. Suuronen, C. Lindqvist, H. Sailer, Biodegradable polylactide plates and screws in orthognathic surgery: technical note, *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 26 (1998) 87-91.
- [4] K. Bessho, T. Iizuka, K. Murakami. A bioresorbable poly-L-lactide miniplate and screw system for osteosynthesis in oral and maxillofacial surgery. *Oral. Maxillofac. Surg.*, 55 (1997) 941–945.
- [5] J. C Middleton, A. J. Tipton, Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*, 21 (2000) 2335-2346.
- [6] S. Park, J. H. Kim, I. H Kim, M. Lee, S. Heo, H. Kim, E. H. Kim, Y. Choy, C. Y. Heo, Evaluation of poly(lactic-co-glycolic acid) plate and screw system for bone fixation, *J. of Craniofac. Surg.*, 24 (2013) 1021.
- [7] A. U. Daniels, M. K. O. Chang, K. P. Andriano, Mechanical properties of biodegradable polymers and composites proposed for internal fixation of bone. *J Appl Biomater*, 1 (1990) 57.
- [8] C. R. M. Roesler, G. V. Salmoria, A. D. O. Moré, J. M. Vassoler, E. A. Fancello, Torsion test method for mechanical characterization of PLDLA 70/30 ACL interference screws, *Polymer Testing*, 34 (2014) 34-41.
- [9] P. Rokkanen, O. Bostman, S. Vainionpaa, E. A. Makela, E. Hirvensalo, E. K. Partio, K. Vihtonen, Patiala H and Tormala P, Absorbable devices in the fixation of fractures. *J Trauma*, 40 (1996) 123.
- [10] Y. Shikinami, M. Okuno, Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-L-lactide (PLLA): Part I. Basic characteristics, *Biomaterials*, 20 (1999) 859-877
- [11] C. S. Leiggener, R. Curtis, B. A. Rahn, Effects of chemical composition and design of poly (L/DLLactide) implants on the healing of cranial defects, *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 26 (1998) 151.
- [12] C Schiller, C Rasche, M Wehmo"ller, F Beckmann, H. Eufinger, M Epple, S Weihe. Geometrically structured implants for cranial reconstruction made of biodegradable polyesters and calciumphosphate/calcium carbonate, *Biomaterials*, 25 (2004) 1239–47
- [13] S. H. Hyon, K. Jamshidi, Y. Ikada, Effects of residual monomer on the degradation of DL-lactide polymer, *Polymer International*, 46 (1998) 196-202
- [14] S. Ghosh, J.C. Viana, R.L. Reis, J.F. Mano, Effect of processing conditions on morphology and mechanical properties of injection-molded poly(l-lactic acid). *Polymer Engineering and Science*, (2007) 1141-1147.

[15] J.C. Viana, N.M. Alves, J.F. Mano, Morphology and Mechanical Properties of Injection Molded Poly(Ethylene Terephthalate), *Polym Eng Sci*, 44 (2004) 2174 - 2184.

[16] Wright, D.D. Degradable Polymer Composites. In *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*; Marcel Dekker Inc.: New York, NY, USA, 1 (2004) 423-432.

[17] A. M. Harris, E. C. Lee, Improving mechanical performance of injection molded PLA by controlling crystallinity, *J Appl Polym Sci*, 107 (2008) 2246–2255.

[18] H. ZHAO, G. ZHAO, Mechanical and thermal properties of conventional and microcellular injection molded poly (lactic acid)/poly (ϵ -caprolactone) blends, *J Mechan Behav Biomed Mat*, 53 (2016) 59.

[19] J. C MIDDLETON, A. J. TIPTON, Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*, 21 (2000) 2335-2346.

[20] S BARBANTI, C A ZAVAGLIA, A R DUEK. Degradação acelerada de suportes de poli(ϵ -caprolactona) e poli(D, L-ácido láctico-co-ácido glicólico) em meio alcalino. *Polím: Ciên Tecn*, 16 (2006) 141-148.

[21] L. Lu, S. J. Peter, M. D. Lyman, H. Lai, S. M. Leite, J. A. Tamada, J. P. Vacanti, R. Langer, A. G Mikos, , In vitro degradation of porous poly(L-lactic acid) foams. *Biomaterials*, 21 (2000) 1595.

[22] BENDIX, D. Chemical synthesis of polyácido láctico and its copolymers for medical applications. *Polym Degr Stab*, 59 (1998) 129–135.

[23] LI, S. Hydrolytic degradation characteristics of aliphatic polyesters derived from lactic and glycolic acids. *J Biom Mater Res*, 48 (1999) 342–353.

[24] FISCHER, E. W, GODDAR, H., SCHMIDT, G. F. Determination of degree of crystallinity of drawn polymers by means of density measurements. *J Polym Sci Part A-2: Polym Phy Prop*, 1 (1969) 1542-9377.

[25] Harris AM, Lee EC. Improving mechanical performance of injection molded PLA by controlling crystallinity, *J Appl Polym Sci* 107 (2008) 2246–2255.

[26] RT MacDonald, SP McCarthy , RA Gross, Enzymatic degradability of poly(lactide): Effects of chain stereochemistry and material crystallinity, *Macromolecules*, 29 (1996)7356-7361.

[27] L.-T. LIM, R. AURAS, M. RUBINO, Processing technologies for poly(lactic acid), *Prog Polym Sci*, 33 (2008) 820-852.

[28] LU, L.; PETER, S. J.; LYMAN, M. D.; LAI, H.; LEITE, S. M.; TAMADA, J. A.; VACANTI, J. P.; LANGER, R.; MIKOS, A. G. In

vitro degradation of porous poly(L-lactic acid) foams. *Biomaterials*, 21, p.1595 (2000).

[29] ASTM D790, Standard Test Methods for Flexural Properties of Unreinforced and Reinforced Plastics and Electrical Insulating Materials, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2015, www.astm.org

[30] LYU, S., UNTEREKER D., Degradability of polymers for implantable biomedical devices, *Int. J. Mol. Sci.*, 10 (2009) 4033-4065.

[31] Zuchowska, D.; Hlavatá, D.; Steller, R.; Adamiak, W.; Meissner, W.; *Polym. Degrad. Stab*, 64 (1999) 339.

[32] H. Essig, D. Lindhorst, T. Gander, P. Schumann, D. Könü, S. Altermatt, M. Rücker, Patient-specific biodegradable implant in pediatric craniofacial surgery, *J Craniomaxillofac Surg*, 45 (2017) 216-222.

[33] A. U. Daniels, M. K. O. Chang, K. P. Andriano, Mechanical properties of biodegradable polymers and composites proposed for internal fixation of bone. *J Appl Biomater*, 1 (1990) 57.

[34] N. J. Ostrowski, B. Lee, A. Roy, M. Ramanathan, P. N. Kumta, Biodegradable poly(lactide-co-glycolide) coatings on magnesium alloys for orthopedic applications. *J Mater Sci: Mater Med*, 24 (2013) 85-96.

[35] P. Gentile, V. Chiono, I. Carmagnola, P. V. Hatton, An Overview of Poly(lactic-co-glycolic) Acid (PLGA)-Based Biomaterials for Bone Tissue Engineering. *Int. J. Mol. Sci.* 15 (2014) 3640-3659.

[36] V. Hasirci, K. U. Lewandrowski, S. P. Bondre, J. D. Gresser, D. J. Trantolo, D. L. Wise, High strength bioresorbable bone plates: Preparation, Mechanical properties and in vitro analysis, *Bio-Medical Materials and Engineering*, 10 (2000) 19-29.

[37] N. Ashammakhi, H. Peltoniemi, E. Waris, R. Suuronen, W. Serlo, M. Kellomaki, P. Tormala, T. Waris, Developments in craniomaxillofacial surgery: Use of self-reinforced bioabsorbable osteofixation devices, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 108 (2001) 167-180.

[38] R. B. Bell, C. S. Kindsfater, The Use of Biodegradable Plates and Screws to Stabilize Facial Fractures, *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 64 (2006) 31-39.

[39] R. E. Lins, B. S. Myers, R. J. Spinner, L. S. Le vin, A comparative mechanical analysis of plate fixation in a proximal phalangeal fracture model, *The Journal of Hand Surgery*, 21 (1996)1059-1064.

[40] WOODRUFF, M.A.; HUTMACHER, D.W. The return of a forgotten polymer-Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science*, v. 35, p. 1217-1256, 2010.

[41] Wright, D.D. Degradable Polymer Composites. In *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*; Marcel Dekker Inc.: New York, NY, USA, 1 (2004) 423-432.

[42] W. S. Pietrzak, Rapid cooling through the glass transition transiently increases ductility of PGA/PLLA copolymers: a proposed mechanism and implications for devices, *J Mater Sci: Mater Med*, 18 (2007) 1753–1763.

[43] J. Y. Nam, S. S. Ray, M. Okamoto, Crystallization behavior and morphology of biodegradable polylactide/layered silicate nanocomposite, *Macromolecules*, 36 (2003) 7126–7131.

[44] FARÈ S., TORRICELLI P., GIAVARESI G., BERTOLDI S., ALESSANDRINO A., VILLA T., FINI M., TANZI M. C., FREDDI G. In vitro study on silk fibroin textile structure for Anterior Cruciate Ligament regeneration, *Mater Sci Eng: C*, 33 (2013) 3601-3608.

[45] TALUJA A.; YOUN Y. S.; BAE Y. H. Novel approaches in microparticulate PLGA delivery systems encapsulating proteins. *J. Mater. Chem.*, 2007,17, 4002-4014

IV. CAPÍTULO: RESPOSTA CELULAR IN VITRO EM PLACAS CRANIOFACIAIS DE PLGA

IV.1. OBJETIVO

O presente capítulo visa avaliar qualitativa e quantitativamente as interações de culturas celulares com as placas craniofaciais por meio de testes de biocompatibilidade e citotoxicidade *in vitro*.

IV.2. INTRODUÇÃO

Polímeros bioreabsorvíveis podem ser definidos como materiais ou dispositivos que, uma vez implantados no corpo, apresentam a característica de degradarem com o passar do tempo, em produtos atóxicos que são, por sua vez, eliminados do organismo via rotas naturais e, idealmente, não deixam traços de sua presença após terem sua absorção completa [1]. Verificar a toxidade no processo de fabricação, portanto, torna-se imprescindível para a aplicação *in vivo* dos implantes fabricados.

O PLGA apresenta propriedade de osteocondução, demonstrada pela proliferação de células osteoblásticas humana. Sua estrutura possibilita um fácil processamento, sendo possível o design de vários dispositivos de acordo com a utilidade desejada em engenharia tecidual [2-4]. Os materiais biodegradáveis e compatíveis na engenharia de tecidos, têm sido de grande interesse na pesquisa internacional na última década. O PLGA tem sido amplamente utilizado para estudos de regeneração óssea *in vitro* e *in vivo* devido às suas propriedades mecânicas desejáveis, biocompatibilidade e tempo de biodegradabilidade modificável. É um polímero relativamente hidrofóbico, instável em condições de umidade e biodegradável, sofrendo hidrólise para produzir monômeros de ácido lático e glicólico, que são degradados nas mitocôndrias pelo ciclo de Krebs [5]. Embora seus subprodutos, ácido lático e ácido glicólico, possam causar inflamação local moderada, sua compatibilidade e biossegurança na cicatrização óssea têm sido demonstradas em estudos experimentais e clínicos [6].

Neste estudo, as placas de PLGA foram concebidos e fabricados por moldagem por injeção como dispositivos médicos absorvíveis. Foram testadas duas temperaturas de fusão diferentes para o processo de moldagem por injeção (isto é, 240 e 280 ° C). Para ambas as condições, as placas craniofaciais de PLGA foram avaliadas em relação à resposta celular *in vitro* das interações entre as placas de PLGA e células sarcoma osteogênicas (SAOS-2).

IV.3. MÉTODOS

IV.3.1. Material

Os grânulos de poli (L-ácido láctico-co-glicólico) 85/15 (Purasorb PLG 8531) foram adquiridos pela empresa PURAC BU Biomaterial (Holanda). O PLGA 85/15 possui um peso molecular médio de $M_n = 224,27 \text{ g / mol}$, um índice de polidispersão de 1,87 (Cromatografia de Permeação em Gel, Viscotek VE 2001, detector Viscotek TDA 302, EUA, 2008) e $3,04 \text{ dl / g}$ de viscosidade intrínseca (clorofórmio, 25° C , $c = 0,1 \text{ g / dl}$). As temperaturas de transição declaradas pelo fabricante são $T_g = 57 \pm 1^\circ \text{ C}$ e $T_m = 140^\circ \text{ C}$ (PURAC, 2012).

IV.3.2. Concepção das placas craniofaciais

Os grânulos de PLGA foram processados utilizando uma máquina de moldagem por injeção (ARBURG 270S, modelo 250-70). O molde das placas craniofaciais foi projetado conforme descrito no Capítulo II deste trabalho e montado na máquina injetora. Para investigar a influência do processamento sobre as propriedades das placas PLGA, foram consideradas duas temperaturas de injeção de fusão diferentes: temperatura baixa ($T = 240^\circ \text{ C}$, PLGA_baixaT) e alta temperatura ($T = 280^\circ \text{ C}$, PLGA_altaT). Os outros parâmetros de processamento foram mantidos constantes, conforme resumido na Tabela 21.

Tabela 21. Parâmetros de moldagem por injeção usados para a produção das placas de PLGA. Todos os parâmetros foram mantidos constantes, variando a temperatura de injeção de fusão (240° C para PLGA_baixaT e 280° C para PLGA_altaT).

Temperaturas de fusão de injeção	PLGA_baixaT	PLGA_altaT
	240 °C	280 °C
temperatura do molde	25 °C	
pressão de injeção	1500 MPa	
pressão de recalque	25 MPa	
tempo de injeção	2 s	
tempo de resfriamento	90 s	
velocidade do parafuso	100 rpm	

IV.3.3. Resposta da interação celular *in vitro*

Foram realizados testes indiretos de citotoxicidade e testes diretos de citocompatibilidade para avaliar a resposta biológica *in vitro* das placas moldadas por injeção. A linha celular de sarcoma osteogênico primário humano SAOS-2 (ECACC 89050205) foi selecionada como modelo celular, devido . O meio de cultura foi preparado utilizando meio de cultura 5a de McCoy, adicionado com 15% de soro bovino fetal, L-glutamina 2 mM (1% v / v), piruvato de sódio 1 mM (1% v / v) e solução de penicilina estreptomicina 1% v V.

IV.3.3.1. Teste de citotoxicidade

O teste de citotoxicidade indireta *in vitro* foi realizado de acordo com a norma UNI EN ISO10993-5 [7]. As amostras moldadas por injeção a baixa e alta temperatura foram preparadas em forma de cilindro ($0,50 \pm 0,01$ g por amostra), reaproveitadas da bucha de injeção, desinfetadas por imersão em solução de etanol a 70% v / v durante 4 h e deixadas secar em condições estéreis. Os eluatos foram extraídos por imersão de amostras ($n = 3$ por cada condição, por período de tempo) no meio de cultura completo ($0,4 \text{ g ml}^{-1}$) e armazenados na incubadora (37°C , 5% CO_2) durante 1, 3, 7 e 14 dias. Para cada período, três poços foram incubados após adicionar o meio de cultura sem amostras como meio de controle. As células SAOS-2 foram então semeadas (densidade celular = $1 \cdot 10^4$ células / poço) em poliestireno para cultura de tecido de 96 poços múltiplos (TCPS, Corning) e cultivadas com 150 μL de meio fresco até 70% de confluência. Em seguida, o meio foi substituído com o mesmo volume de eluatos e as células foram cultivadas durante 24 h em contato com eluatos. Após 24 h, a viabilidade celular foi medida pelo ensaio Alamar Blue™ (Serotec). Resumidamente, foram substituídos 150 μL de meio de cultura com solução Alamar Blue (10% v / v em meio de cultura fresco) e incubados durante 4 h; três poços sem células foram incubados com solução Alamar Blue para eliminar a fluorescência residual. Após 4 h, 100 μL foram removidos de cada poço e transferidos para um novo 96-multi poços de poliestireno de cultura de tecidos (TCPS); a fluorescência (excitação $\lambda = 540 \text{ nm}$, emissão $\lambda = 595 \text{ nm}$) foi medida por um espectrofotômetro (Tecan, leitor de placas Genius Plus) e a percentagem de viabilidade celular foi calculada como (3):

$$Viability (\%) = \frac{f(t) - f_{\text{Alamar blue}}}{f(t)_{\text{control}} - f_{\text{Alamar blue}}} \times 100 \quad (3)$$

onde $f(t)$ corresponde à fluorescência da solução em contato com células cultivadas em eluatos (extraído após contato com o material nos momentos $t = 1, 3, 7, 14$ dias), o $f_{\text{Alamar blue}}$ é a fluorescência média da solução com Alamar blue, e $f(t)_{\text{control}}$ é a fluorescência de soluções incubadas em contato com células cultivadas com o meio de controle (meio de cultura incubado nos diferentes tempos avaliados sem as amostras).

IV.3.4. Compatibilidade *in vitro*

Foram obtidas amostras de placas de PLGA ($n = 3$ para cada temperatura de injeção, comprimento = 12,5 mm) cortando as placas de PLGA em três partes, desinfetadas por imersão em solução de etanol a 70% v / v durante 4 h e secas sob condições estéreis. As amostras desinfetadas foram colocadas em TCPS de 12 multi-poços e as células SAOS-2 foram semeadas gota a gota (densidade de células = $1,2 \times 10^4$ células / amostra, volume de gota = 8 μl) no centro da amostra, entre os dois furos da placa PLGA (Figura 56).

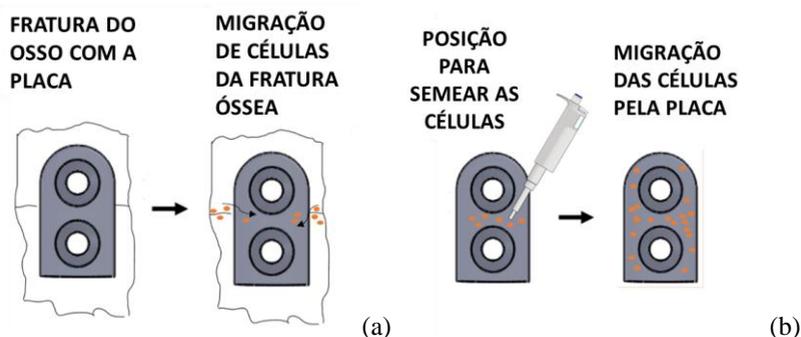


Figura 56. Representação esquemática (a) do implante tipo placa PLGA na fratura óssea e colonização celular *in vivo* e (b) da semeadura celular *in vitro* adotada como modelo para replicar a colonização de implante *in vivo*.

A mesma densidade celular foi semeada em poços TCPS como controle. As células foram cultivadas na incubadora (isto é, 37 ° C, 5% CO₂) até 21 dias, mudando o meio a cada três dias. Em cada período ($t =$

1, 3, 7, 14 e 21 dias), a viabilidade celular foi medida por ensaio Alamar Blue, como descrito acima. Resumidamente, em cada período, o meio de cultura foi substituído com o mesmo volume de solução de Alamar Blue a 10% v / v em meio fresco e incubado durante 4 h; amostras sem células foram utilizadas como referência e também foram incubadas com solução Alamar Blue para eliminar a fluorescência residual. Após 4 h, 100 µL de solução foram transferidos para um TCPS de 96 poços múltiplos e a fluorescência foi lida. As amostras foram lavadas duas vezes com PBS, adicionou-se meio fresco e as células foram mantidas em cultura até o período de tempo seguinte.

IV.3.5. Análises de MEV/EDX

Utilizou-se microscopia eletrônica de varredura (MEV) para observar a morfologia superficial das placas de PLGA durante as culturas *in vitro* e analisar a morfologia e disposição das células de SAOS-2 semeadas na placa. Em cada período (isto é, 1, 3, 7, 14 e 21 dias), o meio de cultura foi removido e as amostras foram imersas numa solução de glutaraldeído a 1,5% v / v em PBS durante 2 h; depois disso, as amostras foram lavadas durante 2 h em PBS e desidratadas seguindo uma escala de grau de etanol (10 minutos em etanol a 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100% v / v em água destilada). As amostras desidratadas foram revestidas por pulverização com ouro / paládio (Edwards Sputter Coater 5150B) e observadas a aumentos de 7 e 50X, com tensão de aceleração de 10 kV por MEV (Cambridge Instrument Stereoscan 360 SEM). Utilizou-se a espectroscopia de raios X de dispersão de energia (EDX, SEM Zeiss EVO 50 EP Plus EDS Oxford INCA Energia 200 com detector PENTAFET LZ4) para mapear os elementos C, Ca e P na superfície das placas PLGA semeadas e nas amostras sem células, como controle.

IV.3.6. Atividade de fosfatase alcalina

A atividade de fosfatase alcalina (ALP) das células SAOS-2 cultivadas em placas PLGA moldadas por injeção (isto é, PLGA_baixaT e PLGA_altaT) e TCPS, como controle, foi quantificada a 1, 3, 7, 14 e 21 dias de cultura. O teste foi conduzido utilizando um kit comercial (BioVision Alkaline Phosphatase Assay Kit), baseado na hidrólise de p-nitrofenol (p-NPP), de acordo com as instruções do fabricante. Em cada período, as amostras (n = 3) foram lavadas duas vezes com PBS, imersas em 500 µl de solução Triton X-100 e armazenadas a -80 ° C. No dia antes do teste, todas as amostras foram removidas e colocadas à temperatura ambiente, riscadas para promover a lise celular e o teste de ALP foi

realizado lendo o O.D. à 405 nm. A atividade de ALP foi relacionada à medida de O.D., utilizando padrões de solução de pNPP 1 mM e enzima ALP.

A atividade de ALP foi normalizada no teor de proteína total das amostras, medido pelo ensaio com ácido bicinconíico (BCA). O teste de BCA foi realizado utilizando um kit comercial (Kit de Ensaio de Proteínas Pierce™ BCA, ThermoFischer Scientific) seguindo as diretrizes do fabricante. Resumidamente, 25 µL de lise celular (isto é, extraídos das mesmas amostras testadas com o ensaio ALP) foram incubados durante 30 minutos a 37 ° C com o reagente de trabalho e a absorbância foi lida a 562 nm. O teor de proteína foi relacionado com a leitura de absorbância por uma curva de calibração construída por padrões de albumina de soro bovino (BSA).

IV.3.7. Tratamento estatístico dos dados

A análise de variância (ANOVA) foi realizada considerando-se a significância estatística de 0,05. O valor de P foi investigado quanto à importância dos fatores entre a temperatura de fusão e o crescimento da atividade celular durante os períodos estudados, isto é, até 21 dias.

IV.4. RESULTADOS

IV.4.1. Teste de citotoxicidade

A porcentagem de viabilidade de células SAOS-2 cultivadas em contato com eluatos (isto é, meio em contato com amostras de PLGA moldadas por injeção) relacionadas com a viabilidade de células cultivadas em meio de cultura é mostrada na Figura 57. Para todos os períodos considerados (isto é, 1, 3, 7 e 14 dias) verificou-se que a viabilidade celular é superior a 90%, indicando que não foram libertados quaisquer compostos citotóxicos no meio de cultura a partir das amostras de PLGA em todos os tempos de contato considerados. Além disso, não foram evidenciadas diferenças comparando a viabilidade de células cultivadas em contato com eluatos extraídas de PLGA_baixaT e PLGA_altaT ($p < 0,05$) indicando que as temperaturas de processamento de PLGA não tem influência na liberação possível de compostos citotóxicos de baixo peso molecular.

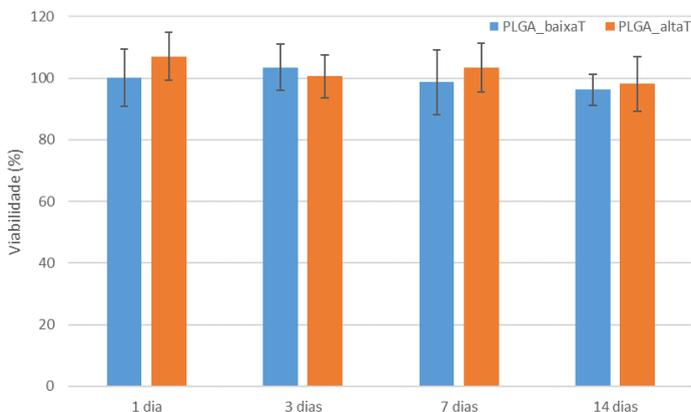


Figura 57. Viabilidade de células SAOS-2 cultivadas com meio de eluatos previamente mantido em contato com amostras de PLGA_baixaT e PLGA_altaT moldadas por injeção durante 1, 3, 7 e 14 dias; a viabilidade é expressa como percentagem de viabilidade celular de células cultivadas com eluatos.

IV.4.2. Viabilidade das células

A viabilidade de células SAOS-2 diretamente cultivadas na superfície de PLGA_baixaT e PLGA_altaT é mostrada na Figura 58 (a) e comparada com a viabilidade de células diretamente cultivadas nos poços TCPS. As células SAOS-2 cultivadas nas placas PLGA e TCPS mostraram uma tendência semelhante: a atividade metabólica é estável nos primeiros pontos de tempo (isto é, 1 a 3 dias, $p > 0,05$), enquanto aumenta após 7 dias de cultivo até 21 dias ($p < 0,05$, comparando a mesma amostra em diferentes pontos de tempo), evidenciando assim a capacidade das placas de PLGA para suportar o crescimento e proliferação de células semelhantes a osteoblastos. Observou-se uma maior atividade metabólica ($p < 0,05$) nas células cultivadas nos poços do TCPS após 7, 14 e 21 dias de cultura, em comparação com a atividade metabólica das células cultivadas nas placas. Esta diferença está relacionada com a maior superfície disponível do fundo do poço TCPS em comparação com as placas PLGA (1,9 cm² versus 0,6 cm²) que permite uma maior proliferação de células. Considerando o mesmo tempo, não foram evidenciadas diferenças no metabolismo celular comparando PLGA_baixaT e PLGA_altaT para todos os pontos de tempo considerados.

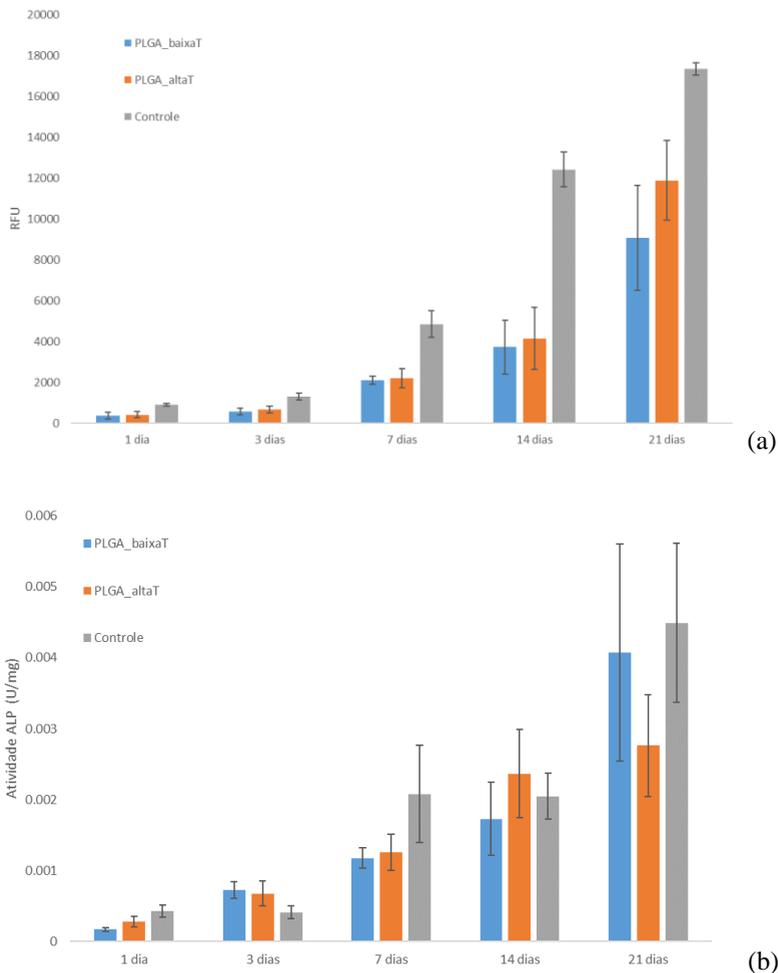
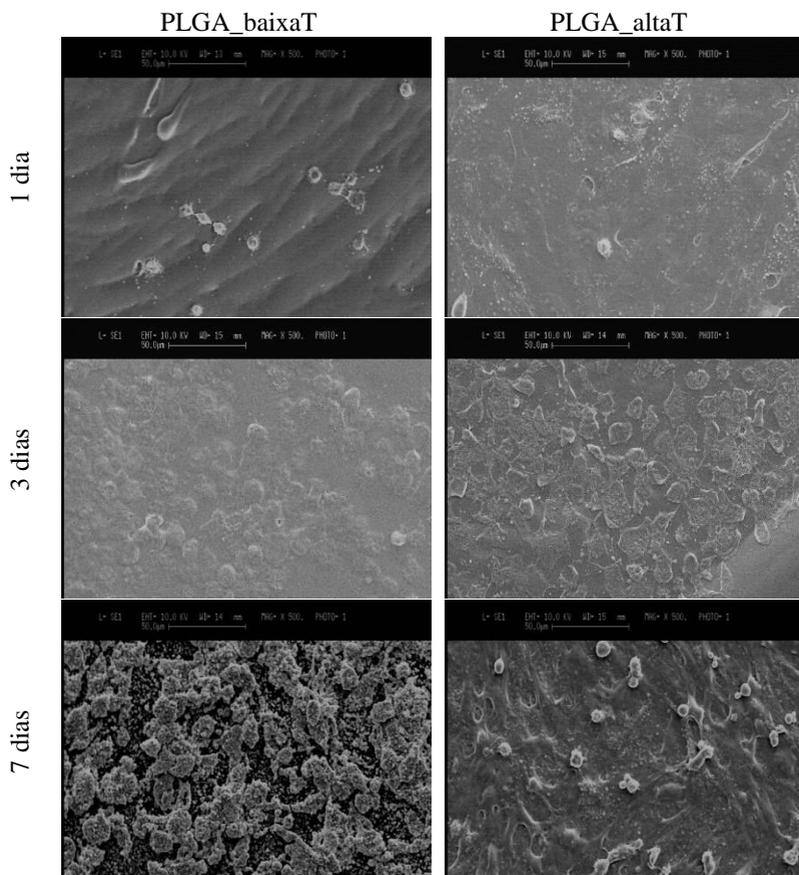


Figura 58. Testes de citocompatibilidade in vitro de células SAOS-2 cultivadas em placas PLGA moldadas por injeção: (a) atividade metabólica medida pelo ensaio Alamar Blue; (b) atividade de fosfatase alcalina normalizada no teor de proteína total (* $p < 0,05$: 3dd vs. 7dd, 7dd vs. 14dd e 14dd vs. 21dd)

IV.4.3. Análise de MEV/EDX

A capacidade das placas PLGA de suportar a aderência, espalhamento e proliferação de células SAOS-2 é confirmada qualitativamente pelas imagens de MEV mostradas na Figura 59.



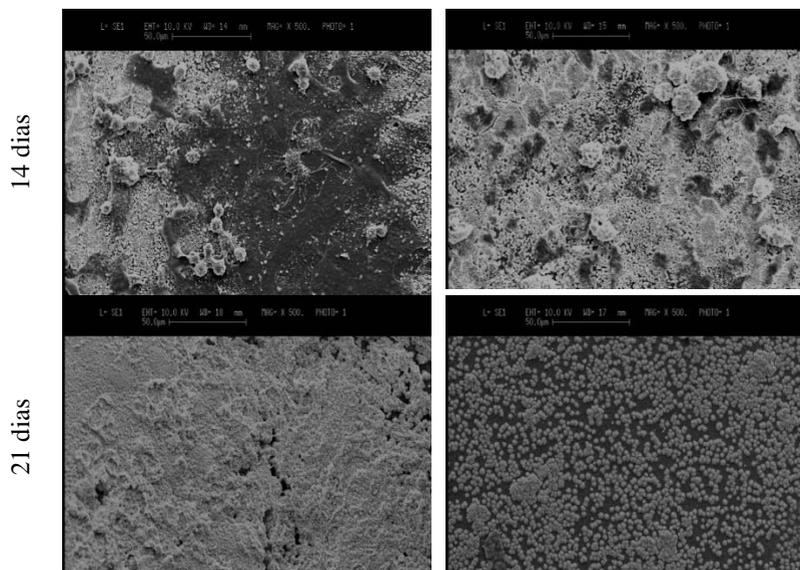


Figura 59. As imagens de MEV das placas PLGA_baixaT e PLGA_altaT cultivadas com células SAOS-2 durante 1, 3, 7, 14 e 21 dias (escala bar = 50 µm)

Após 1 dia de cultura, podem ser observadas células isoladas ligadas à superfície das placas PLGA e na fase de espalhamento. Nos momentos de tempo seguintes (isto é, 3 e 7 dias), as células proliferam e um número mais elevado de células colonizando a superfície das placas moldadas por injeção pode ser detectado na área observada. Após 7 dias de cultura, as células SAOS-2 confluentes mostraram cobrir a superfície das placas de PLGA. Além disso, a partir do dia 7, as partículas submicrométricas, que podem ser identificadas como depósitos de fosfato de cálcio, podem ser observadas na superfície das amostras, indicando assim que as células SAOS-2 começam a produzir matriz inorgânica extracelular. A composição química destas partículas submicrométricas foi qualitativamente avaliada por análise de EDX (Figura 60).

240 °C

280 °C

controle

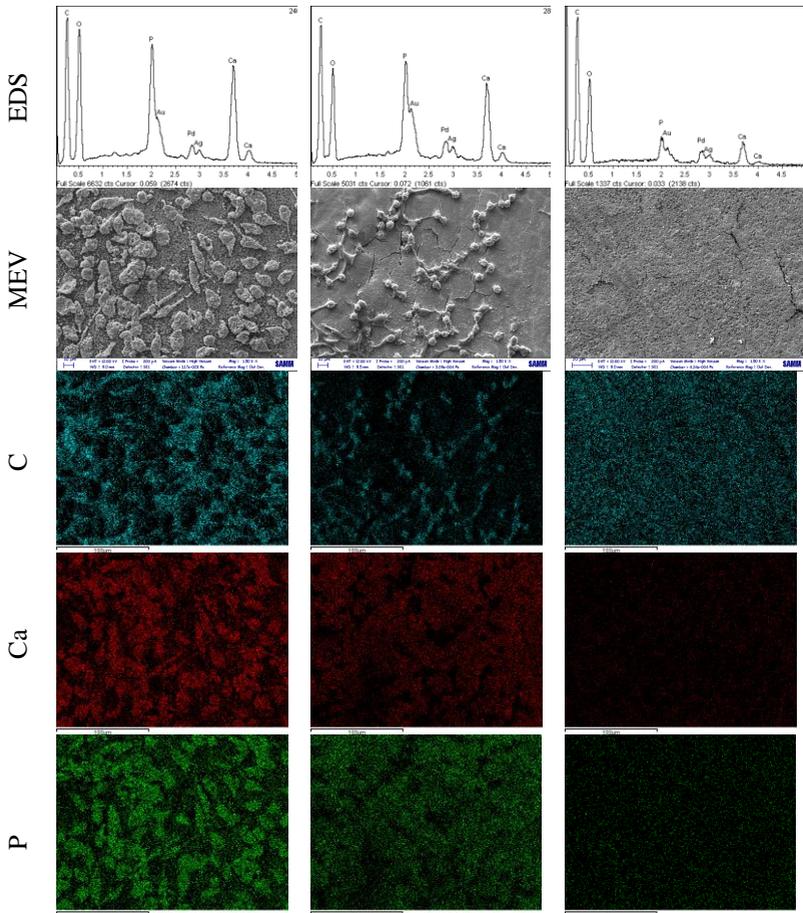


Figura 60. As imagens de MEV (escala bar = 10 μm) e o mapeamento químico EDX de carbono (C, azul), cálcio (Ca, vermelho) e fósforo (P, verde) das placas PLGA_baixaT e PLGA_altaT moldadas por injeção semeadas com células SAOS-2 após 7 dias de cultura e placas de controle (isto é, sem células)

Selecionou-se uma área aleatória das placas semeadas e adquiriu-se uma imagem de MEV; posteriormente, o mapa de C (azul), Ca (vermelho) e P (verde) foi reconstruído por EDX da mesma área e relatado juntamente com os picos de intensidade dos elementos identificados. É possível observar uma deposição evidente e uniforme de partículas que são claramente identificadas por EDX como depósitos

inorgânicos (isto é, Ca e P), confirmando assim a observação MEV (Figura 59).

Além disso, pode ser observado um aumento nos depósitos inorgânicos, comparando as placas semeadas com os controles (i.e., placas não semeadas cuja fase inorgânica pode ser referida a deposição de sais durante as lavagens com PBS). De fato, os picos de intensidade de Cálcio e Fósforo, quando comparados com o pico de Carbono, são mais elevados para placas PGLA semeadas com células em comparação com os controles, confirmando assim um papel ativo das células na deposição de matriz extracelular inorgânica.

IV.4.4. Atividade de ALP

A atividade de ALP representa um dos parâmetros mais característicos da atividade osteoblástica. A atividade de ALP de células SAOS-2 cultivadas em PLGA_baixaT e PLGA_altaT moldados por injeção e em TCPS utilizadas como controles é mostrada na Figura 58 (b), normalizada sobre o teor de proteína total medido pelo ensaio de BCA. A tendência da atividade da ALP no tempo é semelhante ao comparar as amostras de PLGA e TCPS: em todos os casos, a atividade de ALP é estável nos primeiros 3 dias de cultura ($p < 0,05$), enquanto começa a crescer após 7 dias de cultura ($p < 0,05$) em cada condição moldada por injeção. A expressão de ALP, aumentando ao longo do tempo, indica que as placas PLGA são capazes de suportar a atividade de osteoblastos como as células SAOS-2.

Para todas as variáveis, o teste foi utilizado para comparações múltiplas, uma vez que não apresentaram distribuição normal ou homogeneidade de variâncias ($p < 0,05$). O nível de significância foi de 5%. Ao longo do período de cultura de células (1, 3, 7, 14 e 21 dias), a viabilidade para as amostras injetadas a 240 ° C cresceu 22 vezes em comparação com o primeiro dia e 8 vezes para amostras moldadas a 280 ° C. No entanto, as taxas de viabilidade celular diminuíram (como mostrado na Figura 61). Houve também uma mudança entre os grupos avaliados (240 e 280 ° C) até o sétimo dia de cultura celular, embora para os períodos de 14 e 21 dias não houve significância entre os fatores.

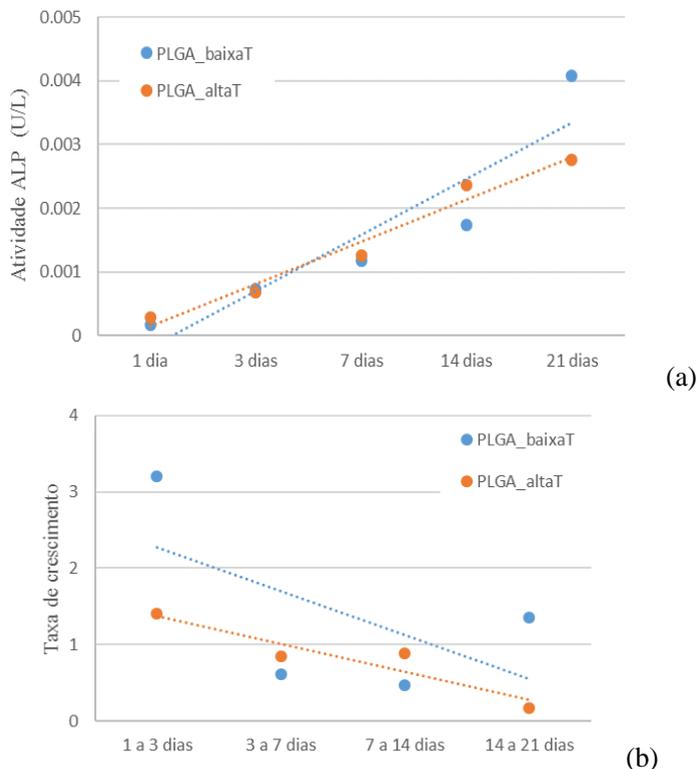


Figura 61. Análise estatística da atividade de ALP: (a) crescimento e (b) taxa de crescimento da viabilidade celular.

IV.5. DISCUSSÃO

O procedimento proposto de cultura celular *in vitro* [8] foi adotado para reproduzir a placa craniofacial PLGA em estrutura tecidual óssea. Nas cirurgias craniofaciais [9, 10], a região central da placa é posicionada perpendicularmente à fratura óssea a ser reparada e geralmente, ou quando possível, a fratura fica entre dois furos da placa (Figura 56). A posição da placa no osso permite a colonização das células na placa em contato com o local da fratura e proporciona uma maior estabilidade das placas em relação à tensão e flexão requeridas na fixação do sistema de parafuso de placas. À medida que o processo de cicatrização inicia, as células ósseas procedem à migração da fratura para a superfície do implante na região central da placa. Neste trabalho, as células SAOS-2 foram semeadas na superfície da placa PLGA entre dois

furos, para simular a colonização *in vivo*. Após a sementeção, a capacidade das células SAOS-2 de colonizar a superfície do implante foi claramente evidenciada por MEV (Figura 59). De fato, após 7 dias de cultura, foi possível observar a colonização de toda a superfície do implante, particularmente evidente após 14 e 21 dias de cultura. Além disso, tal como observado em imagens do MEV a colonização das células foi distribuída a partir do centro da placa onde se semeou (entre os furos) pela borda. A cultura de células SAOS-2 confirmou claramente a capacidade das placas de PLGA moldadas por injeção à adesão celular, espalhamento e proliferação nos implantes, contribuindo assim para a promoção da deposição de matriz extracelular inorgânica e subsequente regeneração do tecido ósseo durante a degradação do implante, em caso *in vivo*. A atividade dos osteoblastos SAOS-2 foi confirmada qualitativamente, observando-se a deposição de matriz inorgânica, e quantitativamente, medindo a expressão da atividade de ALP que está estritamente relacionada ao crescimento ósseo. Após 7 dias, o aumento da atividade de ALP de células SAOS-2 pode estar relacionado com o seu papel ativo na deposição de matriz inorgânica no implante.

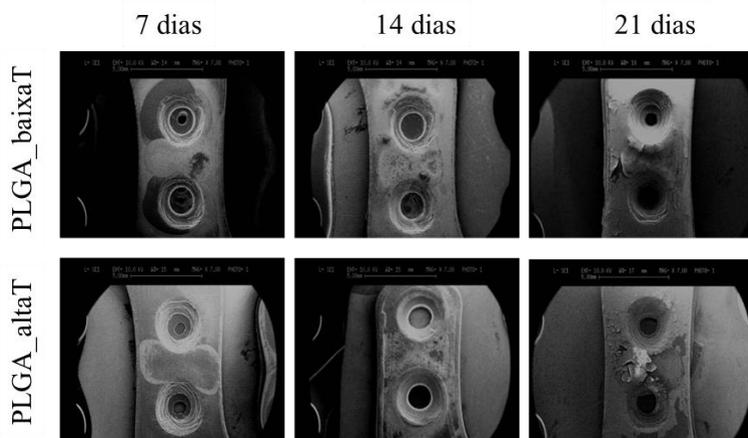


Figura 62. Imagens do MEV mostrando o centro das placas do PLGA_baixaT moldado por injeção e do PLGA_altaT semeadas com células SAOS-2 após 7, 14 e 21 dias (escala bar = 5 mm).

Os ensaios *in vitro* permitiram observar sinais de degradação das placas PLGA devido à hidrólise, como observado na Figura 62. Particularmente, após 7, 14 e 21 dias de cultura, foram identificadas fissuras de superfícies causadas por hidrólise de PLGA devido ao contato

com cultura média. No entanto, a degradação superficial e o craqueamento observados, em ambas as condições, não interferiram na adesão, proliferação e diferenciação das células, não influenciando a colonização do implante.

IV.6. CONCLUSÃO

Neste capítulo, a capacidade das placas de PLGA de dar suporte à adesão, disseminação e proliferação de células SAOS-2 foi confirmada por testes *in vitro*, contribuindo para a deposição de matriz extracelular inorgânica e subsequente regeneração do tecido ósseo, durante a degradação do implante.

IV.7. REFERENCIAS

- [1] CICCONE, W., Motz, C., Bentley, C., Tasto, J. Bioabsorbable Implants in Orthopaedics: New Developments and Clinical Applications. J Am Acad Orthop Surg.; vol. 9: p. 280-288. 2001.
- [2] Pamula E, Kokoszka J, Cholewa-Kowalska K Et Al. Degradation, Bioactivity, And Osteogenic Potential Of Composites Made Of Plga And Two Different Sol–Gel Bioactive Glasses. Biomedical Engineering. 2011 Aug. 39 (8) 2114–2129.
- [3] BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A. C. Polímeros Bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos. Polímeros: Ciência e Tecnologia, vol. 15, nº 1, p. 13-21, 2005
- [4] Chu Xh, Xu Q, Feng Zq, Xiao Jq, Qiang Li, Sun Xt, Cao Y And DinG Yt. In Vitro Biocompatibility Of Polypyrrole/Plga Conductive Nanofiber Scaffold With Cultured Rat Hepatocytes. Mater. Res. Express 1 (2014) 035402
- [5] Soares Aq; Oliveira L; François Et Al. Polímeros Biodegradáveis: Novas Prespectivas Para Ciências Farmacêuticas. Rev. Eletrônica De Farmácia. 2005.
- [6] A. Doğan, S. Demirci, Y. Bayir, Z. Halici, E. Karakus, A. Aydin, E. Cadirci, A. Albayrak, E. Demirci, A. Karaman, Boron containing poly-(lactide-co-glycolide)(PLGA) scaffolds for bone tissue engineering, Mater. Sci. Eng. C 44 (2014) 246–253.
- [7] Hejazi F, Mirzadeh H, Contessi N, Tanzi MC, Faré S. Novel class of collector in electrospinning device for the fabrication of 3D nanofibrous structure for large defect load-bearing tissue engineering application. J Biomed Mater Res A. (2016)

[8] S. Farè, P. Torricelli, G. Giavaresi, S. Bertoldi, A. Alessandrino, T. Villa, M. Fini, M. C. Tanzi, G. Freddi, In vitro study on silk fibroin textile structure for Anterior Cruciate Ligament regeneration, *Materials Science and Engineering: C*, 33 (2013) 3601-3608.

[9] Mutaz B. Habal, Bioresorbable skeletal fixation systems in craniofacial surgery, *Operative Techniques in Plastic and Reconstructive Surgery*, 9 (2002) 31-35.

[10] Persing, J., Posnick, J., Magge, S., et al. Cranial plate and screw fixation in infancy: An assessment of risk. *J. Craniofac. Surg.* 7 (1996) 267.

3. CONCLUSÃO GERAL E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram investigados a influência dos parâmetros de processamento da moldagem por injeção em relação às propriedades do copolímero bioreabsorvível poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) para o estudo biomecânico da degradação *in vitro* de placas craniofaciais.

Ao fabricar corpos de prova pela moldagem por injeção em PLGA e relacionar os parâmetros de processamento (isto é, temperatura do fundido e vazão de injeção) com propriedades mecânicas e físico-químicas em duas geometrias de corpos de prova (entalhados e não entalhados), investigados no Capítulo I, verificou-se os efeitos da presença do entalhe em relação propriedades do material como a característica mais influente. Esse parâmetro é tomado como base para o estudo das placas, uma vez que a geometria estudada apresenta furos para o encaixe dos parafusos ao longo do comprimento da placa, caracterizados por concentradores de tensão. Tal fato associado às diferenças de temperatura do fundido da moldagem por injeção, alteraram a microestrutura do material moldado, como descrito no Capítulo III. Além disso, a geometria das placas craniofaciais estudada permitiu a moldagem por injeção do material polimérico bioreabsorvível. O desenvolvimento de canais de injeção evitou desperdício de material, uma vez que permitiu a fabricação de quatro placas por ciclo de injeção.

Com base nos dados apresentados, a condição mais adequada para se trabalhar na moldagem por injeção, no entanto, é aquela que envolve temperaturas mais baixas durante o processamento (isto é, PLGA_baixaT). Essa temperatura promove maior estabilidade térmica microestrutural do material moldado, ocasionando perdas gradativas de propriedades ao longo da degradação, ou seja, sem grandes oscilações nas propriedades físico-químicas, como ocorre quando o material é injetado a temperaturas mais altas. As diferenças na cristalinidade demonstraram que temperaturas mais altas de injeção resultam em maior resistência mecânica, porém maior perda de massa molecular.

Os testes de biocompatibilidade *in vitro* permitiram concluir a capacidade das placas de PLGA de dar suporte à adesão, proliferação e diferenciação das células SAOS-2, contribuindo para a deposição de matriz extracelular inorgânica e subsequente regeneração do tecido ósseo, durante a degradação do implante.

3.1. PROPOSTA DE TRABALHOS FUTUROS

Algumas considerações observadas ao longo do desenvolvimento deste trabalho poderiam ser aprofundadas para a continuidade da pesquisa, tais como:

- I. Fabricar corpos de prova pela moldagem por injeção em PLGA e relacionar demais parâmetros de processamento (tais como, temperatura da molde, pressão de recalque e pressão de injeção) com propriedades mecânicas e físico-químicas nas duas geometrias de corpos de prova estudadas no Capítulo I.
- II. Repetir o teste de flexão três pontos descrito no Capítulo III, considerando o estudo dos furos das placas através de análise de elementos finitos.
- III. Avaliar o procedimento estudado com outros valores intermediários de temperatura para análise estatística.
- IV. Avaliar outras geometrias de placas craniofaciais.

4. ANEXO 1 – CAPÍTULO I

“Análise estatística dos fatores temperatura do fundido T, vazão de injeção Q e presença do entalhe E”

Anova: fator único

Rigidez (GPa)

RESUMO

Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância
E-1, T+1: 240°C e V+1: 25cm3/s	3	10.5	3.5	0.01
E-1, T+1: 240°C e V-1: 10cm3/s	3	10.2	3.4	0.01
E-1, T-1: 210°C e V+1: 25cm3/s	3	11.1	3.7	0.04
E-1, T-1: 210°C e V-1: 10cm3/s	3	11.9	3.966667	0.063333
E+1, T+1: 240°C e V+1: 25cm3/s	3	16.7	5.566667	0.173333
E+1, T+1: 240°C e V-1: 10cm3/s	3	14.3	4.766667	0.043333
E+1, T-1: 210°C e V+1: 25cm3/s	3	14.3	4.766667	0.163333
E+1, T-1: 210°C e V-1: 10cm3/s	3	14.3	4.766667	0.083333

ANOVA

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	12.53625	7	1.790893	24.42127	2.1E-07	2.657197
Dentro dos grupos	1.173333	16	0.073333			
Total	13.70958	23				

CONCLUSÃO

H0: médias são iguais

F > F crítico: rejeita H0

Anova: fator único

Tensão máxima (MPa)

RESUMO

Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância
E-1, T+1: 240°C e V+1: 25cm3/s	3	190.24	63.41333	1.200033
E-1, T+1: 240°C e V-1: 10cm3/s	3	186.79	62.26333	5.373308
E-1, T-1: 210°C e V+1: 25cm3/s	3	186.895	62.29833	9.002408
E-1, T-1: 210°C e V-1: 10cm3/s	3	194.55	64.85	1.2544
E+1, T+1: 240°C e V+1: 25cm3/s	3	189.17	63.05667	1.463858
E+1, T+1: 240°C e V-1: 10cm3/s	3	196.455	65.485	1.904725
E+1, T-1: 210°C e V+1: 25cm3/s	3	162.0055	54.00183	120.0879
E+1, T-1: 210°C e V-1: 10cm3/s	3	202.86	67.62	0.455175

ANOVA

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	338.9709	7	48.42442	2.752524	0.044313	2.657197
Dentro dos grupos	281.4837	16	17.59273			
Total	620.4546	23				

CONCLUSÃO

H0: médias são iguais

F > F crítico: rejeita H0

Anova: fator único

Tensão na ruptura (MPa)

RESUMO

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
E-1, T+1: 240°C e V+1: 25cm3/s	3	169.56	56.52	8.357475
E-1, T+1: 240°C e V-1: 10cm3/s	3	164.52	54.84	13.23723
E-1, T-1: 210°C e V+1: 25cm3/s	3	170.34	56.78	4.092775
E-1, T-1: 210°C e V-1: 10cm3/s	3	166.46	55.48667	4.350233
E+1, T+1: 240°C e V+1: 25cm3/s	3	171.22	57.07333	2.138958
E+1, T+1: 240°C e V-1: 10cm3/s	3	177.59	59.19667	1.916358
E+1, T-1: 210°C e V+1: 25cm3/s	3	155.3115	51.7705	56.06048
E+1, T-1: 210°C e V-1: 10cm3/s	3	175.44	58.48	3.2809

ANOVA

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	111.9642	7	15.99489	1.369508	0.28331	2.657197
Dentro dos grupos	186.8688	16	11.6793			
Total	298.833	23				

CONCLUSÃO

H0: médias são iguais

F < F crítico: aceita H0

Anova: fator único

Deformação na ruptura (%)

RESUMO

<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
E-1, T+1: 240°C e V+1: 25cm3/s	3	20.63221	6.877403	3.647183
E-1, T+1: 240°C e V-1: 10cm3/s	3	28.62064	9.540214	18.70514
E-1, T-1: 210°C e V+1: 25cm3/s	3	17.73936	5.913119	3.892853
E-1, T-1: 210°C e V-1: 10cm3/s	3	22.30335	7.434451	1.244074
E+1, T+1: 240°C e V+1: 25cm3/s	3	15.49207	5.164023	0.097455
E+1, T+1: 240°C e V-1: 10cm3/s	3	17.2706	5.756868	0.21675
E+1, T-1: 210°C e V+1: 25cm3/s	3	13.06308	4.354358	1.04331
E+1, T-1: 210°C e V-1: 10cm3/s	3	21.33631	7.112104	0.25013

ANOVA

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	53.74675	7	7.678107	2.111045	0.102307	2.657197
Dentro dos grupos	58.19379	16	3.637112			
Total	111.9405	23				

CONCLUSÃO

H0: médias são iguais

F < F crítico: aceita H0