

EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NO COMPORTAMENTO *IN VITRO* DE UM POLÍMERO BIOABSORVÍVEL¹

Rodrigo Pinheiro Ribeiro²
Cláudia Maria Chagas Bonelli³
Ricardo Pondé Weber⁴
João Carlos Miguez Suarez⁵

Resumo

A esterilização por irradiação gama de produtos fabricados com polímeros bioabsorvíveis vem crescendo substancialmente devido à alta eficiência, à não elevação da temperatura e à possibilidade do material ser esterilizado na sua embalagem final. A exposição à agentes ambientais modifica a estrutura macromolecular dos polímeros alterando as suas propriedades e o seu desempenho em serviço. Neste trabalho foi estudado o comportamento de um copolímero, de origem comercial, o poli(ácido L-lático-co-ácido D,L-lático) (PLDLLA), antes e após imersão em solução salina tamponada. A avaliação do PLDLLA foi realizada por meio de físico-químicos (determinação do peso molecular e espectroscopia no infravermelho), ensaios mecânicos (microdureza e tração) e microscopia eletrônica de varredura. O copolímero, após imersão na solução salina, apresentou, em relação as amostras irradiadas, redução das propriedades mecânicas. Os resultados obtidos permitem concluir que o PLDLLA estudado pode ser aplicado na fabricação de componentes biomédicos, desde que seja estabelecido um protocolo específico de produção.

Palavras-chave: Biopolímero; PLDLLA; Solução salina; Degradação.

EFFECT OF GAMMA RAYS ON THE *IN VITRO* BEHAVIOR OF A BIOABSORBABLE POLYMER

Abstract

The bioabsorbable polymers used over in the biomedical industry need to be sterilized before utilization. The sterilization of biomedical products by gamma irradiation has increased substantially due to its high efficiency, no temperature raising and the possibility of the material to be sterilized in sealed final packing. However the macromolecular structure of polymeric materials is modified by the exposure to ambiental agents and, in consequence, can present degradation. In the present work the behavior of a commercial poly(L-lactide-co-DL-lactide) (PLDLLA) copolymer was studied, before and after immersion in a phosphate-buffered saline solution. Physicochemical (molecular weight determination and infrared spectroscopy) and mechanical (microhardness and tension) tests and scanning electron microscopy were used to evaluate the copolymer. The copolymer samples after imersion in the saline solution showed lower properties as compared to the irradiated ones. The variation in the properties can be attributed to occurrence of hydrolitic degradation of the copolymer as confirmed by the physicochemical tests results. The obtained results permit to conclude that the studied PLDLLA is adequate for biomedical components manufacture, since it is performed according to a standardized application method.

Key words: Biopolymer; PLDLLA; Saline solution; Degradation.

¹ *Contribuição técnica ao 63º Congresso Anual da ABM, 28 de julho a 1º de agosto de 2008, Santos, SP, Brasil*

² *Dentista e Mestre em Ciências, Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, RJ.*

³ *Engenheiro e Doutor em Ciências, Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, RJ.*

⁴ *Engenheiro e Mestre em Ciências, Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, RJ.*

⁵ *Sócio da ABM, Engenheiro e Doutor em Ciências, Professor Emérito, Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, RJ.*

1 INTRODUÇÃO

O tratamento odontológico tem como objetivo recuperar a estrutura anatômica dos dentes e a função oral associada à mastigação e à fala, exigindo o uso de materiais de alta qualidade e adequada estética. O interesse no uso de materiais poliméricos em aplicações odontológicas tem crescido nos últimos anos, desde que, no século XIX, quando, por volta de 1848, a guta percha passou a ser utilizada em moldagens. Posteriormente, em 1854, a borracha vulcanizada foi introduzida como base de próteses totais, tendo sido usado até a década de 30, quando foi substituída pelo poli(metacrilato de metila) (PMMA), primeiro polímero rígido utilizado em odontologia. Na década de 1940, foram introduzidos os fios de sutura fabricados em náilon (poliamida, PA), uma maior utilização do PMMA e o emprego de diversos tipos de poliésteres.^[1,2]

Vários tratamentos médicos e odontológicos necessitam, para a sua efetivação, de um biomaterial de vida curta, temporário, o que levou ao desenvolvimento dos chamados “polímeros bioabsorvíveis”, que, face não serem fisiologicamente inertes e serem biodegradáveis, podem ser absorvidos, ao longo do tempo, pelos mecanismos naturais do corpo humano. Estes materiais vêm apresentando, com o passar do tempo, um grande desenvolvimento, sendo utilizados em diversas especialidades da medicina e da odontologia, tais como ortopedia, oftalmologia, ortodontia, cirurgia bucomaxilofacial etc. No final da década de 60 foi disponibilizado, para fins médicos, o primeiro produto comercial produzido com um polímero bioabsorvível, o fio de sutura marca DEXON®, fabricado com o poli(ácido glicólico), *polyglycolic acid*, (PGA).^[3] Desde então os polímeros sintéticos bioabsorvíveis têm apresentado uma grande evolução e outros polímeros biodegradáveis, em especial vários tipos de poliésteres, estão sendo desenvolvidos e utilizados.

Os polímeros bioabsorvíveis necessitam, para a sua utilização, ser esterilizados; o emprego da irradiação gama na esterilização de produtos biomédicos vem crescendo substancialmente devido à alta eficiência, não elevação de temperatura e possibilidade do material ser esterilizado na sua embalagem final lacrada. Todavia a estrutura macromolecular dos materiais poliméricos é, de uma maneira geral, modificada pela exposição à radiação gama e, em consequência, o polímero pode apresentar alterações macromoleculares que podem influenciar o seu desempenho.

No presente trabalho foi estudado o comportamento *in vitro* do copolímero poli(ácido L-lático-co-ácido D,L-lático) (PLDLLA), irradiado e não irradiado, antes e após imersão em solução salina tamponada. A avaliação do copolímero, antes e após estes procedimentos, foi realizada por meio de ensaios físico-químicos (determinação do peso molecular e espectroscopia no infravermelho) e mecânicos (microdureza e tração) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

2 EXPERIMENTAL

Neste trabalho foi estudada uma amostra comercial de um copolímero de poli(ácido lático) (PL/DL 70/30), o poli(ácido L-lático-co-ácido D,L-lático) (PLDLLA), marca PURASORB®; da PURAC biochem (Gorinchem, Holanda), fornecido, sob a forma de grânulos esféricos (*pellets*) (Figura 1), pela empresa Conexão Sistemas de Prótese (São Paulo, SP).



Figura 1 - Aspectos do material “como recebido”: (a) embalagem de acondicionamento dos grânulos de PLDLLA; (b) fotografia, por microscopia eletrônica de varredura (MEV), de um grânulo (aumento original: 50x)

A partir dos grânulos de PLDLLA foram fabricadas, por compressão, placas quadradas com 100 mm de lado e 1,0 mm de espessura em uma prensa Carver, na pressão de 8,5 MPa e temperatura de 190°C por 3 minutos, obtendo-se, a partir destas placas, corpos de prova de tração, por corte a frio.

O material, sob a forma de corpos de prova (CP's) de tração, foi dividido em 4 (quatro) grupos, permanecendo um “como recebido”, considerado “como referência”, enquanto que os demais foram expostos à radiação gama, tendo recebido doses totais de 15kGy, 25kGy e 35kGy, que foram selecionadas considerando-se os valores constantes da literatura.^[3-5]

Os corpos de prova de tração, não irradiados e irradiados, bem como amostras para os ensaios físico-químicos, foram imersos em uma solução salina de fosfato tamponada (*phosphate-buffered saline solution*, PBS), por seis semanas, na temperatura de 37°C.^[6] O pH da solução foi mantido em $7,4 \pm 0,2$, que é um valor representativo do pH do sangue humano.^[7] Para a obtenção de condições mais estáveis na degradação trabalhou-se com altas razões solução / massa da amostra, pois menores relações podem modificar rapidamente o pH da solução.

O PLDLLA foi caracterizado, antes e após imersão na solução salina, por meio dos ensaios físico-químicos (determinação do peso molecular viscosimétrico, espectroscopia no infravermelho, FTIR, análise termogravimétrica, TGA, e calorimetria diferencial de varredura, DSC), ensaios mecânicos (microdureza e tração) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

A caracterização físico-química teve como objetivo verificar a ocorrência de alterações estruturais no material em face da sua exposição ao ambiente, irradiação gama e imersão em solução salina. As modificações induzidas na estrutura do copolímero foram analisadas e correlacionadas com os resultados dos ensaios mecânicos e com as condições de degradação ambiental.

2.1 Caracterização Físico-Química

As amostras para os ensaios físico-químicos foram retiradas das aparas resultantes do corte das placas para a confecção dos corpos de prova de tração em todas as condições do material.

A determinação do peso molecular viscosimétrico médio foi realizada em um viscosímetro Ubbelohde, na temperatura de 25°C, utilizando na preparação das soluções o clorofórmio como solvente, conforme prescrito na norma ASTM D2857.^[8]

A viscosidade intrínseca (η) se relaciona com o peso molecular de um polímero monodisperso pela equação de Mark-Houwink:

$$[\eta] = K.M^\alpha, \text{ onde}$$

K e α são constantes dependentes do viscosímetro, do tipo de solvente usado e da temperatura de ensaio, que são calculadas através de medidas viscosimétricas de diversas frações monodispersas de um determinado polímero.

Para as condições do ensaio, viscosímetro Ubbelohde, clorofórmio e temperatura de 25°C, foram utilizados os seguintes valores: $K = 2,21 \times 10^{-4}$ e $\alpha = 0,77$.^[9]

A viscosidade intrínseca foi obtida pela extrapolação gráfica da relação da viscosidade reduzida com a concentração, conforme a equação de Huggins:

$$\eta_{\text{red}} = [\eta_{\text{sp}} / c] = [\eta] + K'. [\eta]^2. c, \text{ onde}$$

$\eta_r = t / t_0 =$ viscosidade relativa (adimensional)

$\eta_{\text{sp}} = \eta_r - 1 =$ viscosidade específica (adimensional)

$\eta_{\text{red}} = \eta_{\text{sp}} / c =$ viscosidade reduzida (dl/g)

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi executada em um espectrômetro Perkin-Elmer, modelo 1710, empregando-se a técnica da pastilha de KBr. Os espectros de IR foram obtidos, antes e após exposição aos agentes ambientais, na região entre 4000-400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras em cada ensaio, tendo sido processados em um gerenciador de dados Perkin-Elmer (IRDM). Para o acompanhamento da degradação apresentada pelo PLDLLA e resultante da exposição aos agentes ambientais foi determinado um índice de oxidação (IO) que representa a variação da quantidade de grupos carbonila. O IO foi calculado por meio da razão entre a intensidade do pico de absorção em 1751 cm^{-1} referente à vibração de estiramento da carbonila e a intensidade do pico de absorção em 1093 cm^{-1} referente ao estiramento da banda C—O.^[10,11]

$$\text{IO} = [A (1751) / A (1093)], \text{ onde:}$$

A (1751) = intensidade do pico referente à absorção em 1751 cm^{-1}

A (1093) = intensidade do pico referente à absorção em 1093 cm^{-1}

2.2 Caracterização Mecânica

O ensaio de microdureza Knoop foi realizado, na temperatura ambiente, em um microdurômetro Buehler, modelo Micromet 2003, segundo a norma ASTM E384,^[12] utilizando-se carga de 10g. Foram realizadas, para cada condição do PLDLLA, 5 (cinco) impressões de microdureza em fragmentos do copolímero embutidos em poli(metacrilato de metila) (PMMA, calculando-se um valor médio de dureza para cada condição do material.

O ensaio de tração foi realizado segundo a norma ASTM D638M^[13] em uma máquina universal de ensaios marca EMIC, modelo DL10000, na velocidade de 2mm/min e na temperatura ambiente. Foram ensaiados, por situação, cinco corpos de prova (CP's) em média, determinando-se, para cada um, a resistência à tração e o alongamento na ruptura.

2.3 Exame fratógráfico

O exame fratógráfico foi realizado em um microscópio eletrônico de varredura marca JEOL modelo JSM 5800LV, pela observação direta da topografia das superfícies de fratura de corpos de prova ensaiados em tração, procurando-se correlacionar as modificações produzidas pela irradiação e pela imersão na solução salina com o mecanismos de fratura, dúctil ou frágil, do PLDLLA e com os resultados numéricos do ensaio de tração. Antes do exame ao microscópio, as superfícies de fratura foram recobertas com ouro, em uma câmara a vácuo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização Físico-Química

Na Figura 2 estão mostrados os resultados obtidos nos ensaios físico-químicos das amostras de PLDLLA, em função da dose de radiação gama, antes e após a imersão na solução salina. Observa-se que o peso molecular viscosimétrico médio e o índice de oxidação variam de maneira similar, demonstrando que estas características físico-químicas foram afetados de maneira semelhante pela imersão na solução salina tamponada.

Verifica-se que a imersão em solução salina degrada significativamente o PLDLLA, não irradiado e irradiado, conforme indicado pela redução no peso molecular viscosimétrico médio do copolímero. A degradação pode ser atribuída à instabilidade hidrolítica do PLDLLA conforme já observado em outros trabalhos descritos na literatura.^[3,14]

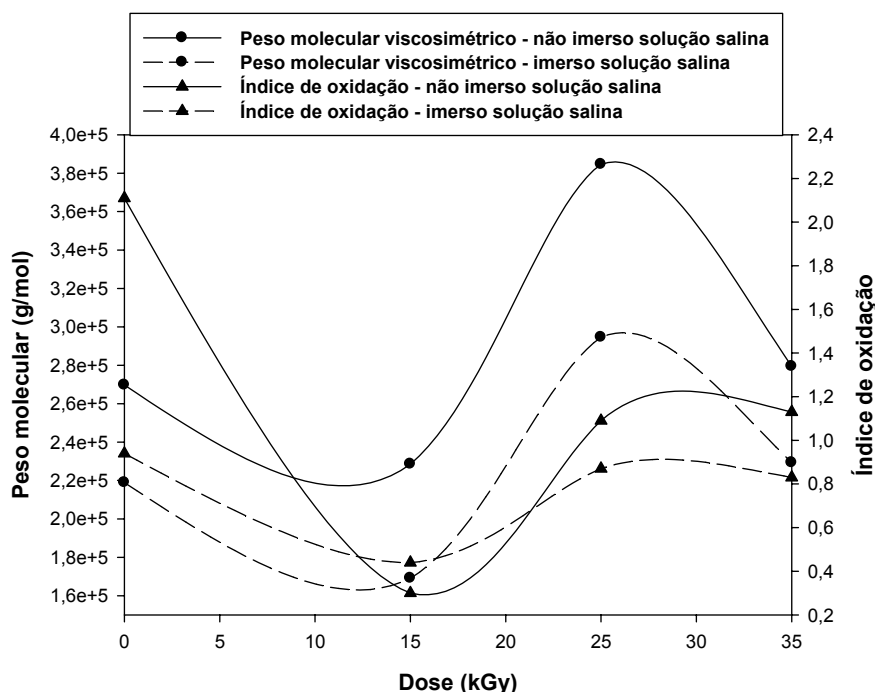


Figura 2 - Variação de propriedades físico-químicas do PLDLLA, em função da dose de radiação gama, antes e após a imersão na solução salina

A variação no índice de oxidação (IO) do PLDLLA indica que está ocorrendo modificações no grupo carbonila. Ao se comparar os valores de IO do PLDLLA, não irradiado e irradiado após a imersão na solução salina verifica-se que o

comportamento do IO depende da dose prévia de radiação gamma previa. O copolímero “como recebido”, não irradiado (0kGy), mostra, após a imersão na solução salina, uma redução acentuada no valor do IO, enquanto que o material irradiado, dependendo da dose de radiação, apresenta um comportamento errático. No irradiado com a dose de 15kGy o IO aumenta após a imersão, enquanto que nas doses maiores ocorre o inverso, o valor do IO do material irradiado e imerso na solução salina é menor do que o do somente irradiado.

Esta variação de valores pode ser atribuída à variação da estrutura do PLDLLA resultante da irradiação gama e ao modo como está ocorrendo a interação dos grupos carbonila terminais com o ambiente ácido. A irradiação gama ao ar é um processo controlado por difusão e a degradação do PLDLLA irradiado vai depender do tempo de exposição e das alterações macromoleculares resultantes, conforme haja predominância de cisão ou de reticulação. Assim, a degradação pode ser explicada considerando-se as interações entre as alterações macromoleculares resultantes da exposição à radiação gama e a degradação hidrolítica provocada pela imersão na solução salina. Na irradiação com a menor dose, 15kGy, as modificações macromoleculares são limitadas e o copolímero apresenta predominantemente cisão com uma menor formação de radicais carbonila. No material irradiado com as maiores doses (25kGy e 35kGy) ocorre predominância da reticulação sobre a cisão de cadeias, ocasionando o surgimento de uma estrutura mais compacta com uma maior resistência à absorção de água, o que, em consequência, produz um retardo na degradação hidrolítica do PLDLLA.^[3,5,15]

Adicionalmente, embora não mostrado neste trabalho, verifica-se, nos espectros de infravermelho do PLDLLA, não irradiado e irradiado, antes e após imersão na solução salina, a ocorrência de uma banda em 869cm^{-1} , que é relacionada à característica amorfa do material. Assim, a existência desta banda em todos os espectros indica que o copolímero permanece amorfo em todas as condições estudadas, isto é, irradiação gama e imersão em solução salina tamponada.^[15,16]

3.2 Caracterização Mecânica

Os valores médios das propriedades mecânicas (microdureza Knoop, resistência à tração e alongamento na ruptura) do PLDLLA, antes e após a imersão na solução salina, determinados a partir dos resultados individuais dos corpos de prova, estão mostrados na Figura 3 em função da dose de radiação gama.

As propriedades mecânicas, conforme já observado nos ensaios físico-químicos, apresentam um comportamento semelhante, antes e após a imersão na solução salina. De uma maneira geral sabe-se que quanto maior a dureza de um material, maior a resistência e menor a plasticidade.

A variação das propriedades mecânicas nos materiais poliméricos está diretamente relacionada ao seu peso molecular. Observa-se que o PLDLLA irradiado com a dose de 15kGy, que tem o menor peso molecular viscosimétrico médio, tanto antes como após a imersão na solução salina, mostra as maiores alterações nas propriedades mecânicas.

Verifica-se, ainda, independentemente da dose prévia de radiação gama, que a imersão na solução salina tamponada de TBS reduziu as propriedades mecânicas do PLDLLA e que as propriedades determinadas no ensaio de tração, resistência à tração e alongamento na ruptura, estão coerentes com os resultados do ensaio de microdureza. Esta redução nas propriedades mecânicas pode ser atribuída à

degradação hidrolítica resultante da imersão do PLDLLA na solução salina de TBS.^[4,14]

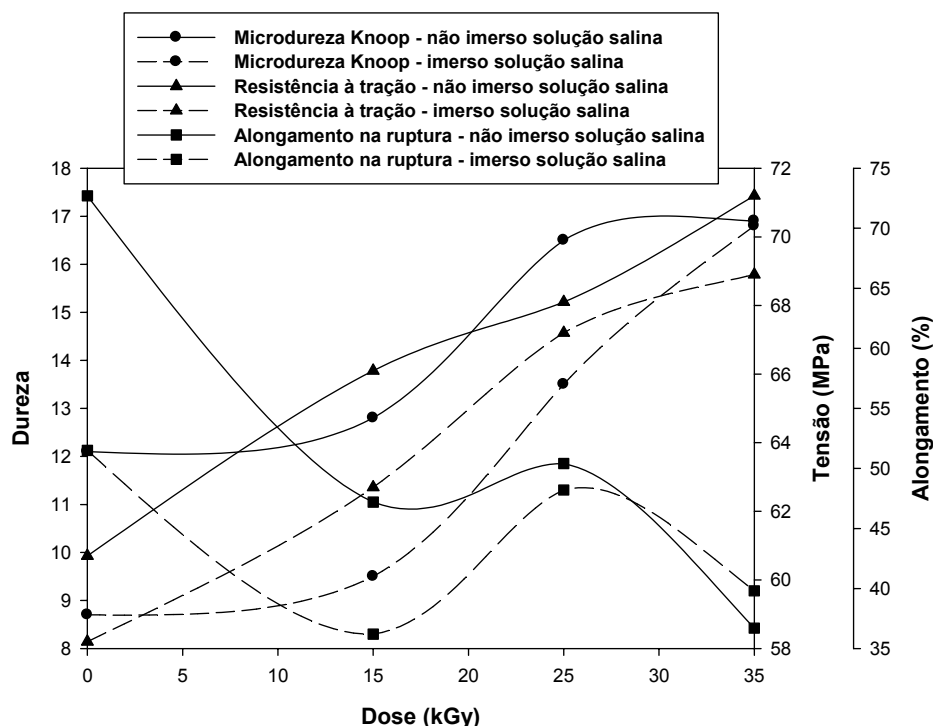


Figura 3 - Variação de propriedades mecânicas em tração, em função da dose de radiação gama, antes e após a imersão na solução salina

3.3 Exame Fratográfico

Microfotografias típicas, por microscopia eletrônica de varredura (MEV), das superfícies de fratura de corpos de prova ensaiados em tração, antes e após imersão na solução salina, estão mostradas, respectivamente, nas Figuras 4 e 5. A sua observação permite identificar aspectos topográficos característicos dos mecanismos de fratura em polímeros e que estão relacionados com o comportamento mecânico do material e, também, com as alterações macromoleculares produzidas no polímero pela irradiação gama e pela imersão na solução salina.

Na Figura 4 estão apresentadas microfotografias típicas, por MEV, das superfícies de fratura de corpos-de-prova de tração do polímero, antes da imersão na solução salina.

Verifica-se que as superfícies de fratura do polímero “como recebido” (não irradiado), antes da imersão na solução salina (Figura 4a), mostra a ocorrência de superfícies levemente irregulares tendo pequena rugosidade, facetas e áreas de rasgamento. Nas amostras irradiadas (Figuras 4b-4c) verifica-se, independentemente da dose de radiação gama, que as superfícies de fratura são mais lisas com “marcas de rios”, regiões de clivagem e trincas. Estes aspectos fratográficos indicam que o PLDLLA apresenta pequena ductilidade “como recebido” e que, após a exposição à radiação gama, nas doses estudadas, mostra uma maior fragilidade.

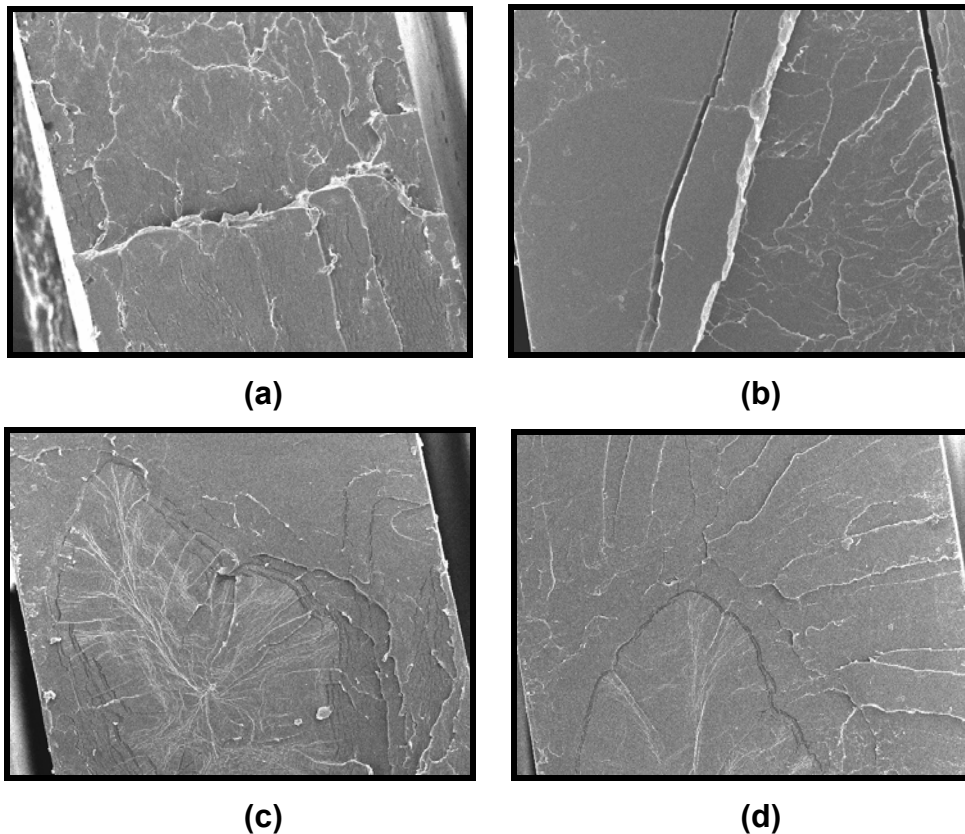


Figura 4 - Microfotografias por MEV de superfícies de fratura de corpos de prova do PLDLLA ensaiados em tração, antes da imersão na solução salina tamponada de TBS: (a) “como recebido” (0kGy); (b) irradiado com 15kGy; (c) irradiado com 25kGy; (d) irradiado com 35kGy.

Na Figura 5 estão mostradas microfotografias típicas, por MEV, das superfícies de fratura de corpos-de-prova de tração do polímero, após a imersão na solução salina.

Observa-se que as amostras, após imersão em solução salina, tanto no material “como recebido” como no irradiado, independentemente da dose de radiação gama, mostram superfícies de fratura bastante lisas com trincas e áreas de clivagem, aspectos típicos de um mecanismo de fratura frágil.

A ocorrência de superfícies de fratura mais planas indica que ocorreu uma redução na plasticidade do PLDLLA, comprovando a redução no alongamento na ruptura observada no PLDLLA, após a exposição à radiação gama e após imersão na solução salina tamponada.

A análise fratógráfica está conforme com os resultados obtidos nos ensaios mecânicos e nos físico-químicos.

4 CONCLUSÕES

A análise dos resultados dos ensaios realizados nas amostras do copolímero de poli(ácido láctico) (PL/DL 70/30), o poli(ácido L-láctico-co-ácido D,L-láctico) (PLDLLA), não irradiado e irradiado, antes e após imersão na solução salina tamponada de TBS, e considerando as informações obtidas na pesquisa bibliográfica, permite concluir o seguinte:

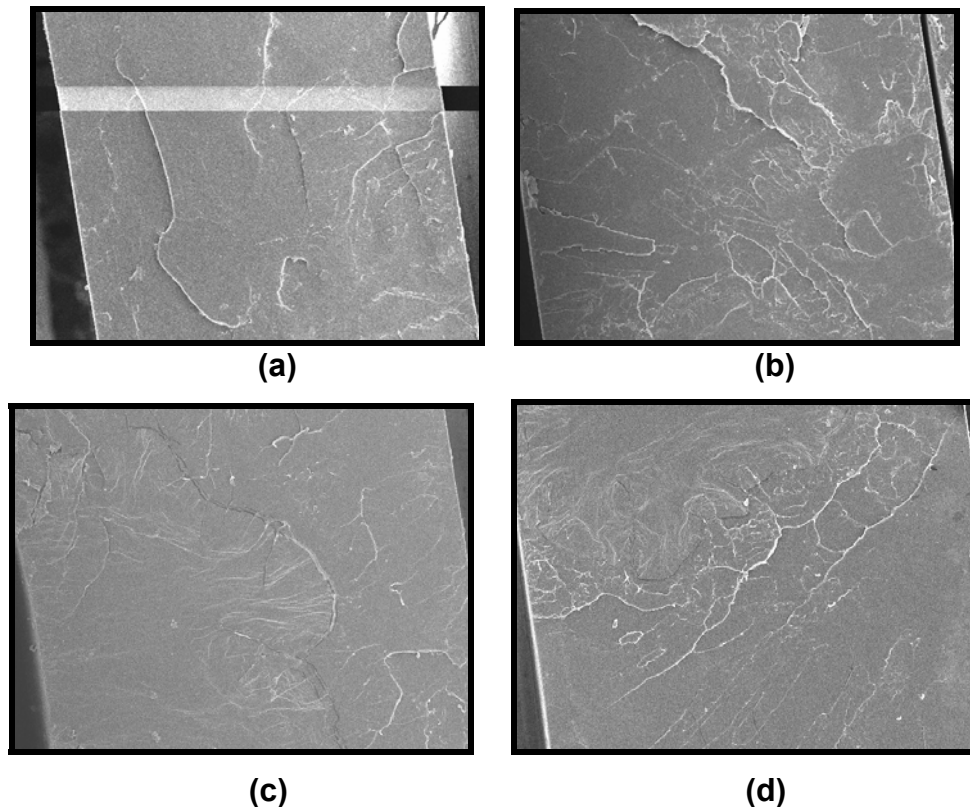


Figura 5 - Microfotografias por MEV de superfícies de fratura de corpos de prova do PLDLLA ensaiados em tração, após a imersão na solução salina tamponada de TBS: (a) “como recebido” (0kGy); (b) irradiado com 15kGy; (c) irradiado com 25kGy; (d) irradiado com 35kGy

- O PLDLLA mostrou-se sensível às situações de degradação estudada, imersão em solução salina tamponada.
- A redução do peso molecular do PLDLLA após imersão em solução salina pode ser atribuída à degradação hidrolítica do polímero.
- As propriedades mecânicas foram influenciadas pela exposição aos agentes ambientais e a combinação de propriedades mais adversa para o PLDLLA foi obtida no material irradiado com a dose de 15kGy e imerso na solução salina.
- O PLDLLA apresenta uma transição dúctil-frágil com a sua exposição às situações de degradação estudadas, mostrando uma diminuição na sua plasticidade.
- A análise fratográfica por microscopia eletrônica de varredura das superfícies de fratura de corpos de prova de tração permite a caracterização dos mecanismos de fratura do PLDLLA confirmando os resultados obtidos no ensaio de tração.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPERJ, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro e à Empresa Brasileira de Radiações – EMBRARAD pela irradiação das amostras.

REFERÊNCIAS

- 1 Dumitriu, S. Polymeric biomaterials. New York: Marcel Dekker. 1994.
- 2 Griffith, L.G. Polymeric biomaterials., *Acta Mater.* v.48, p.263-277, 2000.
- 3 Weir, N.A., Buchanan, F.J., Orr, J.F., Farrar, D.F. e Boyd, D.A. Processing, annealing and sterilization of poly-L-lactide. *Biomaterials.* v.25, p.3939-3949, 2004.
- 4 Laitinen, O., Törmälä, P., Taurio, R., Skutnabb, K., Saarelainen, K., Iivonen, T. e Vainionpää, S. Mechanical properties of biodegradable ligament augmentation device of poly(L-lactide) in vitro and in vivo. *Biomaterials.* v.12, p.112-115, 1992.
- 5 Middleton, J.C., Tipton, A.J. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials.* v.21, p.2335-2346, 2000.
- 6 Norma ASTM F1635. In vitro degradation testing of poly(L-lactid acid) resin and fabricated form for surgical implants, Standard test methods for. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, 1995.
- 7 Wyngaarden, JB, Smith Jr, LH, Bennett, JC. Tratado de medicina interna. 19^a ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1993.
- 8 Norma ASTM D2857. Dilute solution viscosity of polymers, Standard practice for. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, 1995.
- 9 Proikakis, N.J., Mamouzelos, P.A., Tarantili, A.G. Swelling and hydrolytic degradation of poly(D,L-lactid acid) in aqueous solutions. *Polym. Deg. Stab.* v.84, p.1-6, 2005.
- 10 Garlotta, D. A literature review of poly(lactide acid). *J. Polym. Environment.* v.9, p.63-84, 2001.
- 11 Drumond, W.S., Wang, S.H., Mothé, C.G. Síntese e caracterização do copolímero poli (ácido láctico-*B*-glicol etilênico), *Polímeros: Ciência e Tecnologia.* v.14, p.74-79, 2004.
- 12 Norma ASTM E384. Microindentation hardness of materials. Standard test methods for. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, 2005a.
- 13 Norma ASTM D638, Tensile properties of plastics, Standard Test Methods for (2001), American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA.
- 14 Gutwald, R., Schön, R., Gellrich, N.C., Schramm, A., Schmelzeisen, R., Pistner, H. Bioresorbable implants in maxillo-facial osteosynthesis: Experimental and clinical experience. *Injury. Int. J. Care Injured,* v.33, p.4-16, 2002.
- 15 Gupta, M.C., Deshmukh, V.G. Radiation effects on poly(lactic acid). *Polymer.* v.24, p.827-830, 1982.
- 16 Nugroho, P., Mitom, O. H., Yoshii, F. e Kume, T. Degradation of poly(L-lactic acid) by gamma-irradiation. *Polym. Deg. Stab.* v.72, p.337-343, 2000.