GUILHERME MAIA MULDER VAN DE GRAAF

Avaliação da resistência mecânica à compressão axial de diferentes
formulações de poliuretana de mamona com carbonato de cálcio e de
quitosana com fosfato de cálcio

São Paulo

2012

GUILHERME MAIA MULDER VAN DE GRAAF

**Avaliação da resistência mecânica à compressão axial de diferentes
formulações de poliuretano de mamona com carbonato de cálcio e de
quitosana com fosfato de cálcio**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção de título de Mestre em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de Concentração:

Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. André Luis do Valle De Zoppa

De acordo: _____

Orientador

São Paulo

2012

Obs: A versão original se encontra disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2710
FMVZ

Van de Graaf, Guilherme Maia Mulder
Avaliação da resistência mecânica à compressão axial de diferentes formulações de
poliuretana de mamona com carbonato de cálcio e de quitosana com fosfato de cálcio /
Guilherme Maia Mulder van de Graaf. -- 2012.
100 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2012.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. André Luis do Valle De Zoppa.

1. Poliuretana de mamona. 2. Quitosana. 3. Scaffold. 4. Enxerto ósseo. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação da resistência mecânica à compressão axial de diferentes formulações de poliuretano de mamona com carbonato de cálcio e quitosana com fosfato de cálcio", protocolado sob o nº 2220/2011, não utilizando animais, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. André Luís do Valle de Zoppa, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 22/6/2011.

We certify that the Research "Evaluation of axial compressive strength of different formulations of castor oil polyurethane with calcium carbonate and chitosan with calcium phosphate", protocol number 2220/2011, not using animals, under the responsibility Prof. Dr. André Luís do Valle de Zoppa, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 06/22/2011.

São Paulo, 27 de junho de 2011.

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: GRAAF, Guilherme Maia Mulder van de

Título: **Avaliação da resistência mecânica à compressão axial de diferentes formulações de poliuretana de mamona com carbonato de cálcio e de quitosana com fosfato de cálcio**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção de título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIAS

Dedico esse trabalho assim como todas as conquistas de minha vida aos meus pais. Foi com a primorosa educação e ensinamentos morais que deles recebi que pude construir minha carreira e chegar ao fim de mais uma etapa da minha vida.

Pai e mãe, obrigado por todo apoio que sempre me deram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Professor Dr. André Luiz do Valle De Zoppa pela confiança e apoio durante o mestrado, além de todos os ensinamentos que tive desde os primeiros anos da graduação.

Ao Msc. César Augusto Martins Pereira, pela inestimável ajuda dada desde o planejamento deste trabalho, sem esse apoio esse trabalho não poderia ser concluído.

Agradeço também à Maria Gabriela Nogueira Campos, pela grande ajuda no desenvolvimento de uma nova fórmula de quitosana, que tornou possível a conclusão desse trabalho.

Ao grande amigo Daniel Mendes Borges Campos, que me ajudou em muitos momentos desse trabalho, principalmente com a análise estatística.

Aos professores Luis Claudio Lopes Correia da Silva, Wilson Roberto Fernandes, Stefano Carlo Filippo Hagen, Raquel Yvone Arantes Baccarin e Carla Bargi Belli, atuantes na área de Medicina Veterinária equina e que muito me ensinaram, desde a graduação até os dias de hoje, com valorosas discussões sobre os desafios encontrados diariamente.

A todos os funcionários da FMVZ – USP por permitir que esse trabalho seja feito.

À todos os funcionários da Biblioteca Virginie Buff D'Apice, em especial Helena, Elza e Neuza.

Ao Ney e à Lívia, pela ajuda com a documentação necessária durante o mestrado.

Aos amigos de pós-graduação Rodrigo Crispim Moreira, Paolo Bona Soares, Luiz Fernando Rapp e Carlos Salazar pela amizade e grande ajuda com os problemas enfrentados durante a realização dos ensaios biomecânicos.

Agradeço também à Fernanda Nóbrega e Mariana Baroni pelas contribuições dadas ao nosso grupo de pesquisa, liderado pelo nosso orientador, Professor Dr. André Zoppa.

Ao amigo Renato Albuquerque de Oliveira Cavalcanti que permitiu a conclusão desse trabalho no laboratório de biomecânica e ajudou na realização dos ensaios biomecânicos.

Ao Professor Dr. Cássio Ricardo Auada Ferrigno pelo uso do laboratório de biomecânica do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

À minha família e todos os meus amigos que acompanharam as dificuldades que encontrei durante a realização desse trabalho e me ajudaram com seu apoio.

RESUMO

VAN DE GRAAF, G. M. M. **Avaliação da resistência mecânica à compressão axial de diferentes formulações de poliuretana de mamona com carbonato de cálcio e de quitosana com fosfato de cálcio.** [Biomechanical strength evaluation of two different formulas of castor oil polyurethane with calcium carbonate and chitosan with calcium phosphate.]. 2012. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

As fraturas em equinos são responsáveis por grande prejuízo financeiro devido às dificuldades encontradas para instituir seu tratamento nessa espécie, principalmente em animais adultos. Entre as dificuldades técnicas no tratamento de fraturas em equinos estão a alta resistência óssea, que acarreta fraturas com grande transmissão de energia, e a escassez de materiais e técnicas de osteossíntese específicos para a espécie, gerando mau prognóstico em muitos casos. Estas fraturas, quando cominutivas acarretam em falhas ósseas, criando um espaço entre os fragmentos de maior tamanho e ainda extensa lesão de tecidos adjacentes, o que dificulta e prolonga o tempo de consolidação óssea. Atualmente a terapia com células tronco vem sendo bastante estudada em ortopedia, contudo o ambiente onde essas células são depositadas determina o caminho para onde elas vão se diferenciar. Para a utilização de células tronco em ortopedia, estas devem ser implantadas junto a um suporte tridimensional, por exemplo os biopolímeros, que além de fornecer um meio para a multiplicação e diferenciação dessas células, também deve apresentar características biomecânicas semelhantes ao tecido a ser reparado, que no caso da ortopedia é o tecido ósseo. O objetivo desse estudo foi avaliar as propriedades biomecânicas de dois biopolímeros a poliuretana de mamona com carbonato de cálcio e uma formulação de quitosana com fosfato de cálcio. Foram preparadas duas formulações diferentes de cada biopolímero, em corpos de prova cilíndricos de 12 mm de comprimento e 6 mm de diâmetro, sendo: poliuretana de mamona porosa e compacta, e quitosana com secagem a 38 e 60 graus Celsius. Essas formulações foram submetidas a ensaios compressivos nos momentos 3, 24, 48 e 72 horas após o preparo e avaliadas quanto sua resistência à compressão, deformação relativa e módulo de elasticidade. A poliuretana de mamona compacta apresentou o maior valor de resistência à compressão (45,805

N/mm²) após 48 horas. A fórmula de quitosana com secagem a 38 °C apresentou a menor deformação relativa (3,952 %) após 72 horas de preparo e o maior valor de módulo de elasticidade encontrado foi na poliuretana de mamona compacta após 72 horas (1354,284 N/mm²). Sendo assim a poliuretana de mamona compacta apresenta maior resistência à compressão do que o osso esponjoso de terceiro metacarpiano equino e semelhante aos substitutos ósseos comerciais mais resistentes. A fórmula de quitosana 38^o C apresentou valores similares aos observados no osso esponjoso equino. Podemos concluir com esses dados que a poliuretana de mamona compacta e a fórmula de quitosana 38^o C apresentam características biomecânicas desejáveis nos materiais para enxerto ósseo.

Palavras-chave: Poliuretana de mamona, quitosana, scaffold, enxerto ósseo.

ABSTRACT

VAN DE GRAAF, G. M. M. **Biomechanical strength evaluation of two different formulas of castor oil polyurethane with calcium carbonate and chitosan with calcium phosphate.** [Avaliação da resistência mecânica à compressão axial de diferentes formulações de poliuretano de mamona com carbonato de cálcio e de quitosana com fosfato de cálcio]. 2012. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Equine fractures are responsible for great economic losses due to difficulties in establishing their treatment, mainly regarding adult animals. Among technical difficulties faced in the equine fractures treatment, there are high bone strength, which results in high energy fractures and the lack of materials and specific osteosynthesis techniques for the specimen, resulting bad prognostic in many cases. When cominutives, these fractures result in bone gaps, creating spaces between bigger fragments and still extensive surrounding tissue damages, which difficults and extends time for bone consolidation. Nowadays, therapy with stem cells is focused in orthopedy, but environment where these cells are established determines the path they will take. For the use of stem cells in orthopedy, they must be implanted together with a tridimensional support such as biopolymers which, besides offering conditions for replication and differentiation of these cells, they must present biomechanic characteristics similar to the tissue to be healed, which is the bone. The target of this study was to evaluate biomechanic properties of two biopolymers, a castor oil polyurethane with calcium carbonate and a formulation of chitosan with calcium phosphate. Two different formulations of each biopolymer were prepared, in cilindric parts of 12mm length and 6mm diameter: porous and compact castor oil polyurethane, and chitosan drying at 38oC and 60oC. These formulations were submitted to compressed tests at 3, 24 and 72 hours after preparation and evaluated for compressive strength, relative deformation and modulus of elasticity. The compact castor oil polyurethane presented greater compressive value (45,805 N/mm²) after 48 hours. Chitosan formulation drying at 38oC presented lower relative deformation (3,952%) 72 hours after prepared, and the highest value for modulus of elasticity found was compact castor oil polyurethane after 72 hours (1354,284 N/mm²). Thus, compact castor oil polyurethane presents higher compressive

strenght than trabecular bone of the third equine metacarpal and similar to strenghter comercial bone grafts. The formulation chitosan 38^o C presented similar values to those observed in equine trabecular bone. With these data, we can conclude that the compact castor oil polyurethane and the formulation of chitosan 38^o C present desirable biomechanic characteristics in materials for bone grafts.

Keywords: Castor oil polyurethane. Chitosan. Scaffold. Bone graft.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Ilustração de uma curva carga x deformação onde pode-se observar uma fase inicial de acomodação, uma fase linear da curva onde ocorre a observar também o limite elástico e o ponto de falha.....39
- Figura 2 - Pesagem de poliol em balança analítica com auxílio de espátula descartável de madeira para retirar excesso.....41
- Figura 3 - Preenchimento do molde de Teflon com poliuretana de mamona usando seringa descartável.....42
- Figura 4 - Molde de Teflon colocado na estufa para manter a temperatura constante até o momento da retirada dos corpos de prova. Os sargentos estão sendo usados para impedir a expansão do biopolímero, que está pressionado entre os discos de Teflon.....43
- Figura 5 - **A:** Retirada dos corpos de prova com auxílio de pino metálico de 5 mm e martelo, enquanto o molde de teflon é apoiado morsa de bancada. **B:** Frascos descartáveis identificados e com as tampas furadas, contendo os corpos de prova e mantidos na estufa até o momento do ensaio biomecânico.....43
- Figura 6 - Aspecto da poliuretana de mamona durante o período de agitação dos componentes.....45
- Figura 7 - **A:** Molde de Teflon pressionado entre 2 placas de Teflon e outras duas placas de aço, com auxílio de sargentos, para produção da mamona sólida. **B:** Molde de Teflon aberto durante secagem da mamona porosa, a expansão do polímero pode ser observada pelo excesso de material saindo de cada furo do molde.....46
- Figura 8 - Hidrogel de quitosana a 2% e 25% de ácido cítrico, em agitador magnético até a completa dissolução dos componentes.....47
- Figura 9 - **A:** Pesagem do hidrogel de quitosana junto aos demais componentes da fórmula. **B:** Mistura dos componentes da fórmula com bastão de vidro para obter massa consistente de quitosana.....48
- Figura 10 - **A:** Pesagem do fosfato de cálcio em almofariz contendo a massa de quitosana previamente misturada. **B:** Mistura do fosfato de cálcio com a

	massa de quitosana com o uso de um pistilo.....	48
Figura 11 -	Corpo de prova posicionado em dispositivo de acrílico para ajuste do comprimento. Seta branca: corpo de prova de poliuretana de mamona sólida. Seta vermelha: disco de corte usado para desgaste dos corpos de prova. Seta preta: dispositivo de acrílico usado para prender o corpo de prova.....	49
Figura 12 -	Dispositivo acoplado à máquina de universal de ensaios KRATOS, para fazer os ensaios compressivos. Seta branca: Base do dispositivo onde o corpo de prova é colocado. Seta preta: Parte superior do dispositivo, ou atuador, que aplica as cargas compressivas nos corpos de prova. Seta azul: Célula de carga de 3000 Kgf.....	51
Figura 13 -	Corpos de prova antes do ensaio biomecânico. A: quitosana 38, B: quitosana 60, C: poliuretana de mamona porosa e D: poliuretana de mamona sólida.....	52
Figura 14 -	Corpo de prova de quiotosana 38 colocado no centro do dispositivo antes do início do ensaio biomecânico. Seta Preta	53
Figura 15 -	Representação de um gráfico de força x deformação onde o pico de força observado no ensaio é maior do que a força atingida quando o corpo de prova sofreu 2% de deformação relativa. Nesse caso o pico de força é considerado para o cálculo de resistência à compressão.....	55
Figura 16 -	Representação de um gráfico de força x deslocamento onde o limite convencional de elasticidade é observado antes de um pico de força. Nesse caso a força atingida após 2% de deformação relativa do corpo de prova é considerada para o cálculo da resistência à compressão...	56
Figura 17 -	A: Corpo de prova de quitosana 38, B: Corpo de prova de poliuretana de mamona porosa, C: Corpo de prova de poliuretana de mamona sólida. Todos após ensaio compressivo 72 horas após o preparo.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Análise descritiva do coeficiente de determinação linear da reta de deformação elástica - São Paulo – 2011/2012.....	59
Tabela 2 –	Análise de frequência de Resistência à Compressão entre as possibilidades Limite Elástico e Pico de Força - São Paulo – 2011/2012.....	59
Tabela 3 –	Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da resistência à compressão nos diferentes biopolímeros, após 3 horas - São Paulo – 2011/2012.....	61
Tabela 4 –	Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da resistência à compressão nos diferentes biopolímeros após 24 horas - São Paulo – 2011/2012.....	61
Tabela 5 –	Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da resistência à compressão nos diferentes biopolímeros após 48 horas - São Paulo – 2011/2012.....	61
Tabela 6 –	Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da resistência à compressão nos diferentes biopolímeros após 72 horas - São Paulo – 2011/2012.....	62
Tabela 7 –	Estimativas dos parâmetros e resultados da análise de variância para Resistência à Compressão dos biopolímeros ao longo do período estudado – São Paulo – 2011/2012.....	62
Tabela 8 –	Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da deformação relativa nos diferentes biopolímeros após 3 horas - São Paulo – 2011/2012.....	64
Tabela 9 –	Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da deformação relativa nos diferentes biopolímeros após 24 horas - São Paulo – 2011/2012.....	64
Tabela 10 –	Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da deformação relativa nos diferentes biopolímeros após 48 horas - São Paulo – 2011/2012.....	65

Tabela 11 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da deformação relativa nos diferentes biopolímeros após 72 horas - São Paulo – 2011/2012.....	65
Tabela 12 – Estimativas dos parâmetros e resultados da análise de variância para Deformação Relativa dos biopolímeros ao longo do período estudado - São Paulo – 2011/2012.....	66
Tabela 13 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância do módulo de elasticidade nos diferentes biopolímeros após 3 horas - São Paulo - 2011/2012.....	67
Tabela 14 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância do módulo de elasticidade nos diferentes biopolímeros após 24 horas - São Paulo – 2011/2012.....	68
Tabela 15 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância do módulo de elasticidade nos diferentes biopolímeros após 48 horas - São Paulo – 2011/2012.....	68
Tabela 16 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância do módulo de elasticidade nos diferentes biopolímeros após 72 horas - São Paulo – 2011/2012.....	68
Tabela 17 – Estimativas dos parâmetros e resultados da análise de variância para Módulo de Elasticidade dos biopolímeros ao longo do período estudado.....	69

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Representação gráfica dos valores médios de resistência à compressão de cada grupo estudado conforme o tempo de cura - São Paulo – 2011/2012.....	62
Gráfico 2 -	Resultados da regressão polinomial ilustrando a resistência à compressão de cada biopolímero ao longo do tempo.....	63
Gráfico 3 -	Representação gráfica dos valores médios de deformação relativa de cada grupo estudado conforme o tempo de cura - São Paulo – 2011/2012.....	65
Gráfico 4 -	Resultados da regressão polinomial ilustrando a deformação relativa ao longo do tempo.....	66
Gráfico 5 -	Representação gráfica dos valores médios de módulo de elasticidade de cada grupo estudado conforme o tempo de cura - São Paulo – 2011/2012.....	69
Gráfico 6 -	Resultados da regressão polinomial ilustrando o módulo de elasticidade ao longo do tempo.....	69
Gráfico 7 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona porosa após 3 horas de preparo.....	85
Gráfico 8 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona porosa após 24 horas de preparo.....	86
Gráfico 9 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona porosa após 48 horas de preparo.....	87
Gráfico 10 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona porosa após 72 horas de preparo.....	88
Gráfico 11 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona sólida após 3 horas de preparo.....	89
Gráfico 12 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico	

	realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona sólida após 24 horas de preparo.....	90
Gráfico 13 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona sólida após 48 horas de preparo.....	91
Gráfico 14 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona sólida após 72 horas de preparo.....	92
Gráfico 15 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 38 após 3 horas de preparo.....	93
Gráfico 16 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 38 após 24 horas de preparo.....	94
Gráfico 17 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 38 após 48 horas de preparo.....	95
Gráfico 18 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 38 após 72 horas de preparo.....	96
Gráfico 19 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 60 após 3 horas de preparo.....	97
Gráfico 20 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 60 após 24 horas de preparo.....	98
Gráfico 21 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 60 após 48 horas de preparo.....	99
Gráfico 22 -	Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 60 após 72 horas de preparo.....	100

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DP	Desvio padrão
Kgf	Quilograma força
mm	Milímetro
µm	Micrômetro
N	Newton
Nº	Número
MPa	Megapascals
MP	Poliuretana de mamona porosa
MS	Poliuretana de mamona compacta
Q38	Fórmula de quitosana 38 ^o Celsius
Q60	Fórmula de quitosana 60 ^o Celsius
° C	Graus Celsius
RC	Resistência à Compressão
LE	Limite convencional elástico
PICO	Pico de força
DR	Deformação relativa
ME	Módulo de elasticidade

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
$\leq$	Menor ou igual
$\geq$	Maior ou igual

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	22
2	OBJETIVOS.....	23
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	24
3.1	FRATURAS EM EQUINOS.....	24
3.2	FALHAS ÓSSEAS.....	25
3.3	ENXERTOS ÓSSEOS.....	26
3.4	ENGENHARIA TECIDUAL ÓSSEA.....	27
3.5	BIOMATERIAIS E FUNÇÕES DOS <i>SCAFFOLDS</i>	28
3.6	<i>SCAFFOLDS</i> UTILIZADOS EM ORTOPEDIA.....	29
3.6.1	Quitosana.....	30
3.6.2	Poliuretana de mamona.....	33
3.7	BIOMECÂNICA.....	37
4	MATERIAL E MÉTODO.....	41
4.1	PREPARO DOS BIOPOLÍMEROS.....	41
4.1.1	Poliuretana de mamona.....	44
4.1.2	Quitosana.....	46
4.2	PREPARO DOS CORPOS DE PROVA.....	49
4.3	ENSAIOS BIOMECÂNICOS.....	50
4.4	COLETA DOS DADOS.....	53
4.5	CÁLCULO DAS VARIÁVEIS ESTUDADAS.....	54
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	57
5	RESULTADOS.....	58
5.1	ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS GRUPOS.....	58

5.1.1	Resistência à compressão.....	58
5.1.2	Deformação relativa.....	64
5.1.3	Módulo de elasticidade.....	67
6	DISCUSSÃO.....	71
7	CONCLUSÃO.....	80
	REFERÊNCIAS.....	81
	APÊNDICES.....	85

1 INTRODUÇÃO

Nos equinos adultos, os ossos têm grande resistência para poder sustentar seu peso corporal e, por isso, para que ocorra fratura nesses ossos é necessário que haja a aplicação de grande quantidade de energia. Essa grande quantidade de energia aplicada sobre o osso normalmente resulta em fraturas cominutivas e grande lesão de tecidos moles ao redor do foco de fratura (MARKEL, 1996).

Na grande maioria das vezes os materiais ortopédicos utilizados para a correção de fraturas em Medicina Veterinária são materiais confeccionados para uso em Medicina Humana que também podem ser utilizados em animais, contudo esses materiais e os métodos de fixação conhecidos, muitas vezes, são insuficientes para fornecer estabilidade às fraturas em animais de grande porte (NIXON, 1996).

Atualmente o uso de células tronco em ortopedia vem sendo bastante estudado, no entanto é necessário que essas células sejam implantadas e semeadas num suporte biológico ou sintético, conhecido como *scaffold*, que forma um meio, ou microambiente, adequado para essas células se organizarem em estruturas funcionalmente similares ao tecido original (OLSSON et al. 2008).

Somando os fatos de, na maioria das vezes, as fraturas em equinos adultos serem cominutivas, os métodos de estabilização de fraturas muitas vezes serem insuficientes para estabilizar a fratura de animais pesados e a terapia com células tronco ser uma forma de tratamento bastante promissora, justifica-se o estudo biomecânico de um material capaz de cultivar células tronco, que possa preencher a falha óssea criada pela fratura cominutiva e ainda fornecer resistência adicional para auxiliar os implantes ortopédicos na fixação de fraturas em equinos.

2 OBJETIVOS

Os objetivos desse estudo foram avaliar e comparar, em laboratório, as propriedades biomecânicas da poliuretana de mamona com carbonato de cálcio e da quitosana associada com cimento de fosfato de cálcio, durante um período de 72 horas após o preparo de cada biopolímero.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 FRATURAS EM EQUINOS

Embora tenham ocorrido grandes avanços em cirurgia ortopédica e anestesia equina, o tratamento de muitas fraturas apresenta raras possibilidades de uma evolução satisfatória. Entretanto, o número de fraturas que apresentam bom prognóstico com o tratamento correto está crescendo (AUER, STICK, 2006). Nos equinos adultos, os ossos têm grande resistência para sustentar o peso corporal, dessa forma a quantidade de energia necessária para causar fraturas nesses ossos é muito grande, causando muitas vezes fraturas cominutivas e extensa lesão dos tecidos adjacentes. Essa característica leva à maior dificuldade no tratamento da fratura, assim como pior prognóstico (MARKEL, 1996).

O tratamento bem sucedido de fraturas em equinos começa com a reconstrução anatômica do osso e superfície articular, o que permite a transferência de carga entre os fragmentos além dos implantes utilizados. Essa reconstrução é absolutamente necessária para promover compressão interfragmentária, e proteger os implantes usados que são relativamente fracos, uma vez que somente os implantes ortopédicos não podem suportar o peso do animal em apoio sem apresentar falha (FACKELMAN; AUER; NUMAMAKER, 2000).

Segundo Nixon (1996) os implantes ortopédicos e técnicas de fixação de fraturas utilizados em Medicina Veterinária, muitas vezes vêm da Medicina Humana, por esse motivo são insuficientes para suportar as cargas exigidas para uso em grandes animais, piorando o prognóstico.

Segundo Malta et al. (2008) 8% dos animais de grande porte atendidos na clínica de grandes animais do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, nos anos de 2006 e 2007, apresentavam fraturas com sede nos membros, sendo que 30% desses animais vieram a óbito ou foram eutanasiados. Malta *et al.* (2008) ainda descreveram que 18% dos animais submetidos à eutanásia ou que vieram a óbito apresentavam fratura nos membros locomotores.

Pierezan *et al.* (2009) relataram, a partir de observações de necropsia, que aproximadamente 50% dos 335 animais que morreram ou foram submetidos à eutanásia, devido a enfermidades do aparelho locomotor entre 1968 e 2007, apresentavam fraturas.

3.2 FALHAS ÓSSEAS

A consolidação de fraturas é um processo fisiológico que resulta na união óssea, contudo, Calori (2011) descreve que cerca de 5 a 10% das fraturas na Medicina Humana não consolidam adequadamente, evoluindo para união retardada ou não uniões ósseas, que podem ocorrer devido a falhas ósseas.

Segundo Lieshout *et al.* (2011) o tratamento de falhas ósseas representa um constante desafio para cirurgia de trauma esquelético e ortopédico. Grandes falhas ósseas causadas por, entre outros motivos, trauma, infecção e ressecção de tumores não consolidam espontaneamente e necessitam de intervenção cirúrgica (LIESHOUT *et al.* 2011).

Nos equinos, devido ao seu peso corpóreo, sua finalidade e devido à baixa ocorrência de tumores ósseos, o maior desafio são as falhas ósseas causadas pelas fraturas de alta energia, que geralmente são cominutivas (PRIESTER, 1971; MARKEL, 1996; CALORI, 2011).

Segundo Sumner-Smith (2002) pequenas falhas ósseas podem consolidar normalmente, entretanto defeitos maiores podem não apresentar formação de ponte óssea resultando em possível não união óssea, assim como defeitos anatômicos podem ocorrer após a consolidação de fraturas, que tiveram fragmentos retirados durante a aplicação de uma técnica de fixação.

Sumner-Smith (2002) ainda descreveram a influência da transferência de carga entre os fragmentos ósseos, onde uma tensão excessiva em pequenas áreas pode levar ao colapso ou deformação permanente, e caso ocorra instabilidade haverá reabsorção óssea. Nos casos em que a tensão é uniforme na interface entre os fragmentos ósseos ocorre maior estabilidade permitindo remodelamento ósseo.

Além de trauma, infecção e ressecção de tumores, o tratamento de trauma esquelético após complicações como união tardia e não união óssea, requer enxertos ósseos (CALORI, 2011; LIESHOUT et al. 2011).

3.3 ENXERTOS ÓSSEOS

O osso é um material composto formado por uma matriz orgânica, feita principalmente de colágeno, e elementos inorgânicos como a hidroxiapatita. Os osteoclastos e osteoblastos garantem o controle entre reabsorção e formação óssea, resultando em reparação, substituição e crescimento. A capacidade de auto-reparação do osso é muito usada no reparo de pequenas fraturas, entretanto enxertos ósseos são necessários para promover suporte mecânico, preencher lacunas e alcançar reparo biológico quando o tamanho da falha óssea atinge proporções críticas (OLIVIER; FAUCHEUX; HARDOUIN, 2004).

O enxerto autólogo é considerado o “padrão ouro”, pois promove três elementos necessários para manutenção óssea: matriz osteocondutiva para crescimento ósseo, fatores de crescimento osteoindutivos e células osteogênicas. Entretanto, para o uso do enxerto autólogo são necessários outros procedimentos cirúrgicos, aumento do tempo operatório e predisposição a possíveis complicações como: dor crônica no local doador, disfunção e potencial infecção. As alternativas clínicas incluem: enxerto ósseo alógeno, matrizes osteocondutivas (*scaffolds*), medula óssea e enxertos compostos formados por uma combinação de materiais (OLIVIER; FAUCHEUX; HARDOUIN, 2004).

Os enxertos autólogos podem ser provenientes de osso compacto ou trabecular, sendo o osso trabecular considerado mais osteogênico que o osso compacto, como material de enxertia, pois possibilita maior difusão de nutrientes e infiltração de células, mas não oferece suporte mecânico no local da fratura (NANDI, 2010; CALORI, 2011).

Calori (2011) define as propriedades biológicas de osteocondutividade e osteoindutividade como a capacidade de um enxerto permitir a colonização de células ósseas provenientes do tecido ósseo no local do implante, assim como de

vasos sanguíneos, e a capacidade do enxerto produzir tecido ósseo de maneira ativa, respectivamente.

As limitações associadas aos autoenxertos podem ser evitadas com o uso dos aloenxertos, que são enxertos ósseos provenientes de cadáveres. Os aloenxertos possuem osteocondutividade e osteoindutividade devido a presença de fatores de crescimento, contudo a falta de células viáveis diminui seu potencial osteogênico. Por não serem provenientes do próprio paciente, os enxertos alogênicos têm potencial de transmissão de doenças e de causar reações imunológicas (NANDI, 2010; CALORI, 2011).

Nandi (2010) propõe uma classificação modificada de Laurencin *et al.* (2006) para enxertos e substitutos ósseos, formando compostos de um ou diversos materiais, sendo eles: tecido ósseo autólogo ou alogênico, enxertos com fatores de crescimento, enxertos com culturas celulares, enxertos cerâmicos, enxertos de polímeros degradáveis ou não, e enxertos de materiais marinhos diversos como coral, esponja do mar, quitosana e outros.

Devido às limitações e possíveis problemas associados aos autoenxertos e aloenxertos vem crescendo o interesse em materiais sintéticos para substituição de tecido ósseo, assim como os enxertos cerâmicos e os poliméricos (CALORI, 2011).

3.4 ENGENHARIA TECIDUAL ÓSSEA

A engenharia tecidual é uma disciplina emergente baseada nos princípios da biologia molecular do desenvolvimento e morfogênese guiada pela bioengenharia, para desenvolvimento e produção de partes substitutas para o corpo humano, para restaurar a função de tecidos afetados por diversas doenças (REDDI, 2000).

Para o desenvolvimento de tecidos funcionais é necessária a utilização de três conceitos fundamentais, que formam a base da engenharia tecidual: células tronco, sinais indutivos e matriz extracelular (também conhecida como *Scaffold*) (REDDI, 2000).

3.5 BIOMATERIAIS E FUNÇÕES DOS SCAFFOLDS

Os *scaffolds* constituem um suporte biológico ou sintético, formando um microambiente para células tronco e sinais indutivos, com o objetivo de formar estruturas funcionalmente similares ao tecido receptor (OLSSON et al., 2008).

Esses suportes não devem apenas preencher espaços, mas sim estarem associados a uma resposta biológica específica, disparada por sinais que incluem: correntes elétricas, conformação molecular, estado de agregação ou propriedades físico-químicas que, quando em contato com células cultivadas ou *in natura*, permitam a incorporação de tecido receptor e chegada de nutrientes através de neovascularização e permeabilidade do *scaffold*. Esse arcabouço também deve sustentar o crescimento celular, apresentar propriedades mecânicas similares ao tecido em que é implantado, induzir respostas celulares mais rápidas ou ainda possuir propriedades diretamente relacionadas com a remodelagem do tecido, como ocorre com o osso (OLSSON et al., 2008).

Os materiais biológicos, de maneira geral, são mais apropriados para engenharia tecidual do que os sintéticos, por serem compatíveis com o ambiente tecidual. O material de enxertia, também conhecido como *scaffold*, tem como propriedades ideais um ambiente favorável ao crescimento tecidual, favorecer adesão, crescimento e diferenciação celular, crescimento ósseo, revascularização *in vivo* e osteointegração com o osso receptor, com substituição gradual pelo novo tecido ósseo formado. O *scaffold* ideal também deve se adaptar a leitos receptores irregulares e suportar cargas mecânicas, assim como deve ser esterilizável sem perder suas propriedades, passível de ser armazenado e que possa ser implantado sem causar efeitos deletérios aos tecidos adjacentes (OLIVIER; FAUCHEUX; HARDOUIN, 2004).

A porosidade dos *scaffolds* influencia o desenvolvimento celular e a funcionalidade dos tecidos formados *in vitro* (OLIVIER et al., 2004; OLSSON, et al., 2008; LARANJEIRA; DE FÁVERE, 2009).

A taxa de degradação dos *scaffolds* e a resposta inflamatória causada no local do implante são influenciadas pela composição química, cristalinidade, morfologia, tamanho, porosidade, carga elétrica da superfície, pH e a presença de aditivos no

implante, sendo que a vascularização e neovascularização são parâmetros usados para avaliar a degradação do *scaffold* e reação tecidual causada por ele, além de servir como fonte de nutrientes para o processo de reparação (OLSSON et al., 2008).

Olsson et al. (2008) definiram os termos biodegradação, bioabsorção e bioreabsorção como: degradação e dispersão sem eliminação pelo organismo, dissolução pelo organismo sem degradação de sua estrutura molecular e degradação e eliminação pelas vias metabólicas, respectivamente.

3.6 SCAFFOLDS UTILIZADOS EM ORTOPEDIA

Ao contrário de outros tecidos, as pesquisas em engenharia tecidual óssea focalizaram nos estudos *in vitro*. Muitos pesquisadores estudam a cultura de células tronco coletadas de diferentes locais e semeadas em diferentes *scaffolds* (REYES et al., 2001; PARTRIDGE et al., 2002; ALHADLAQ; MAO, 2004; MEINEL et al., 2004; GUN-LI IM et al., 2005; VIDAL et al., 2006).

A estrutura tridimensional de um *scaffold* usado em ortopedia deve permitir a orientação e formação de tecido ósseo, para isso o ideal é que esse enxerto possua poros maiores de 50 μm , permitindo crescimento celular e vascularização do seu interior com consequente fluxo de nutrientes, e também poros menores que 10 μm que estejam interligados, contribuindo para a interação entre as células e mantendo suas características biomecânicas (OLIVIER et al., 2004).

Biocerâmicas à base de fosfato de cálcio, como a hidroxiapatita (HA) e o fosfato β -tricalcio (β -TCP) são materiais que podem ser utilizados para a reparação e regeneração, devido a suas composições serem similares às do osso. Quando implantadas, as biocerâmicas aderem ao osso e sua porosidade (100 a 400 μm) possibilita o crescimento de tecido ósseo melhorando a aderência inicial. Contudo, as biocerâmicas porosas à base de fosfato de cálcio são frágeis e a necessidade de porosidade do material diminui sua resistência. Além disso, biocerâmicas com baixa porosidade são bio-reabsorvidas muito lentamente, dificultando a substituição por tecido ósseo (ZHANG; ZHANG, 2002; OLSSON, et al., 2008).

Alguns biopolímeros vêm sendo amplamente estudados para a formação dos *scaffolds*. Esses polímeros possuem elevada porosidade, são biodegradáveis e biocompatíveis. Os biopolímeros mais amplamente usados incluem o ácido poliglicólico, ácido polilático e o ácido poli-DL-lático-co-glicólico. Seu uso como *scaffold* vem sendo utilizado com algum sucesso, contudo apresentam problemas de aderência ao osso, devido a sua superfície hidrofóbica que torna a aderência entre células ósseas e o *scaffold* heterogênea (ZHANG; ZHANG, 2002).

Devido à importância e necessidade do uso de enxertos ósseos, muitos estudos foram feitos sobre as interações biológicas dos *scaffolds*, *in vitro* e *in vivo*, assim como de suas características mecânicas. Lieshout et al. (2011) estudaram as características mecânicas de nove diferentes substitutos ósseos comerciais usados em cirurgia de trauma e ortopedia, sendo sete compostos de fosfato de cálcio, um de sulfato de cálcio e um de cimento de vidro bioativo. Para esse estudo corpos de prova cilíndricos de 8 mm de comprimento por 4 mm de diâmetro foram produzidos em molde de Teflon manufaturado e submetidos a ensaio compressivo a uma velocidade de 0,5 mm/min. Os valores máximos de tensão em Megapascals (MPa) no limite não destrutivo, ou limite de resistência, e o módulo de elasticidade obtidos de cada produto foram considerados. Nesse estudo foi observado que o substituto ósseo estudado com maior resistência à compressão foi o Cortoss® com 47,32 +/- 20,34 MPa, seguido por Calcibon® 33,95 +/- 6,75 MPa e Norian SRS® 25,64 +/- 7,37 MPa. Os maiores valores de módulo de elasticidade foram: Calcibon® 790 +/- 132 MPa, Norian SRS® 674 +/- 146 MPa e MIIG® X3 665 +/- 154 MPa.

3.6.1 Quitosana

Nos últimos anos a quitosana, um polímero natural obtido por meio da desacetilação da quitina, um componente do exoesqueleto de crustáceos, insetos e alguns fungos, vem recebendo considerável atenção como membranas para curativos de feridas, sistemas de liberação de fármacos, preenchimento de falha tecidual e engenharia tecidual. A quitosana é biologicamente renovável,

biodegradável, biocompatível, não antigênica, não tóxica e biofuncional (ZHANG; ZHANG, 2002; DASH, 2011).

A quitosana não é reconhecida pelo organismo como corpo estranho e causa mínima reação fibrosa de encapsulamento após a sua implantação. Sua superfície é hidrofílica, o que facilita a adesão celular, proliferação e diferenciação, contudo é rapidamente biodegradada em meio fisiológico e não apresenta propriedades biomecânicas desejáveis para suportar a aplicação de cargas (ZHANG; ZHANG, 2002).

Outra vantagem do uso da quitosana como arcabouço é que pode ser moldada em várias formas (membranas, blocos, tubos e microesferas) e possui uma excelente habilidade para formar estruturas porosas. Várias composições têm sido utilizadas para produzir um arcabouço de quitosana, que tenha um tamanho de poro e propriedades mecânicas desejáveis (LARANJEIRA; DE FÁVERE, 2009).

Uma das características mais promissoras da quitosana é sua excelente habilidade para ser processada em estruturas porosas para uso em transplante de células e regeneração tecidual. As estruturas de quitosana porosa podem ser formadas por liofilização de soluções de quitosana-ácido acético em moldes apropriados. A separação do acetato de quitosana a partir da fase do cristal de gelo e a subsequente remoção do gelo por liofilização geram um material poroso cujo tamanho médio de poro pode ser controlado variando-se a velocidade de congelamento e o tamanho do cristal do gelo (LARANJEIRA; DE FÁVERE, 2009).

Outra propriedade importante da quitosana é a sua atividade antibacteriana intrínseca. Possíveis preparações de arcabouço à base de quitosana com outros biomateriais, tais como colágeno, gelatina e poli-hidroxialcanoatos (PHA) podem ser promissores com relação às propriedades mecânicas e de adesão de células. Assim, a quitosana oferece uma grande possibilidade para aplicação em engenharia de tecidos (LARANJEIRA; DE FÁVERE, 2009).

Biomateriais de quitosana também têm sido considerados como acelerador da reparação tecidual, capazes de aumentar a produção de matriz extracelular através do aumento de produção de fatores de crescimento. Também acelerariam a infiltração de células polimorfonucleares nas fases iniciais de cicatrização tecidual, aumentando consideravelmente a osteopontina, uma fosfoproteína capaz de aumentar a ligação celular na ferida em cicatrização. Alguns autores citam que a quitosana fomenta o crescimento celular, porque as células aderem fortemente ao

polímero e proliferam mais rapidamente. Este comportamento tem sido aproveitado para os estudos em engenharia de tecidos, sendo a quitosana utilizada em trabalhos de regeneração da pele, do tecido ósseo e cartilaginoso e na preparação de pele artificial (SPIN-NETO et al., 2008).

Devido às propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade, este polímero pode atuar como material substituto ósseo que, ao longo do tempo, vai sendo substituído por osso natural. Os polímeros de quitosana vêm sendo testados com sucesso no tratamento de lesões ósseas periodontais e defeitos ósseos, sucesso esse representado pela neoformação óssea observada histologicamente ou ainda por uma grande variedade de testes clínicos, que não reportaram nenhuma reação alérgica ou inflamatória após sua implantação, injeção, aplicação tópica ou ingestão pelo corpo humano (SPIN-NETO et al., 2008).

Alguns estudos também reportam que a quitosana tem um potencial de liberação de fármacos. Ao associarmos esse potencial às suas propriedades reparadoras teciduais, podemos utilizar a quitosana e os biomateriais dela obtidos no campo da engenharia tecidual. Nesse âmbito, uma das possibilidades mais promissoras dos biomateriais obtidos da quitosana é sua capacidade em formar estruturas porosas, contendo fatores de crescimento, como proteínas morfogenéticas ósseas ou fatores de crescimento vascular em sua composição, e que podem ser utilizados como moldes para crescimento celular, para posterior implantação em defeitos extensos (SPIN-NETO et al., 2008).

Lee et al. (2000) cultivaram osteoblastos de ratos em *scaffold*, à base de quitosana e o fosfato β -tricálcio, com tamanho médio de poros de 100 μm e, utilizando microscopia eletrônica de luz, observaram que os osteoblastos se proliferaram e aderiram à estrutura esponjosa do *scaffold*, produzindo matriz óssea e posteriormente se diferenciaram em osteócitos, mostrando que esse biopolímero híbrido é compatível com a multiplicação celular.

Recentemente, hidrogéis de quitosana foram utilizados como carreadores para proteínas morfogenéticas ósseas (BMP-2) e implantados em defeitos ósseos críticos criados na calvária de ratos, proporcionando regeneração tecidual otimizada, quando comparada ao uso dessas proteínas isoladamente (SPIN-NETO et al., 2008).

Zhang e Zhang (2002) uniram a hidroxiapatita, o fosfato β -tricálcio e a quitosana para formar um biomaterial híbrido que obtivesse propriedades

biomecânicas para suportar a aplicação de cargas e ainda mantivesse as características biocompatíveis da quitosana. Notaram que esse composto apresentou porosidade média de 100 μm , apresentou módulo de elasticidade e resistência para suportar a aplicação de cargas, não era rapidamente degradado em fluidos orgânicos e ainda serviu como arcabouço para a cultura de células ósseas.

Liu et al. (2006) estudaram as características biomecânicas de 4 diferentes formulações de quitosana. Os biopolímeros foram produzidos a partir de um componente líquido contendo quitosana (2%), ácido cítrico (10 a 25%) e dextrose (7 a 20%) e um componente sólido, o trifosfato de cálcio, na proporção de 1:0,6. Dentre seus resultados Liu *et al.* (2006) descreveram que os corpos de prova formados estavam secos a partir de 25 minutos e a máxima resistência à compressão obtida foi 26,3 +/- 1,18 Mpa, na fórmula com maior concentração de ácido cítrico e dextrose.

De acordo com Kaisha, (1992) na European Patent Publication 0 298 501 B1, que se refere à composição de material rígido a partir de fosfato de cálcio e processo para produção de tal material, a hidroxiapatita pode ser obtida a partir do fosfato de cálcio e apresenta excelente biocompatibilidade, sendo muito investigada como biomaterial para uso médico e odontológico. O fosfato de cálcio pode ser convertido em hidroxiapatita por hidrólise e então endurecido sob certas condições. Dessa forma essa patente recomenda que para produção de material rígido a partir do fosfato de cálcio deve-se ter pelo menos 3 componentes. Primeiro α -trifosfato de cálcio ou tetrafosfato de cálcio, uma solução aquosa ácida e um polissacarídeo, de preferência dissolvido em solução aquosa ácida. Como parâmetros para as concentrações são estipulados: concentração ácida (25 a 55% em peso), concentração do polissacarídeo (0,05% em peso ou superior) e ainda um mono ou oligossacarídeo (5 a 40% em peso).

3.6.2 Poliuretana de mamona

A poliuretana de mamona é um produto natural, que serve como uma ponte entre os fragmentos ósseos após sua implantação, não apresentando rejeição e que

permite que novos tecidos sejam formados a partir de sua matriz (BOLSON, et al., 2005).

A poliuretana de mamona é obtida a partir de dois componentes básicos: poliol e pré-polímero (ambos obtidos por modificação do óleo da mamona) constituindo um biopolímero bioativo e com módulo de elasticidade similar ao osso humano (BOLSON, et al., 2005).

A poliuretana de mamona além de ser biocompatível, apresenta formulação flexível, fácil processamento, pequena reação exotérmica na transição entre a fase líquida e sólida, grande adesividade, baixo custo e ausência de liberação de gases tóxicos, formando um biopolímero de excelentes características estruturais (JACQUES, 2004).

A polimerização da poliuretana de mamona é uma reação química exotérmica discreta entre 40 e 45°C que não causa necrose tecidual no local de implantação, e se apresenta expansível durante a polimerização, o que ocorre com maior intensidade quando em contato com meio líquido, por reação primária com a água. Como a substância básica do polímero é o óleo de rícino, um ácido graxo que se comporta como um lipídio, a sua degradação ocorre por um mecanismo de lipólise (JACQUES, 2004).

A poliuretana para polimerização no momento da cirurgia é fornecida comercialmente em dois frascos separados esterilizados por radiação gama, que na dependência do método de preparação pode-se obter misturas de diferentes consistências (JACQUES, 2004). A adição de carbonato de cálcio confere porosidade ao polímero além de aumentar sua resistência mecânica (IGNÁCIO *et al.*, 1997).

Teixeira et al. (1999)¹ (apud IGNÁCIO et al., 2002), após implantar a poliuretana em falhas em mandíbulas de ratos comprovou sua biocompatibilidade sem formação de cápsula fibrosa na interface osso-polímero.

Ignácio *et al.* (1997) testaram a biocompatibilidade da poliuretana de mamona em falha óssea de 2cm criada em rádio de coelhos e observaram que inicialmente a poliuretana era envolvida por uma espessa camada de tecido fibroso e, depois por lâmina de osso de organização e maturação progressivas. Não observaram reação

¹ TEIXEIRA, H.M. et al. Reação à resina vegetal de mamona sem bicarbonato de cálcio durante o processo de reparo em defeitos ósseos induzidos no corpo da mandíbula. **Rev Odontol UNESP**, v. 23, n. 1, p. 63-72 1999

de corpo estranho nem reabsorção e crescimento ósseo dentro da poliuretana. No mesmo experimento foi possível observar que a poliuretana foi eficiente em sustentar cargas compressivas axiais, mas sem aderir ao osso.

Ignácio *et al.* (2002) testaram o uso da poliuretana de mamona em suas formas cristalina e porosa em falhas ósseas de cães e observaram que a forma porosa aderiu mais firmemente ao osso, contudo em nenhuma das formas ocorreu integração entre o tecido ósseo e o implante.

Leonel *et al.* (2003) testaram a poliuretana porosa previamente fabricada e a poliuretana polimerizada durante o procedimento cirúrgico para preenchimento de falhas ósseas no arco zigomático de ratos. A forma pré-fabricada apresentava poros pequenos de tamanhos homogêneos e bem distribuídos, enquanto que a forma polimerizada no momento cirúrgico originou poros de tamanhos variados e distribuição heterogênea. No mesmo estudo, notaram o preenchimento dos poros por tecido fibroso e vascular com diferenciação progressiva para a formação de tecido ósseo, e células gigantes ativas promovendo a remoção do polímero. Outros trabalhos, como Ignácio *et al.* (1997), relataram a não aderência do polímero ao osso, contudo nesse estudo ocorreu a aderência do osso ao implante, provavelmente devido à porosidade dos implantes utilizados.

A porosidade da poliuretana de mamona influencia diretamente a aderência e proliferação do tecido ósseo dentro do implante, contudo também influencia a resistência biomecânica desse polímero quando submetido a compressão. Lima *et al.* (2008) compararam as propriedades biomecânicas, utilizando amostras de tamanho padronizado de cimento ósseo (polimetilmetacrilato - PMMA), poliuretana de mamona com e sem catalizador, submetidas a cargas de compressão. Observaram que a poliuretana de mamona com catalizador quando polimerizada forma poucas bolhas de ar, o que refletiu na resistência superior a cargas máximas de compressão, que o cimento ósseo e a poliuretana sem catalizador, que apresentaram valores semelhantes entre si. Notaram também que o grande desvio padrão observado nos valores de tensão da poliuretana sem catalizador se explicava pelo fato da grande variação na quantidade de bolhas obtidas durante a polimerização sem catalizador. Dessa forma, concluíram que a variação da quantidade de bolhas durante a polimerização influencia diretamente nas propriedades biomecânicas, o que deve ser considerado ao empregar a poliuretana em locais com solicitação mecânica elevada.

Ferneda et al. (2006) observaram valores de tensão máxima de 46 MPa e módulo de elasticidade de 1.560 MPa no teste de compressão axial de amostras cilíndricas de poliuretana derivada de mamona, entretanto não mencionaram a variação na quantidade de bolhas.

Jacques et al. (2004), realizando um estudo comparativo entre o enxerto ósseo autógeno e o polímero de mamona em coelhos, observaram que a poliuretana de mamona integra-se ao osso receptor mais lentamente que o enxerto ósseo autógeno, mas que devido a característica moldável da poliuretana para preencher falhas ósseas, seu uso se mostrou satisfatório.

Pires (2001)² (apud BOLSON, et al., 2005) avaliou a osteocondutividade e a osteointegração de implantes com três formulações de poliuretana derivada de mamona em fêmur de coelhos (poliuretana pura, acrescida de carbonato de cálcio e acrescida de fosfato de cálcio) e observou que a poliuretana acrescida de fosfato de cálcio tem melhor condutividade e osteointegração.

Del Carlo et al. (2003) testaram a poliuretana acrescida de cálcio associada ou não a medula óssea na reparação de falhas ósseas em coelhos e puderam observar que o acréscimo de cálcio à poliuretana tornou-a porosa, o que permitiu que o tecido ósseo neoformado penetrasse nos poros mais superficiais do biopolímero. Contudo, observaram também que a porosidade obtida não permitiu a formação de poros intercomunicantes nas camadas mais profundas do polímero. No mesmo estudo, foi coletada medula óssea e misturada à poliuretana de mamona no momento do procedimento cirúrgico. Na avaliação dos resultados, concluíram que devido a suas propriedades higroscópicas, o polímero serviu de veículo para a medula óssea e esse efeito possibilitou crescimento de tecido ósseo na superfície do implante mais rapidamente que o grupo controle.

² PIRES, R., Avaliação da osseocondutividade e osseointegração de implantes com três formulações de poliuretano derivado de mamona em fêmur de coelhos. Capturado em 12 Abr. 2003. Online. Disponível na Internet http://www.usp.br/siicusp/9osiicusp/cd_2001/ficha128.htm

3.7 BIOMECÂNICA

A biomecânica é considerada um ramo da bioengenharia e da engenharia biomédica, sendo a bioengenharia um campo interdisciplinar no qual os princípios e métodos da engenharia, das ciências básicas e da tecnologia são aplicados para projetar, testar e fabricar equipamentos para uso em medicina (NORDIN; FRANQUEL, 2008). A bioengenharia é uma das várias áreas de especialidade da engenharia biomédica (NORDIN; FRANQUEL, 2008).

A biomecânica considera as aplicações da mecânica clássica para analisar os sistemas biológicos e fisiológicos, sendo que aspectos diferentes da biomecânica utilizam partes diferentes da mecânica aplicada. Os princípios da estática, por exemplo, têm sido aplicados para analisar a magnitude e a natureza das forças envolvidas no sistema musculoesquelético (NORDIN; FRANQUEL, 2008). A mecânica dos sólidos provê as ferramentas necessárias para desenvolver as equações que constituem o campo dos sistemas biológicos e que são utilizadas para avaliar o comportamento funcional sob condições de cargas diferentes.

A pesquisa em biomecânica proporciona melhora do nosso conhecimento sobre o sistema musculoesquelético e suas atividades podem ser divididas em três áreas: estudos experimentais, análise de modelos e pesquisa aplicada. Os estudos experimentais objetivam determinar propriedades biomecânicas de materiais biológicos, já os estudos teóricos envolvem análises matemáticas de modelos que podem ser usados em biomecânica. Esses modelos são geralmente baseados em resultados experimentais e permitem predizer o comportamento de biomateriais sob efeito de fatores ambientais e operacionais sem recorrer a experimentos laboratoriais (NORDIN; FRANQUEL, 2008).

A pesquisa aplicada é a aplicação do conhecimento científico para beneficiar os pacientes (NORDIN; FRANQUEL, 2008).

Objetos sob aplicação de forças externas podem se movimentar no sentido da resultante de força, porém se esse objeto está em equilíbrio estático é provável que ele esteja sofrendo uma deformação, e a extensão dessa deformação depende de diversos fatores, entre eles: propriedades do material, tamanho, forma, magnitude, direção e duração da força a ele aplicada (NORDIN; FRANQUEL, 2008).

Em pesquisa de biomateriais descrevemos a força aplicada por unidade de área, para retirar a interferência do tamanho e forma dos materiais estudados, permitindo prever as características biomecânicas desses materiais independente da geometria do material. Por esse motivo, de acordo com o sistema internacional de unidades, representamos a força em Newtons (N) por área em mm^2 . A essa grandeza damos o nome de Tensão, medida em N/mm^2 ou MPa (NORDIN; FRANQUEL, 2008).

Quando uma carga numa direção conhecida é aplicada sobre uma estrutura, a deformação pode ser mensurada e dessa forma obtemos uma curva de carga x deformação, onde na porção inicial (parte reta da curva) temos a região elástica, representando uma fase de deformação onde o material pode voltar à sua dimensão inicial uma vez que a carga é removida (Figura 1). Com o aumento contínuo da carga o material começa a ceder representando o início da fase de deformação plástica, não linear. À transição entre a fase elástica (região linear) e a fase plástica (região não linear) é dado o nome de limite convencional de escoamento ou elasticidade (SOUSA, 1995; NORDIN; FRANQUEL, 2008).

Figura 1 - Ilustração de uma curva carga x deformação onde pode-se observar uma fase inicial de acomodação, uma fase linear da curva onde ocorre a observar também o limite elástico e o ponto de falha.

Outros importantes parâmetros mecânicos ainda podem ser analisados, principalmente quando temos a necessidade de padronização das grandezas estudadas e dos testes aplicados em biomecânica. Isso torna importante o conceito de deformação relativa, que é o comprimento final do objeto testado, dividido pelo comprimento original. A deformação relativa então é uma grandeza adimensional representada pelo valor em % do comprimento inicial (NORDIN; FRANQUEL, 2008).

Dessa forma, com a força dividida pela área (tensão) e a deformação comparada com o comprimento inicial (deformação relativa), podemos minimizar as interferências das dimensões dos corpos submetidos a cargas externas, embora para

experimentação em biomecânica ainda seja necessária a padronização dimensional de corpos de prova (NORDIN; FRANQUEL, 2008).

Podemos ainda calcular o módulo de elasticidade que é uma grandeza representada pela razão entre a tensão e deformação relativa, sendo igual à inclinação da reta elástica no diagrama de tensão x deformação relativa e medido em N/mm^2 (NORDIN; FRANQUEL, 2008).

Moreira et al. (2012) testaram as propriedades biomecânicas do osso terceiro metacarpiano de equinos em diversas regiões, sendo: osso cortical lateral e medial, osso trabecular distal e proximal. Os valores de força máxima encontrados foram: 152,13; 160,92; 39,43 e 20,45 MPa, respectivamente. E os valores de módulo de elasticidade para osso cortical lateral, osso cortical medial, osso trabecular distal, osso trabecular proximal e osso diafisário foram: 5.956,41; 6.231,06; 1.439,93; 909,59 e 3.302,73 MPa, respectivamente.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 PREPARO DOS BIOPOLÍMEROS

Todos os componentes dos biopolímeros foram pesados em Balança Analítica Shimadzu modelo AUY 220, dentro de frascos de vidro ou descartáveis e entre a pesagem dos diferentes componentes das fórmulas, a balança foi fechada para estabilização e zerada utilizando a função tara (Figura 2). A tolerância máxima de variação na pesagem durante todo o experimento foi de 1 mg.

Figura 2 - Pesagem de poliol em balança analítica com auxílio de espátula descartável de madeira para retirar excesso.

Após a preparação dos polímeros, o molde de teflon foi preenchido com o auxílio de seringa descartável (Figura 3) e levado à estufa microbiológica (Nova Ética® Modelo 403) por duas horas e trinta minutos, na temperatura prevista para cada biopolímero (Figura 4).

Figura 3 - Preenchimento do molde de Teflon com poliuretana de mamona usando seringa descartável

Figura 4 – Molde de Teflon colocado na estufa para manter a temperatura constante até o momento da retirada dos corpos de prova. Os sargentos estão sendo usados para impedir a expansão do biopolímero, que está pressionado entre os discos de Teflon.

Em seguida os corpos de prova foram retirados do molde com o auxílio de pino metálico e martelo, e acondicionados em frascos plásticos descartáveis, identificados e com tampa furada, dentro da estufa, até o momento do ensaio biomecânico (Figura 5).

Figura 5 – **A:** Retirada dos corpos de prova com auxílio de pino metálico de 5 mm e martelo, enquanto o molde de teflon é apoiado morsa de bancada. **B:** Frascos descartáveis identificados e com as tampas furadas, contendo os corpos de prova e mantidos na estufa até o momento do ensaio biomecânico.

Para facilitar a desmoldagem dos corpos de prova foi feita aplicação prévia de silicone *spray* marca WURTH® no molde de teflon, como recomenda a norma ABNT NBR ISO 5833.

4.1.1 Poliuretana de mamona

A poliuretana de mamona utilizada nesse trabalho foi gentilmente cedida pela empresa POLIQUIL de Araraquara, através de pedido do Prof. Dr. Gilberto Chieriche da Faculdade de Engenharia Química da USP – São Carlos.

Para o preparo da poliuretana de mamona os componentes foram pesados em balança analítica dentro de frascos plásticos descartáveis obedecendo a seguinte proporção: 10 gramas de pré-polímero, 6,5 gramas de poliol e 8,2 gramas de carbonato de cálcio, respectivamente.

Após a pesagem dos três componentes foi feita a agitação vigorosa da mistura com o uso de espátulas de madeira descartáveis durante um período fixo de 5 minutos (Figura 6). Após esse tempo de agitação, a poliuretana de mamona ainda líquida foi colocada em seringa descartável de 20 ml e em seguida o molde de teflon foi preenchido com a ponta da seringa para garantir o enchimento uniforme. Esse tempo de enchimento foi estipulado em um minuto para que a liberação de bolhas fosse uniforme entre as diferentes partidas que eram de aproximadamente de 15 corpos de prova. Cada ensaio biomecânico foi feito com uma partida diferente, pois a preparação de um grande número de corpos de prova causava maior liberação de bolhas nos primeiros corpos de prova e conseqüentemente falta de uniformidade da partida.

Figura 6 – Aspecto da poliuretana de mamona durante o período de agitação dos componentes.

A poliuretana de mamona foi preparada de duas formas diferentes, sendo que a poliuretana de mamona compacta foi preparada com o molde fechado e mantido sob pressão com uso de “sargentos” e discos de teflon de superfície lisa que foram colocados ao final do minuto de enchimento do molde. A poliuretana de mamona porosa foi mantida em molde aberto permitindo a expansão do biopolímero após o enchimento do molde (Figura 7).

Figura 7 – **A:** Molde de Teflon pressionado entre 2 placas de Teflon e outras duas placas de aço, com auxílio de sargentos, para produção da mamona compacta. **B:** Molde de Teflon aberto durante secagem da mamona porosa, a expansão do polímero pode ser observada pelo excesso de material saindo de cada furo do molde.

Em ambos os casos o molde foi colocado em estufa microbiológica a 38° C e os corpos de prova foram retirados do molde após duas horas e trinta minutos. Após a retirada dos corpos de prova do molde de teflon esses foram mantidos em frasco plástico identificados, e com tampa furada dentro da estufa a 38° C, até o momento do ensaio.

4.1.2 Quitosana

A metodologia de preparo da quitosana baseou-se em estudos prévios, onde foram avaliados diversos métodos de preparo deste biopolímero, encontrados na literatura, para o uso no preenchimento de falhas ósseas. A partir da repetição das formulações e métodos de preparo recomendados pela literatura foram testadas variações de acordo com os resultados obtidos durante o desenvolvimento da fórmula usada nesse projeto. Foram realizados ensaios compressivos das diversas formulações testadas, utilizando amostras de tamanho padronizado e, após os ensaios dos diferentes compostos, optou-se pelo de maior resistência à compressão.

Devido à elevada concentração dos compostos (Mistura de quitosana em pó, água destilada, ácido cítrico, dextrose e b-trifosfato de cálcio na proporção em gramas de 1 : 36,5 : 63,65 : 60,08 : 104,78) da formulação escolhida, foi necessária

a adição gradual dos compostos, de modo a facilitar sua homogeneização. Dessa forma, a metodologia escolhida segue quatro etapas consecutivas.

Na primeira etapa, foi preparado um hidrogel composto por quitosana, água destilada e ácido cítrico na proporção de 1 : 36,5 : 12,5 gramas. Após a mistura, o Becker com os compostos foi colocado em um agitador magnético (Fisatom® modelo 752) por 1 hora, resultando em um hidrogel de quitosana a 2% (Figura 8).

Figura 8 – Hidrogel de quitosana a 2% e 25% de ácido cítrico, em agitador magnético até a completa dissolução dos componentes.

Na segunda etapa foram adicionados para cada grama de hidrogel, mais quitosana (0,125 gramas), ácido cítrico (1,023 gramas) e dextrose (1,2016 gramas). Após 5 minutos de homogeneização utilizando haste de vidro obteve-se uma massa de consistência pastosa (Figura 9).

Figura 9 – **A:** Pesagem do hidrogel de quitosana junto aos demais componentes da fórmula. **B:** Mistura dos componentes da fórmula com bastão de vidro para obter massa consistente de quitosana.

Na terceira etapa foi realizada nova pesagem da massa obtida anteriormente, em uma almofariz e então foi adicionado trifosfato de cálcio à solução pastosa (0,65 gramas de trifosfato de cálcio para cada 1 grama da solução pastosa) e homogeneizado com o uso de pistilo pressionando a massa obtida contra a almofariz, formando assim uma solução de consistência firme e alta adesividade. Um tempo de mistura de 5 minutos foi mantido após a obtenção de massa homogênea (Figura 10).

Figura 10 – **A:** Pesagem do fosfato de cálcio em almofariz contendo a massa de quitosana previamente misturada. **B:** Mistura do fosfato de cálcio com a massa de quitosana com o uso de um pistilo.

4.2 PREPARO DOS CORPOS DE PROVA

Em cada ensaio foram utilizados dez corpos de prova cilíndricos de 6 mm de diâmetro e 12 mm de comprimento, que foram feitos em molde de teflon entre duas placas de teflon lubrificadas com silicone *spray* e pressionados com o uso de “sargentos”. Esse conjunto de molde, placas e “sargentos” foi mantido até o momento da retirada dos corpos de prova em estufa microbiológica. Após a retirada dos corpos de prova do molde, todos foram mantidos em frascos plásticos com tampa perfurada dentro da estufa, para garantir temperatura constante assim como polimerização e secagem uniformes.

Os corpos de prova de poliuretana de mamona utilizados nos ensaios biomecânicos tinham uma variação máxima das medidas pré-estabelecidas de 0,1 mm e em casos onde o comprimento era superior a 12 mm um disco de corte acoplado a motor de microretífica DREMEL® 300 foi usado para ajustar o comprimento dentro dos parâmetros estabelecidos (Figura 11).

Figura 11 – Corpo de prova posicionado em dispositivo de acrílico para ajuste do comprimento. **Seta branca:** corpo de prova de poliuretana de mamona compacta. **Seta vermelha:** disco de corte usado para desgaste dos corpos de prova. **Seta preta:** dispositivo de acrílico usado para prender o corpo de prova.

Em casos de diâmetro fora da tolerância o corpo de prova era descartado, assim como nos casos onde qualquer imperfeição fosse observada nos corpos de prova.

Os corpos de prova de quitosana usados nos ensaios biomecânicos eram os que apresentavam formato regular e preenchimento uniforme do molde. O disco de corte não pôde ser usado nesse polímero uma vez que o aumento de temperatura causado pelo atrito gerava a caramelização da dextrose e desgaste irregular da superfície. O uso de água para evitar o aumento da temperatura também não foi possível, uma vez que a fórmula de quitosana com fosfato de cálcio usada nos experimentos se mostrou solúvel em água.

4.3 ENSAIOS BIOMECÂNICOS

Os ensaios biomecânicos foram realizados no Laboratório de Biomecânica do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, seguindo a norma ABNT NBR ISO 5833.

Os ensaios foram feitos em quatro momentos diferentes, sendo eles: 3 horas, 24 horas, 48 horas e 72 horas após o preparo dos biopolímeros, em cada grupo estudado, e em cada momento foram feitos 10 ensaios de 10 corpos de prova, que foram descartados após o ensaio.

Os grupos estudados foram:

- Poliuretana de mamona porosa. Polímero preparado em molde aberto, retirado após duas horas e trinta minutos de polimerização e mantido em estufa a 38° C. As curvas sobrepostas dos ensaios da mamona porosa nos tempos 3, 24, 48 e 72 horas estão representadas nos anexos A, B, C e D, respectivamente.
- Poliuretana de mamona compacta. Polímero preparado sob pressão entre placas de teflon até 2 horas e trinta minutos após o preparo e mantido durante todo o período em estufa a 38° C. As curvas sobrepostas dos ensaios da mamona sólida nos tempos 3, 24, 48 e 72 horas estão representadas nos anexos E, F, G e H, respectivamente.
- Quitosana 38° C. Polímero preparado sob pressão entre placas de teflon até 2 horas e trinta minutos após o preparo e mantido durante todo o período em estufa

a 38° C. As curvas sobrepostas dos ensaios da quitosana 38 nos tempos 3, 24, 48 e 72 horas estão representadas nos anexos I, J, K e L, respectivamente.

- Quitosana 60° C. Polímero preparado sob pressão entre placas de teflon até 2 horas e trinta minutos após o preparo em estufa a 60° C até 24 horas do preparo e depois mantido em estufa a 38° C até o fim dos ensaios. As curvas sobrepostas dos ensaios da quitosana 60° C nos tempos 3, 24, 48 e 72 horas estão representadas nos anexos M, N, O e P, respectivamente.

O ensaios compressivos foram realizados em máquina universal de ensaios mecânicos KRATOS modelo KE 3000 MP dotada de célula de carga de 3.000 kgf. Foi desenvolvido para esse estudo biomecânico um dispositivo mecânico que foi acoplado à máquina. Esse dispositivo era composto de uma base metálica plana, de superfície polida, acoplada à base fixa da máquina e um atuador também de superfície plana e polida, acoplado à célula de carga na parte superior e móvel da máquina de ensaios (Figura 12).

Figura 12 – Dispositivo acoplado à máquina de universal de ensaios KRATOS, para fazer os ensaios compressivos. **Seta branca:** Base do dispositivo onde o corpo de prova é colocado. **Seta preta:** Parte superior do dispositivo, ou atuador, que aplica as cargas compressivas nos corpos de prova. **Seta azul:** Célula de carga de 3000 Kgf.

Antes da realização de cada ensaio os valores de diâmetro e comprimento dos corpos de prova foram medidos com uso de paquímetro Mitutoyo modelo 530 - 104 - B10 com resolução de 0,05 mm e esses dados foram inseridos no programa da KRATOS antes do início dos ensaios.

Os corpos de prova (Figura 13) foram colocados entre as duas superfícies metálicas paralelas, na área referente ao centro da célula de carga e após a aproximação do atuador o ensaio foi iniciado (Figura 14).

Figura 13 - Corpos de prova antes do ensaio biomecânico. **A:** quitosana 38, **B:** quitosana 60, **C:** poliuretana de mamona porosa e **D:** poliuretana de mamona compacta.

Figura 14 – Corpo de prova de quitosana 38 colocado no centro do dispositivo antes do início do ensaio biomecânico. **Seta Preta**

Todos os ensaios foram realizados em uma velocidade de 5 mm/minuto com deslocamento máximo de 6 mm e velocidade de retorno do atuador, após o ensaio, de 15 mm/minuto. A força máxima admissível para cada ensaio foi ajustada de acordo com a resistência de cada biopolímero em cada tempo estudado, permitindo melhor visualização da curva carga x deslocamento durante a realização do ensaio. Para impedir a interferência da distância entre o atuador e o corpo de prova no gráfico de ensaio, os dados só começavam a ser gravados após a aplicação de uma pré-carga de 0,5% da carga máxima prevista para cada ensaio.

4.4 COLETA DOS DADOS

A máquina universal de ensaios KRATOS é ligada a um sistema de controle com interface USB conectado a um computador pessoal. Isso permite a obtenção dos dados de deslocamento e carga em função do tempo de ensaio para cada corpo de prova analisado através do software da KRATOS, TRACOMP W95 (TRCV61285).

Esses dados foram salvos em formato texto para posterior análise através de software específico para essa finalidade, desenvolvido e utilizado no laboratório de biomecânica do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo Tecnólogo em Saúde César Augusto Martins Pereira.

O software da Kratos não pôde ser utilizado para a análise dos dados, visto que segundo o fabricante o programa só analisa dados de ensaios de tração.

4.5 CÁLCULO DAS VARIÁVEIS ESTUDADAS

A partir dos dados de força x deformação de cada ensaio, e dos dados dimensionais de cada corpo de prova foi possível determinar os seguintes parâmetros: resistência à compressão, deformação relativa e módulo de elasticidade.

Segue metodologia de cálculo de cada uma dessas variáveis:

- Resistência à compressão.

É a força aplicada para causar fratura (pico de força) (Figura 15), ou carga correspondente a 2% de deformação permanente (limite convencional de elasticidade) (Figura 16), o que ocorrer primeiro, segundo o anexo "E" da norma ABNT NBR ISO 5833 (implantes para cirurgia – cimentos de resina acrílica). Essa força é dividida pela área da seção transversal original do cilindro, obtendo assim a "resistência à compressão". É uma grandeza expressa em MPa cuja fórmula é $T=F/\text{área}$.

Figura 15 – Representação de um gráfico de força x deformação onde o pico de força observado no ensaio é maior do que a força atingida quando o corpo de prova sofreu 2% de deformação relativa. Nesse caso o pico de força é considerado para o cálculo de resistência à compressão.

Figura 16 – Representação de um gráfico de força x deslocamento onde o limite convencional de elasticidade é observado antes de um pico de força. Nesse caso a força atingida após 2% de deformação relativa do corpo de prova é considerada para o cálculo da resistência à compressão.

- Deformação relativa
É a razão entre a deformação sofrida pelo material pelo comprimento inicial dele, sendo uma grandeza adimensional expressa pela fórmula $e = \Delta L / L_0$.
- Módulo de elasticidade
É uma constante do material que relaciona tensão com deformação relativa. É uma grandeza expressa em MPa calculada através da fórmula $E = \Delta T / \Delta e$

Para obter essas variáveis de todos os 160 corpos de prova testados, os dados de força e deslocamento obtidos do programa da KRATOS foram inseridos em software específico que permitia a análise individual de cada ensaio realizado. Nesse software, após a obtenção de um gráfico de força x deslocamento os dados dimensionais de cada corpo de prova eram inseridos (comprimento de diâmetro), e em seguida dois pontos eram selecionados da reta de deformação elástica, de modo que o coeficiente de determinação (R^2) da regressão linear obtido chegasse o mais

próximo possível de 1,0. Após a confirmação da regressão linear o programa fornecia os dados tensão máxima (pico do gráfico) ou tensão no limite convencional de elasticidade baseado em uma deformação relativa de 2% do comprimento original e módulo de elasticidade. Após a repetição desse procedimento em todos os ensaios gravados deu-se início a análise estatística dos dados.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram realizadas análises estatísticas descritivas das variáveis: RC e R^2 , também análise descritiva de RC por grupo somente e, por grupo e tempo simultaneamente. Foram utilizadas medidas descritivas de média, mediana, desvio padrão, mínima, máxima e frequência, para a análise de variância “Anova one way” com testes de comparações múltiplas.

Para as variáveis resistência à compressão, deformação relativa e módulo de elasticidade dentro de cada período avaliado, os dados foram verificados quanto à presença de “out-liers” e testou-se as pressuposições de normalidade dos erros *studentizados* e de homogeneidade de variância. Após constatada a não violação dessas pressuposições, os dados foram submetidos a análise de variância através do procedimento GLM do programa SAS® (SAS Institute, 2002) e em caso de diferença significativa (5%) as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%). Para a análise das variáveis estudadas ao longo do tempo, realizou-se uma regressão polinomial de melhor ajuste dos dados, sendo os parâmetros estimados pelo método dos quadrados mínimos pelo procedimento REG do programa SAS® (SAS Institute, 2002).

5 RESULTADOS

A análise estatística dos dados está separada por variável estudada, sendo elas: Resistência à Compressão, Deformação Relativa e Módulo de Elasticidade. O presente estudo realizou duas diferentes avaliações estatísticas, sendo análise comparativa entre os diferentes grupos e tempos estudados, e a análise do comportamento de cada característica biomecânica de acordo com o tempo de preparo dos biopolímeros.

5.1 ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS GRUPOS

5.1.1 Resistência à compressão

Como para a obtenção dos valores de pico de força e limite convencional de elasticidade é necessário a determinação da reta de deformação elástica, o Tabela 1, a seguir, mostra a análise descritiva do coeficiente de determinação (R^2) da regressão linear obtido em todos os grupos e tempos. Temos então um alto valor de R^2 médio observado durante o experimento, com pequeno desvio padrão. Isso mostra que as retas de deformação elástica usadas no cálculo das variáveis estudadas estavam muito próximas das curvas de força x deformação de cada ensaio biomecânico. O valor mínimo observado ocorreu em ensaios de quitosana após 3 horas de preparo, que apresentavam resistência à compressão muito baixas, e devido à pouca sensibilidade da célula de carga utilizada as curvas desses ensaios se apresentaram muito irregulares, como pode ser visto nos Apêndices I e M.

Tabela 1 - Análise descritiva do coeficiente de determinação linear da reta de deformação elástica - São Paulo – 2011/2012

Média	0,9845
Mediana	0,9976
Desvio padrão	0,0377
Mínimo	0,7216
Máximo	0,9998

Para a avaliação da resistência à compressão foram considerados os valores de tensão máxima (pico do gráfico) ou limite convencional de elasticidade (limite elástico), sendo considerado o que ocorreu primeiro em cada ensaio biomecânico. A Tabela 2 mostra a análise de frequência entre força pico e limite de escoamento entre os diferentes grupos e tempos analisados.

Tabela 2 - Análise de frequência de Resistência à Compressão entre as possibilidades Limite Elástico (LE) e Pico de Força (PICO) - São Paulo – 2011/2012

GRUPO	Tempo	RC	
		LE	PICO
Mamona porosa	3	10 (100%)	0 (0%)
	24	10 (100%)	0 (0%)
	48	10 (100%)	0 (0%)
	72	10 (100%)	0 (0%)
Mamona solida	3	10 (100%)	0 (0%)
	24	10 (100%)	0 (0%)
	48	10 (100%)	0 (0%)
	72	10 (100%)	0 (0%)
Quitosana 38	3	10 (100%)	0 (0%)
	24	0 (0%)	10 (100%)
	48	0 (0%)	10 (100%)
	72	0 (0%)	10 (100%)
Quitosana 60	3	10 (100%)	0 (0%)
	24	7 (70%)	3 (30%)
	48	6 (60%)	4 (40%)
	72	0 (0%)	10 (100%)

A poliuretana de mamona, principalmente na forma compacta apresenta grande fase de deformação plástica (Apêndices de E, F, G e H) assim como a poliuretana de mamona porosa, porém sem muito aumento de carga após atingido seu limite elástico (Apêndices A, B, C e D). Já a quitosana, com exceção dos ensaios de 3 horas, pode apresentar fratura após atingido seu limite elástico ou pico de força nos ensaios (Apêndices J, K, L, N, O e P), como podemos observar na Tabela 2, onde para cálculo da resistência à compressão, temos muitas vezes o pico de força ocorrendo antes do corpo de prova sofrer 2% de deformação do seu comprimento original. A Figura 17 mostra 3 corpos de prova após ensaio sendo eles: quitosana 38 que se apresenta fraturado, poliuretana de mamona porosa com sua região central comprimida e poliuretana de mamona compacta inteiro, apenas com seu tamanho original reduzido.

Figura 17 – **A:** Corpo de prova de quitosana 38, **B:** Corpo de prova de poliuretana de mamona porosa, **C:** Corpo de prova de poliuretana de mamona compacta. Todos após ensaio compressivo 72 horas após o preparo.

As Tabelas 3, 4, 5 e 6 mostram os resultados de média, desvio padrão e análise de variância para resistência à compressão, nos tempos 3, 24, 48 e 72 horas, respectivamente. O Gráfico 1 mostra uma representação gráfica dos valores de resistência à compressão de todos os grupos e tempos. A estimativa dos parâmetros estudados e a análise de variância da resistência à compressão, ao longo do tempo se encontram na Tabela 7, assim como o Gráfico 2 mostra o

comportamento da resistência à compressão ao longo do tempo de cada biopolímero ao longo do tempo.

Tabela 3 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da resistência à compressão nos diferentes biopolímeros, após 3 horas - São Paulo – 2011/2012

TEMPO	GRUPO	Resistência à Compressão	
		MÉDIA MPa	DP
3 horas	Mamona Porosa	2,665 B	0,192
	Mamona Compacta	9,498 A	1,391
	Quitosana 38	0,429 C	0,132
	Quitosana 60	0,530 C	0,080

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 4 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da resistência à compressão nos diferentes biopolímeros após 24 horas - São Paulo – 2011/2012

TEMPO	GRUPO	Resistência à Compressão	
		MÉDIA MPa	DP
24 horas	Mamona Porosa	8,810 C	0,351
	Mamona Compacta	41,900 A	1,922
	Quitosana 38	9,745 C	0,800
	Quitosana 60	19,634 B	4,305

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 5 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da resistência à compressão nos diferentes biopolímeros após 48 horas - São Paulo – 2011/2012

TEMPO	GRUPO	Resistência à Compressão	
		MÉDIA MPa	DP
48 horas	Mamona Porosa	7,554 D	0,258
	Mamona Compacta	45,805 A	1,154
	Quitosana 38	15,546 C	2,216
	Quitosana 60	18,336 B	2,230

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 6 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da resistência à compressão nos diferentes biopolímeros após 72 horas - São Paulo – 2011/2012

TEMPO	GRUPO	Resistência à Compressão	
		MÉDIA MPa	DP
72 horas	Mamona Porosa	10,974 D	0,303
	Mamona Compacta	45,594 A	1,250
	Quitosana 38	26,984 B	2,267
	Quitosana 60	14,901 C	0,737

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Gráfico 1 - Representação gráfica dos valores médios de resistência à compressão de cada grupo estudado conforme o tempo de cura - São Paulo – 2011/2012

Gráfico 1 - Valores médios de resistência à compressão em cada grupo sendo: MP, poliuretana de mamona porosa; MS, poliuretana de mamona compacta; Q38, quitosana 38 e Q60, quitosana 60. Após o nome de cada grupo observa-se o tempo em horas após o preparo

Tabela 7 - Estimativas dos parâmetros e resultados da análise de variância para Resistência à Compressão dos biopolímeros ao longo do período estudado – São Paulo – 2011/2012

Parâmetros	MP	MS	Q38	Q60
Intercepto	0,6486	1,117	-1,696	-5,092
Tempo	0,7319	2,977	0,7509	2,012
Tempo2	-0,02041	-0,06234	-0,01469	-0,04709
Tempo3	0,0001699	0,0004107	0,0001360	0,0003193
CV	3,76	3,66	12,41	15,41
r ²	0,9923	0,9936	0,9747	0,9410
p-value	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Gráfico 2 - Resultados da regressão polinomial ilustrando a resistência à compressão de cada biopolímero ao longo do tempo.

Para resistência à compressão todos os materiais avaliados apresentaram efeito significativo ao longo do tempo ($p < 0,05$). Os modelos ajustados apresentaram coeficientes de correlação elevados, demonstrando um ótimo ajuste das equações aos dados experimentais.

A equação de resistência à compressão para mamona porosa (Tabela 7) apresentou ponto de inflexão no tempo de 40,04 horas. E os pontos de primeira e segunda concavidades nos tempos 27,10 e 52,99 horas, como mostrado no Gráfico 2. Assim os valores de resistência à compressão para os tempos em questão são 8,14, 8,88 e 7,40 N/mm² respectivamente.

Para mamona compacta o ponto de inflexão, primeira e segunda concavidades ocorreram nos tempos 50,60, 38,60 e 62,59 horas respectivamente, com os valores de resistência à compressão 45,35, 46,77 e 43,93 N/mm² respectivamente.

Para Quitosana 38 o ponto de inflexão ocorreu no tempo 36 horas com valor 12,64 N/mm². As concavidades 1 e 2 estimadas pelo modelo apresentado estão fora do período estudado.

Para quitosana 60 temos o ponto de inflexão e concavidades ocorrendo nos tempos 49,16, 31,38 e 66,94 horas, com os valores 17,95, 21,54 e 14,36 N/mm² respectivamente.

5.1.2 Deformação relativa

As Tabelas 8, 9, 10 e 11 mostram os resultados de média, desvio padrão e análise de variância para deformação relativa, nos tempos 3, 24, 48 e 72 horas, respectivamente. O Gráfico 3 mostra uma representação gráfica dos valores de deformação relativa de todos os grupos e tempos. A estimativa dos parâmetros estudados e a análise de variância da deformação relativa, ao longo do tempo se encontram na Tabela 12, e o Gráfico 4 é uma representação gráfica da deformação relativa de cada biopolímero ao longo do tempo.

Tabela 8 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da deformação relativa nos diferentes biopolímeros após 3 horas - São Paulo – 2011/2012

TEMPO	GRUPO	DR	
		MÉDIA %	DP
3 horas	Mamona Porosa	7,491 B	2,427
	Mamona Compacta	4,673 C	0,325
	Quitosana 38	10,577 A	1,090
	Quitosana 60	12,220 A	1,162

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 9 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da deformação relativa nos diferentes biopolímeros após 24 horas - São Paulo – 2011/2012

TEMPO	GRUPO	DR	
		MÉDIA %	DP
24 horas	Mamona Porosa	7,414 A	2,641
	Mamona Compacta	5,429 B	0,252
	Quitosana 38	8,313 A	1,269
	Quitosana 60	4,852 B	0,988

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 10 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da deformação relativa nos diferentes biopolímeros após 48 horas - São Paulo – 2011/2012

TEMPO	GRUPO	DR	
		MÉDIA %	DP
48 horas	Mamona Porosa	5,571 A	0,462
	Mamona Compacta	5,474 A	0,089
	Quitosana 38	3,953 B	0,920
	Quitosana 60	5,047 A	0,360

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 11 – Média, desvio padrão e resultados da análise de variância da deformação relativa nos diferentes biopolímeros após 72 horas - São Paulo – 2011/2012

TEMPO	GRUPO	DR	
		MÉDIA %	DP
72 horas	Mamona Porosa	6,573 A	1,780
	Mamona Compacta	5,420 AB	0,149
	Quitosana 38	3,952 C	0,786
	Quitosana 60	4,486 BC	0,792

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Gráfico 3 - Representação gráfica dos valores médios de deformação relativa de cada grupo estudado conforme o tempo de cura - São Paulo – 2011/2012

Gráfico 3 - Valores médios de deformação relativa em cada grupo sendo: MP, poliuretana de mamona porosa; MS, poliuretana de mamona compacta; Q38, quitosana 38O e Q60, quitosana 60O. Após o nome de cada grupo observa-se o tempo em horas após o preparo.

Tabela 12 - Estimativas dos parâmetros e resultados da análise de variância para Deformação Relativa dos biopolímeros ao longo do período estudado - São Paulo – 2011/2012

Parâmetros	MP	MS	Q38	Q60
Intercepto	7,180	4,403	10,51	14,19
Tempo	0,1214	0,06754	0,04430	-0,7059
Tempo2	-0,006076	-0,001343	-0,007547	0,01634
Tempo3	5,934e-005	8,344e-006	7,870e-005	-0,0001169
CV	30,33	3,04	15,41	13,20
r ²	0,1415	0,8475	0,8951	0,9437
p-value	0,1223	0,0001	0,0001	0,0001

Gráfico 4 - Resultados da regressão polinomial ilustrando a deformação relativa ao longo do tempo.

Para deformação relativa mamona compacta, quitosana 38 e quitosana 60 apresentaram efeito significativo ao longo do tempo ($p < 0,05$) e os modelos ajustados apresentaram coeficientes de correlação elevados, demonstrando um ótimo ajuste das equações aos dados experimentais. A mamona porosa não demonstrou bom ajuste da equação assim como não teve efeito significativo ao longo do tempo ($p > 0,05$) (Tabela 12).

A equação de deformação relativa para mamona compacta (Tabela 12) apresentou ponto de inflexão no tempo de 53,65 horas. E os pontos de primeira e segunda concavidades nos tempos 40,22 e 67,08 horas (Gráfico 4). Assim os

valores de resistência à compressão para os tempos em questão são 5,45, 5,49 e 5,41 N/mm² respectivamente.

Para quitosana 38 os tempos de ponto de inflexão e concavidades foram 31,97, 3,08 e 60,85 horas com os valores de deformação relativa 6,79, 10,58 e 2,99 respectivamente.

Na quitosana 60 observamos ponto de inflexão e concavidades nos tempos 46,59, 34,02 e 59,16 horas com os valores de deformação relativa 4,95, 4,48 e 5,41 respectivamente.

5.1.3 Módulo de elasticidade

As Tabelas 13, 14, 15 e 16 mostram os resultados de média, desvio padrão e análise de variância para módulo de elasticidade, nos tempos 3, 24, 48 e 72 horas, respectivamente. O Gráfico 5 mostra uma representação gráfica dos valores de módulo de elasticidade de todos os grupos e tempos. A estimativa dos parâmetros estudados e a análise de variância do módulo de elasticidade, ao longo do tempo se encontram na Tabela 17, e a Gráfico 6 é uma representação gráfica do módulo de elasticidade de cada biopolímero ao longo do tempo.

Tabela 13 - Média, desvio padrão e resultados da análise de variância do módulo de elasticidade nos diferentes biopolímeros após 3 horas - São Paulo – 2011/2012

TEMPO	GRUPO	ME	
		MÉDIA MPa	DP
3 horas	Mamona Porosa	74,550 B	14,307
	Mamona Compacta	336,228 A	33,245
	Quitosana 38	18,038 CD	11,279
	Quitosana 60	11,434 D	3,988

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 14 - Média, desvio padrão e resultados da análise de variância do módulo de elasticidade nos diferentes biopolímeros após 24 horas - São Paulo – 2011/2012

TEMPO	GRUPO	ME	
		MÉDIA MPa	DP
24 horas	Mamona Porosa	292,563 B	35,897
	Mamona Compacta	1240,476 A	63,468
	Quitosana 38	400,526 B	134,794
	Quitosana 60	666,615 C	169,264

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 15 - Média, desvio padrão e resultados da análise de variância do módulo de elasticidade nos diferentes biopolímeros após 48 horas - São Paulo – 2011/2012

TEMPO	GRUPO	ME	
		MÉDIA MPa	DP
48 horas	Mamona Porosa	224,809 C	28,266
	Mamona Compacta	1332,110 A	39,279
	Quitosana 38	619,568 B	170,368
	Quitosana 60	625,414 B	142,172

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 16 - Média, desvio padrão e resultados da análise de variância do módulo de elasticidade nos diferentes biopolímeros após 72 horas - São Paulo – 2011/2012

TEMPO	GRUPO	ME	
		MÉDIA MPa	DP
72 horas	Mamona Porosa	328,265 D	15,221
	Mamona Compacta	1354,284 A	50,502
	Quitosana 38	1058,204 B	167,803
	Quitosana 60	544,533 C	84,008

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Gráfico 5 - Representação gráfica dos valores médios de módulo de elasticidade de cada grupo estudado conforme o tempo de cura - São Paulo – 2011/2012

Gráfico 5 - Valores médios de módulo de elasticidade em cada grupo sendo: MP, poliuretana de mamona porosa; MS, poliuretana de mamona compacta; Q38, quitosana 38O e Q60, quitosana 60O. Após o nome de cada grupo observa-se o tempo em horas após o preparo.

Tabela 17 - Estimativas dos parâmetros e resultados da análise de variância para Módulo de Elasticidade dos biopolímeros ao longo do período estudado

Parâmetros	MP	MS	Q38	Q60
Intercepto	0,1369	103,6	-70,80	-169,7
Tempo	27,07	82,70	31,45	64,77
Tempo2	-0,7739	-1,754	-0,6286	-1,489
Tempo3	0,006407	0,01176	0,005689	0,01010
CV	10,92	4,50	26,21	25,59
r ²	0,9433	0,9885	0,8928	0,8469
p-value	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Gráfico 6 - Resultados da regressão polinomial ilustrando o módulo de elasticidade ao longo do tempo.

Para módulo de elasticidade todos os materiais avaliados apresentaram efeito significativo ao longo do tempo ($p < 0,05$). Os modelos ajustados apresentaram coeficientes de correlação elevados, demonstrando um ótimo ajuste das equações aos dados experimentais (Tabela 17).

A equação de módulo de elasticidade para mamona porosa (Tabela 17) apresentou ponto de inflexão no tempo de 40,26 horas e primeira e segunda concavidades nos tempos 25,68 e 54,85 horas com os valores de módulo de elasticidade para os tempos em questão 253,67, 293,44 e 213,90 N/mm² respectivamente (Gráfico 6).

Para mamona compacta temos ponto de inflexão e concavidades nos momentos 49,72, 38,42 e 61,01 horas e os valores de módulo de elasticidade 1324,88, 1358,79 e 1290,96 N/mm² respectivamente.

Para quitosana 38 o ponto de inflexão ocorreu no momento 36,83 horas e seu valor de módulo de elasticidade é 519,06 N/mm². As concavidades 1 e 2 se apresentaram fora dos tempos estudados no modelo apresentado.

Na quitosana 60 observamos o ponto de inflexão e concavidades nos momentos 49,14, 32,49 e 65,79 horas com módulos de elasticidade 616,00, 709,28 e 522,72 N/mm² respectivamente.

6. DISCUSSÃO

A produção dos corpos de prova de poliuretana de mamona foi mais fácil devido ao método de manipulação já estabelecido pela Poliquil, empresa que produz esse biopolímero. No entanto como consta no próprio site da empresa esse polímero sofre expansão durante seu preparo até o momento em que começa a apresentar consistência firme, e por esse motivo foram necessárias várias tentativas piloto para aprender a manipular esse material permitindo a obtenção de corpos de prova de formato regular e aspecto homogêneo, necessários para o experimento.

Ainda quanto a produção da poliuretana de mamona, por esse polímero apresentar alta adesividade, muitas tentativas de produzir os corpos de prova falharam visto que mesmo com o uso de desmoldantes como vaselina sólida, óleo *spray* e silicone *spray* não era possível retirar os corpos de prova do primeiro molde testado, que era feito de aço inox. Esse problema foi resolvido com o uso de um molde de teflon, que apresenta a característica de baixa adesividade, permitindo junto com o uso de pequena quantidade de silicone *spray*, que ambas as preparações de poliuretana de mamona, compacta e porosa, pudessem ser retiradas do molde sem alterar o formato específico desejados nos corpos de prova.

Essas características da poliuretana de mamona fazem com que esse polímero exija treinamento para que se obtenha sucesso com seu manuseio, entretanto o tempo de preparação é de aproximadamente 8 a 10 minutos, permitindo que seja preparada durante procedimentos cirúrgicos quando se faz necessário moldar esse biomaterial em falhas ósseas. Nesse caso a poliuretana de mamona ainda apresenta a vantagem de ter alta adesividade, ficando aderida em fragmentos ósseos mesmo quando esses se apresentam pouco úmidos.

A produção dos corpos de prova de quitosana foi alterada pela dificuldade de secagem e obtenção de um biopolímero de consistência mais firme e que permita obter um corpo de prova de formato estável pouco tempo após a mistura, sendo que os resultados apresentados por Liu *et al.* (2006) não puderam ser reproduzidos na fase de testes piloto. Liu *et al.* (2006) afirmam que algumas de suas preparações de quitosana, que possuem os mesmos componentes usados nesse experimento apresentavam resistência à penetração de uma agulha de 1 mm de diâmetro após

25 minutos de preparo. Ao reproduzir seu método apenas conseguimos substância pastosa que demorou dias para secar perdendo seu formato nesse período.

Por esse motivo foram feitos diversos ensaios preliminares para conseguir um biopolímero de quitosana que pudesse ser manipulado durante um procedimento cirúrgico, e que atingisse consistência firme em pouco tempo.

A fórmula escolhida para esse experimento apresentou a maior resistência à compressão dentre todas as fórmulas testadas, assim como menor tempo de secagem até atingir consistência sólida, mas ainda assim apresenta tempo de secagem muito superior à poliuretana de mamona. Na tentativa de reduzir esse tempo uma das preparações de quitosana, a quitosana 60^o C, foi mantida em estufa a 60^o C por 24 horas, na tentativa de acelerar o processo de endurecimento da quitosana e obter corpos de prova sólidos em menor tempo. Essa estratégia não funcionou visto que após 3 horas de preparo ambas as preparações de quitosana se apresentavam pastosas, permitindo sua desmoldagem e realização dos ensaios, mas sem apresentar consistência sólida, e como observado no Gráfico 2 essa estratégia foi deletéria para a resistência à compressão da quitosana 60, em relação à quitosana 38, uma vez que a quitosana 38 apresenta comportamento crescente de resistência à compressão, e a quitosana 60 apresenta queda ao fim do período estudado.

Outra característica da fórmula de quitosana escolhida foi o maior tempo e dificuldade de preparo, visto que são necessárias duas etapas de mistura, sendo a primeira entre o hidrogel e os demais componentes, e a segunda entre a pasta obtida com o fosfato de cálcio, levando a um tempo total de preparo superior a 15 minutos. Acrescenta-se a necessidade de material específico para seu preparo, como o pistilo e almofariz, e com maior desperdício do biopolímero após o preparo, visto que a massa obtida apresenta alta adesividade e consistência de difícil manipulação.

Apesar de ser possível preparar a quitosana durante um procedimento cirúrgico a fórmula utilizada não apresenta adesividade em superfícies úmidas, sendo que não ficaria aderido a fragmentos ósseos quando colocado e moldado em uma falha óssea. Sua vantagem nesse momento é de não apresentar expansão, sendo que a falta de pressão no local de implantação não altera suas características, diferente da poliuretana de mamona que expande se tornando

porosa e alterando suas características biomecânicas, como demonstrado por Lima et al. (2008).

Outra vantagem desse biopolímero analisado é com relação à produção de calor. A poliuretana de mamona apresenta reação exotérmica, que pode chegar até 42 °C, que apesar de ser uma temperatura superior à dos tecidos vivos, não é tão elevada, como afirma Jacques (2004), ainda mais quando comparamos com o polimetilmetacrilato usado como cimento cirúrgico, que pode passar de 70 °C durante sua reação de polimerização causando extensa lesão tecidual no local de sua implantação. A quitosana não apresentou nenhuma reação exotérmica, sendo que nesse aspecto pode ser considerada mais indicada do que a poliuretana de mamona.

Resistência à compressão

Para o cálculo da resistência à compressão foram consideradas duas possibilidades de acordo com a norma para ensaios de implantes para cirurgia – cimentos de resina acrílica, ABNT NBR ISO 5833, que prevê 3 possibilidades para cálculo de resistência à compressão, sendo elas: força aplicada para causar fratura, carga correspondente a 2% de deformação relativa, chamado de limite convencional elástico, ou carga do limite superior de escoamento, devendo ser considerado o que ocorrer primeiro, ainda segundo essa norma a força aplicada deve ser dividida pela área da seção transversal do corpo de prova, obtendo assim a resistência à compressão em megapascals ou N/mm².

Foram observados diferentes comportamentos de resistência à compressão nos diferentes biopolímeros e nos diferentes tempos estudados, (Quadro 2) em alguns materiais, sendo que tanto a poliuretana de mamona porosa como a compacta mantiveram aumento da tensão registrada no ensaio após atingir o fim da fase elástica, sendo assim nenhum desses biopolímeros apresentou colapso, e o valor considerado para cálculo da resistência à compressão foi o observado quando os corpos de prova atingiram 2% de deformação relativa.

Já nos biopolímeros a base de quitosana não ocorreu um comportamento uniforme. Na quitosana 38 e quitosana 60, os ensaios realizados após 3 horas de preparo foram todos calculados pelo limite de escoamento. Nos ensaios feitos após 24 e 48 horas de preparo, da quitosana 60, ocorreu em 70% e 60% dos ensaios,

respectivamente, deformação relativa de 2% nos corpos de prova antes de ser observada a fratura, e nos demais ensaios 30% e 40% respectivamente ocorreu fratura, sendo então considerada força pico para o cálculo de resistência à compressão nesses casos. Isso ocorreu, pois o momento em que foi observada a fratura nesses ensaios foi muito próximo do momento em que foi registrado o limite de escoamento, tendo após registrada a força máxima de cada ensaio ocorrido fratura dos corpos de prova, como pode-se observar nos Apêndices N e O.

Nos ensaios realizados com quitosana 38 após 24, 48 e 72 horas e quitosana 60 após 72 horas ocorreu fratura de todos os corpos de prova antes de ser registrado 2% de deformação relativa, sendo então calculada a resistência à compressão pelo pico de força atingido no ensaio, como pode ser observado nos Apêndices J, K, L e P, onde na curva de força x deformação, após a fase de comportamento elástico temos queda abrupta da força registrada.

Tem-se ainda a análise comparativa entre os diferentes biopolímeros estudados, dentro de cada grupo, para resistência à compressão que após 3 horas de preparo a mamona compacta apresentou a maior resistência à compressão, seguida pela mamona porosa e com os valores observados para ambas as preparações de quitosana estatisticamente iguais. Após 24 horas o biopolímero mais resistente foi a poliuretana de mamona compacta seguido da quitosana 60 e com os resultados de poliuretana de mamona porosa e quitosana 38 estatisticamente iguais, confirmando que a maior temperatura de secagem na quitosana 60 foi benéfica para aumentar a resistência desse material após 24 horas. No tempo de 48 horas todos os biopolímeros foram diferentes, sendo a maior resistência da mamona compacta, quitosana 60, quitosana 38 e mamona porosa, respectivamente. E no último tempo estudado, de 72 horas, observou-se novamente todos os resultados estatisticamente diferentes, porém não na mesma ordem observada após 48 horas, sendo, mamona compacta a mais resistente seguida pela quitosana 38, quitosana 60 e mamona porosa. Isso mostra que apesar de acelerar a secagem da quitosana a temperatura de 60 °C por 24 horas fez com que esse material apresentasse menor resistência à compressão ao fim do período estudado.

Ao comparar os resultados com os publicados por Crispim et al. (2012) que analisaram a resistência à compressão de osso compacto e esponjo de terceiros metacarpianos de equinos; a mamona compacta apresentou valor de resistência à compressão inferior ao osso compacto sendo 45,594 e 160,92 N/mm²

respectivamente, porém apresenta valor superior ao observado em osso esponjoso que varia entre 39,43 e 20,45 N/mm². A quitosana 38 após 72 horas apresentou valor de resistência à compressão de 26,984 N/mm², tendo então uma resistência que pode ser comparada ao osso esponjoso. Esses resultados confirmam o que foi observado por Ferneda et al. (2006), que relata uma resistência à compressão de 46 MPa (N/mm²) na poliuretana de mamona chamada de cristalina.

Esses resultados ainda podem ser comparados com outros substitutos ósseos comerciais estudados por Esther et al. (2011) que encontraram resistência à compressão de 47,32 N/mm² no Cortoss®, 33,9 N/mm² no Calcibon® e 25,6 N/mm² no Norian SRS®. Dessa forma temos que a mamona compacta apresentou resistência à compressão semelhante aos substitutos ósseos mais resistentes estudados por estes autores; e apesar da menor resistência, a quitosana 38 também pode ser comparada com substitutos ósseos comerciais, por apresentar 26,984 N/mm² de resistência à compressão.

Ao analisar a resistência à compressão de cada biopolímero ao longo do tempo, como mostrado no Gráfico 2, vemos que a mamona compacta apresentou aumento da resistência até 48 horas após o preparo, estabilizando a partir desse momento. A mamona porosa apresentou comportamento diferente, sendo sua resistência máxima estimada após 27,10 horas, com queda até 52,99 horas e o ponto de inflexão da curva no momento 40,04 horas. A quitosana 38 apresentou comportamento crescente durante todo o período estudado, com um ponto de inflexão no momento 36 horas, porém sem apresentar concavidades na curva dentro do período estudado. E a quitosana 60 teve comportamento crescente até 31,38 horas, com tendência à queda após esse período e após o ponto de inflexão uma nova tendência de aumento de sua resistência, no momento 49,16 horas.

Sendo assim temos para resistência à compressão, dentro do período estudado, que a mamona compacta apresentou estabilização após 48 horas, o que confere com os dados do fabricante, a empresa POLIQUIL, e a quitosana 38 tem uma tendência a aumentar sua resistência até o fim do período estudado. Já a mamona porosa não apresentou comportamento semelhante a mamona compacta, provavelmente devido à falta de uniformidade do tamanho dos poros, assim como comentado por Lima et al. (2008) que observaram grande desvio padrão em seus resultados com poliuretana de mamona que havia expandido sem controle em seu experimento. A quitosana 60 apresentou comportamento irregular ao longo do

tempo, mostrando que o aumento de temperatura foi benéfico para sua resistência apenas até a concavidade máxima da curva, 31,38 horas, mas prejudicou sua característica mecânica após esse período.

Deformação relativa

A análise comparativa entre os biomateriais dentro de cada tempo estudado mostrou que após 3 horas de preparo as quitosanas 38 e 60 apresentaram maior deformação relativa sem diferença estatística entre elas, seguidas pela mamona porosa e mamona compacta estatisticamente diferentes, nessa ordem. No tempo 24 horas temos que a mamona porosa e quitosana 38 são estatisticamente iguais e apresentaram deformação relativa superior à mamona compacta e quitosana 60, que são estatisticamente semelhantes entre elas. Após 48 horas, mamona compacta, mamona porosa e quitosana 60 não apresentam diferença estatística, no entanto apresentaram valores superiores e diferem da quitosana 38 que apresentou a partir desse momento comportamento mais rígido sofrendo pouca deformação até o momento de sua ruptura. Após 72 horas de preparo mamona porosa apresentou o maior valor, que é estatisticamente semelhante à mamona compacta e diferente das demais. A mamona compacta apresentou a segunda maior deformação relativa sendo estatisticamente semelhante à mamona porosa e quitosana 60. O valor médio da quitosana 60 para deformação relativa é o terceiro entre os grupos porém não difere estatisticamente da mamona compacta e da quitosana 38. E novamente com o menor valor médio de deformação relativa a quitosana 38 apresentou diferença estatística entre as preparações de mamona, mas não da quitosana 60.

Esses dados mostram que as preparações de quitosana sofreram fratura ou colapso ao suportar cargas pouco superiores ao seu limite elástico, mas esses biopolímeros se deformam menos dentro de sua fase elástica. Isso pode ser desejado quando vamos aplicar esse material em falhas ósseas em conjunto com técnicas de osteossíntese de estabilidade absoluta, desde que a carga aplicada a esse biopolímero não ultrapasse seu limite elástico. Porém quando vamos aplicar um biopolímero em falha óssea que sabemos que irá sofrer deformação, a aplicação de uma poliuretana de mamona pode ser mais indicada, visto que esse biomaterial pode sofrer maior deformação sem apresentar fratura ou colapso, acompanhando

dessa forma a movimentação do foco de fratura sem perder suas características biomecânicas e nem seu formato.

Ao analisar a deformação relativa de cada grupo, ao longo do tempo, vemos que a mamona compacta apresentou comportamento quase linear, sendo que mesmo após um pequeno tempo de preparo, 3 horas, já apresentava essa característica semelhante ao observado após sua polimerização total. A quitosana 38 apresentou queda do seu valor de deformação relativa logo após o primeiro tempo estudado tendo o ponto de inflexão da curva no momento 31,97 horas, e seu menor valor no momento 60,85 horas. Para quitosana 60 temos uma queda ainda mais acentuada do que a observada na quitosana 38, sendo seu menor valor no momento 34,02 horas e o ponto de inflexão após 46,59 horas. A poliuretana de mamona porosa não apresentou bom ajuste à equação assim como não teve efeito significativo ao longo do tempo ($p > 0,05$) e por esse motivo não podemos extrapolar os dados obtidos pela sua fórmula para deformação relativa. Esse fato pode também estar relacionado com grandes diferenças de tamanho de poros e densidade entre as diferentes partidas usadas nesse estudo, como cita Lima *et al.* (2008) em seu trabalho.

Módulo de elasticidade.

A análise comparativa do módulo de elasticidade entre os grupos em cada tempo estudado mostrou que após 3 horas, o grupo mamona compacta apresentou maior valor de módulo de elasticidade, seguido do grupo mamona porosa, quitosana 38 e quitosana 60, respectivamente, sendo que com exceção dos grupos quitosana 38 e quitosana 60 todos têm diferença estatística.

No tempo 24 horas temos a mamona compacta com o maior valor seguida pela quitosana 60, quitosana 38 e mamona porosa, sendo que apenas mamona porosa e quitosana 38 não diferem entre si, estatisticamente.

Após 48 horas de preparo a mamona compacta apresentou maior módulo de elasticidade seguida pela quitosana 60, quitosana 38 e mamona porosa, sendo que nesse tempo estudado apenas os grupos de quitosana não diferem estatisticamente entre eles.

No tempo 72 horas todos os grupos são estatisticamente diferentes com o maior valor para o grupo mamona compacta $1354,284 \text{ N/mm}^2$, seguido de quitosana

38 1058,204 N/mm², quitosana 60 544,533 N/mm² e mamona porosa 328,265N/mm².

Esses valores quando comparados aos valores de módulo de elasticidade do osso terceiro metacarpiano equino como publicado por Crispim et al. (2012) mostraram que tanto a mamona compacta quanto a quitosana 38 apresentaram valores entre os encontrados no osso trabecular distal 1439,93 N/mm² e o osso trabecular proximal 909,59 N/mm², mas ainda bem inferiores que os valores encontrados no osso cortical lateral e medial 5.956,41 N/mm² e 6.231,06 N/mm², respectivamente. Essa comparação mostra que ao implantar mamona compacta ou quitosana 38, após 72 horas de preparo, em uma falha óssea será observado, caso a carga aplicada ao biopolímero não passe do limite de resistência do mesmo, módulo de elasticidade semelhante ao do osso esponjoso; porém ao implantar esses biopolímeros em falha óssea em áreas onde grande tensão será aplicada, como em diáfises ósseas, compostas por osso cortical, será observado grande diferença entre as características do biomaterial e do osso. A quitosana 60 e mamona porosa apresentaram valores de módulo de elasticidade bem inferiores quando comparadas ao osso cortical e próximos à metade ou inferior a isso quando comparadas com osso trabecular.

Pode-se ainda comparar os materiais estudados com substitutos ósseos comerciais sendo que a mamona compacta e quitosana 38 apresentaram módulo de elasticidade superior aos encontrados por Esther et al. (2012) que demonstraram os seguintes valores para os produtos comerciais com maior módulo de elasticidade testados por eles: Calcibon® 790 N/mm², Norian SRS® 674 N/mm² e MIIG® X3 665 N/mm². Nessa comparação observa-se que mesmo a quitosana 60 se encontra próxima dos valores encontrados por Esther et al. (2012) e a mamona porosa, que apresentou o pior resultado nesse estudo ainda apresenta valor superior a alguns produtos comerciais como ChronOS® 54 N/mm² e Ostim® 6 N/mm².

Ao analisar o módulo de elasticidade de cada biopolímero ao longo do tempo observou-se que a mamona porosa apresentou nos momentos 2, 24 e 72 horas valores muito semelhantes mostrando comportamento quase linear apesar de ter uma redução após 25,68 horas e novo aumento após 54,85 horas.

A mamona compacta apresentou grande aumento entre 3 e 38,42 horas, mas estabilizou mostrando apenas discreta concavidade no momento 61,01 horas.

A quitosana 38 apresentou aumento do valor de módulo de elasticidade desde o primeiro momento estudado, sendo que seu comportamento é quase linear.

E a quitosana 60 apresentou aumento até 32,49, e depois tendência a queda com a concavidade inferior no momento 65,79. Isso mostra mais uma vez que o aumento de temperatura durante as primeiras 24 horas de secagem foram benéficos apenas no início do período estudado, alterando negativamente os resultados após tempo maior de preparo.

7 CONCLUSÃO

O grupo mamona compacta apresenta maior resistência à compressão e módulo de elasticidade dentre os grupos estudados, sendo essas características mecânicas desejáveis para um substituto ósseo e semelhantes ao encontrado em osso trabecular equino.

A quitosana 38 apresenta menor deformação relativa, o que deve propiciar menor deformação no seu local de implantação, caso a tensão a que for submetida não ultrapasse seu limite de resistência.

O aumento de temperatura para 60 °C da quitosana não foi benéfico para suas características biomecânicas ao longo do tempo.

REFERÊNCIAS

ALHADLAQ, A.; MAO, J. J. Mesenchymal stem cells: isolation and therapeutics. **Stem Cells and Development**. n.13, p. 436-448, 2004

ASAHI KOGAKU KOGYO KABUSHIKI KAISHA. Composition for forming calcium phosphate type hardening material and process for producing such hardening material. European Patent EP 0 298 501 B1, 08 apr. 1992.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 5833**: implantes para cirurgia – cimentos de resina acrílica. Rio de Janeiro, 2004.

AUER, J. A. Emergency treatment and transportation of equine fracture patients. In: **Equine Surgery**. St. Louis: Saunders, 2006. p. 972-981.

BOLSON J.; SCHOSSLER J. E.; ORNES R. C.; MOTTIN V.; ALBERTI T. Análise clínica, radiológica, macroscópica e histológica do úmero de codornas domésticas (*Coturnix japônica*), submetido ao implante da poliuretana derivada do polímero de mamona (*Ricinus communis*). **Ciência Rural**. v. 35, n. 5, p.1123-1130, 2005.

CALORI, G. M.; MAZZA, E.; COLOMBO, M.; RIPAMONTI, C.; The use of bone-graft substitutes in large bone defects: any specific needs? J. **Care Injured**. v. 42 . p. 56–63, 2011

DASH, M.; CHIELLINI, R. M.; OTTENBRITE, E.; CHIELLINI, Chitosan - A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, n. 36, p. 981-1014, 2011.

DEL CARLO, R. J.; KAWATA, D.; VILORIA, M. I. V.; Oliveira, D. R.; SILVA, A. S.; MARCHESI, D. R.; GALVÃO, S. R.; AZEVEDO, P.; MONTEIRO, B. S. Polímero derivado de mamona acrescido de cálcio, associado ou não à medula óssea autógena na reparação de falhas ósseas. **Ciência Rural**, v. 33, n. 6, p. 1081-1088, 2003.

FACKELMAN, G. E.; AUER, J. A.; NUMAMAKER, D. M. **AO Principles of Equine Osteosynthesis**. Davos: AO Publishing, 2000.

FERNEDA, A. B.; COSTA, R. R.C.; TITA, V.; PROENÇA, S. P. B.; CARVALHO, J.; PURQUERIO, B. M. Compression tests of castor oil polimer. **Materials Research**. v. 9, n. 3, p. 327-334, 2006.

GUN-II, I. M.; YONG-WOON, S.; KEE-BYUNG, L. **Osteoarthritis and Cartilage**, v.13, p. 845-853, 2005.

IGNÁCIO H.; MAZZER, N.; BARBIERI, C.H.; CHIERICHI, G. Uso da poliuretana derivada do óleo de mamona para preencher defeitos ósseos diafisários segmentares do rádio: estudo experimental em coelhos. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 32, n. 10, p. 815-821, 1997.

IGNÁCIO H.; MAZZER, N.; BARBIERI, C.H.; CHIERICHI, G. utilização da poliuretana da mamona nas formas compacta e porosa no preenchimento de falha óssea: estudo experimental em cães. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 32, n. 10, p. 815-821, 2002.

JACQUES, J. W.; FAGUNDES, D. J.; FIGUEIREDO, A. S.; INOUE, C. M.; SCAPULATEMPO, R. P.; SASSIOTO, M. C. P. O papel da poliuretana de mamona como substituto do enxerto ósseo autógeno em coelhos. **Revista do Colégio Brasileiro Cirurgia**, v. 31, n. 4, p. 236-241, 2004.

LARANJEIRA, M. C. M.; DE FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 187-191, 2009.

LEE, Y. M.; PARK, Y. J.; LEE, S. J.; KU, Y.; HAN, S. B.; CHOI, S. M.; KLOKKEVOLD, P. R.; CHUNG, C. P. Tissue engineered bone formation using chitosan/tricalcium phosphate sponges. **Journal of Periodontology**, v. 71, N. 3, P. 410 – 417, 2000.

LEONEL, E. C. F.; MANGILINI, P. D.; RAMALHO, L. T. O.; ANDRADE SOBRINHO, J. A importância da porosidade interna do polímero de mamona durante a neoformação óssea: estudo em ratos. **Ciência Odontológica Brasileira**, v.6, n.3, p.19-25, 2003.

LIESHOUT, E. M. M. V.; KRALINGEN, G. H. V.; EL-MASSOUDI, Y.; WEINANS, H.; PATKA, P. Microstructure and biomechanical characteristics of bone substitutes for trauma and orthopaedic surgery. **BMC Musculoskeletal Disorders**, v. 12, n. 34, p 1-14, 2011.

LIMA, A. F. M.; RAHAL, S. C.; MULLER, S. S.; CORREA, M. C. E.; PADOVANI, C. R. Propriedades mecânicas do cimento ósseo e da poliuretana de mamona com e sem catalizador. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.5, p.1061-1068, 2008.

LIU, H.; LI, H.; CHENG, W.; YANG, Y.; ZHU, M.; ZHOU, C. Novel injectable calcium phosphate/chitosan composites for bone substitute materials. **Acta Biomaterialia**, n. 2, p. 557 – 565, 2006.

MARKEL, M. D. Fracture biomechanics. In: NIXON, A. J. **Equine fracture repair**, p.10-18, 1996.

MALTA, L. C.; SCARTON, R. B.; GOMES, A. G.; NÓBREGA, F. S.; BECK, C. A. C.; ALIEVI, M. M.; OLIVEIRA, L. O.; ROCHA, A. L. A.; FERREIRA, M. P. Atendimentos realizados na clínica de grandes animais no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande Do Sul no período de Janeiro de 2006 à dezembro de 2007. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008. **Anais eletrônicos**. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0408-1.pdf>

MEINEL, L.; KARAGEORGIU, V.; FAJARDO, R.; SNYDER, B.; SHINDE-PATIL, V.; ZICHNER, L.; KAPLAN, D.; LANGER, L.; VUNJEK-NOVAKOVIC, G. Bone tissue engineering using human mesenchymal stem cells: effects of scaffold material and medium flow. *Annals of Biomedical Engineering*. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 32, n. 1, p. 112–122, 2004.

MOREIRA, R. C.; PEREIRA, C. A. M.; FRAZÃO, P. J. R.; SELIM, M. B.; SILVA, L. C. L. C.; ZOPPA, A. L. V. D. Evaluation of bone biomechanical properties in different regions of the equine third metacarpus. **Journal of Musculoskeletal Research**, v. 15, n. 3, 1250017-1 – 1250017-10, 2012.

NANDI, S. K.; ROY, S.; MUKHERJEE, P.; KUNDU, B.; DE, D. K.; BASU, D. Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: a review. **Indian Journal of Medical Research**, v. 132, p. 15-30, 2010.

NORDIN, M.; FRANKEL, V. H. **Biomecânica Básica do Sistema Musculoesquelético**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

NIXON, A. J. General considerations in selecting cases for fracture repair. In: Nixon, A. J. **Equine Fracture Repair**, p. 30-35, 1996.

OLIVIER, V.; FAUCHEUX, N.; HARDOUIN, P. Biomaterial challenges and approaches to stem cell use in bone reconstructive surgery. **DDT**, v. 9, n. 18, 2004.

OLSSON, D. C.; PIPPI, N. L.; TORGOLI, G. K. RAISER, A. G. Comportamento biológico de matriz scaffold acrescida de células progenitoras na reparação óssea. **Ciência Rural**, v. 38, n.8, p. 2403-2412, 2008.

PARTRIDGE, K.; YANG, X.; CLARKE, N. M. P.; OKUBO, Y.; BESSHO, K.; SEBALD, W.; HOWDLE, S. M.; SHAKESHEFF, K. M.; OREFFO, R. O. C. Adenoviral BMP-2 transfer in mesenchymal stem cells: in vitro and in vivo bone formations on biodegradable polymer scaffolds. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 292, p. 144-142, 2002.

PIEREZAN, F.; RISSI, D. R.; RECH, R. R.; FIGHERA, R. A.; BRUM, J. S.; BARROS, C. S. L. Achados de necropsia relacionados com a morte de 335 eqüinos: 1968-2007. 2009. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29(3), p. 275-280, 2009.

PRIESTER, W. A.; MANTEL, N. Occurrence of Tumors in Domestic Animals. Data From 12 United States and Canadian Colleges of Veterinary Medicine. **Journal of National Cancer Institute**, v. 47, n. 6, p. 1333-1345, 1971.

REDDI, A. H. Morphogenesis and tissue engineering of bone and cartilage: Inductive Signals, Stem Cells, And Biomimetic Biomaterials. **Tissue Engineering**, v. 6, n. 4, p. 351-365, 2000.

REYES, M.; LUND, T.; LENVIK, T.; AGUIAR, D.; KOODIE, L.; VERFAILLIE, C. M. Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitors cells. **Blood**, v. 98, n. 9, p. 2615-2625, 2001.

SOUSA, S. A. Ensaios mecânicos de materiais metálicos. São Paulo: Edgar Blüncher, 1995.

SPIN-NETO, R.; PAVONE, C.; FREITAS, R. M.; MARCANTONIO, R. A. C.; MARCANTONIO-JÚNIOR, E. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 37(2): p. 155-161, 2008.

SUMNER-SMITH, G. Bone in clinical orthopedics. Dübendorf: **AO Publishing**, 2002.

VIDAL, M. A.; KILROY, G. E.; JOHNSON, J. R.; LOPEZ, M. J.; MOORE, R. M.; GIMBLE, J. M. Cell growth characteristics and differentiation frequency of adherent equine bone marrow-derived mesenchymal stromal cells: adipogenic and osteogenic capacity. **Veterinary Surgery**, v. 35, p. 601-610, 2006.

ZHANG, Y.; ZHANG, M. Three-dimensional macroporous calcium phosphate bioceramics with nested chitosan sponges for load-bearing bone implants. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 61, n. 1, p. 1-8, 2002.

APÊNDICE A

Gráfico 7 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona porosa após 3 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000123 DATA: 23/11/2011
NORMA: MAMONA GUILHERME 50
IDENTIFICAÇÃO: MAMONA POROSA 3 HORAS
CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1) PRÉ CARGA (1ª. Amostra): 2,00 N
VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min VEL. RETORNO: 15,00 mm/min
TEMPERATURA: 25,00° C

HORA: 14:29:47
TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO
PRÉ CARGA (Demais Amostras): 2,00 N
UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

APÊNDICE B

Gráfico 8 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona porosa após 24 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000125

DATA: 25/11/2011

HORA: 15:02:27

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: MAMONA POROSA 24 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª. Amostra): 2,50 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 2,50 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

TEMPERATURA: 25,00 °C

APÊNDICE C

Gráfico 9 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona porosa após 48 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000131

DATA: 26/01/2012

HORA: 14:29:27

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: MAMONA POROSA 48 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª. Amostra): 2,50 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 2,50 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

TEMPERATURA: 25,00°C

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

APÊNDICE D

Gráfico 10 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona porosa após 72 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000129

DATA: 01/12/2011

HORA: 14:28:30

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: MAMONA 50 POROSA 72 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª Amostra): 2,50 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 2,50 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

TEMPERATURA: 25,00°C

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

APÊNDICE E

Gráfico 11 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona sólida após 3 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000126

DATA: 28/11/2011

HORA: 10:54:26

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: MAMONA 50 SOLIDA 3 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª. Amostra): 10,00 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 10,00 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

TEMPERATURA: 25,00°C

APÊNDICE F

Gráfico 12 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona sólida após 24 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000128

DATA: 29/11/2011

HORA: 07:56:43

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: MAMONA SOLIDA 24 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª. Amostra): 19,00 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 19,00 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

TEMPERATURA: 25,00°C

APÊNDICE G

Gráfico 13 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona sólida após 48 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000130

DATA: 07/12/2011

HORA: 14:47:31

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: MAMONA 50 SOLIDA 48 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª. Amostra): 21,00 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 21,00 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

TEMPERATURA: 25,00°C

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

APÊNDICE H

Gráfico 14 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da poliuretana de mamona sólida após 72 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000127

DATA: 28/11/2011

HORA: 13:35:13

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: MAMONA 50 SOLIDA 72 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª. Amostra): 21,00 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 21,00 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

TEMPERATURA: 25,00 °C

APÊNDICE I

Gráfico 15 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 38 após 3 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000137

DATA: 23/05/2012

HORA: 15:21:21

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: QUITOSANA 38 GRAUS 3 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª. Amostra): 0,20 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 0,15 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

TEMPERATURA: 25,00°C

APÊNDICE J

Gráfico 16 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 38 após 24 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000138

DATA: 24/05/2012

HORA: 10:18:10

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: GUILHERME QUITOSANA 38 GRAUS 24 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª Amostra): 2,00 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 2,00 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

UNIDADE RELATIVA: 50,00 %

TEMPERATURA: 25,00°C

APÊNDICE K

Gráfico 17 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 38 após 48 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000140

DATA: 25/05/2012

HORA: 12:05:23

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: GUILHERME QUITOSANA 38 GRAUS 48 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª. Amostra): 4,50 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 4,50 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

TEMPERATURA: 25,00°C

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

APÊNDICE L

Gráfico 18 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 38 após 72 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000141

DATA: 28/05/2012

HORA: 11:44:00

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: GUILHERME QUITOSANA 38 GRAUS 72 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª. Amostra): 6,00 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 6,00 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

TEMPERATURA: 25,00°C

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

APÊNDICE M

Gráfico 19 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 60 após 3 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000142

DATA: 28/05/2012

HORA: 14:41:29

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: GUILHERME QUITOSANA 60 GRAUS 3 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª. Amostra): 0,15 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 0,15 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

TEMPERATURA: 25,00°C

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

APÊNDICE N

Gráfico 20 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 60 após 24 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000136

DATA: 23/05/2012

HORA: 10:29:50

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: QUITOSANA 60 GRAUS 24 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª Amostra): 4,90 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 4,90 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

TEMPERATURA: 25,00°C

APÊNDICE O

Gráfico 21 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 60 após 48 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000139

DATA: 24/05/2012

HORA: 12:14:38

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: GUILHERME QUITOSANA 60 GRAUS 48 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª. Amostra): 4,90 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 3,75 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

TEMPERATURA: 25,00°C

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %

APÊNDICE P

Gráfico 22 – Representação gráfica de curvas sobrepostas do ensaio biomecânico realizado com os 10 corpos de prova da quitosana 60 após 72 horas de preparo.

RELATÓRIO DE ENSAIO

KRATOS
EQUIPAMENTOS

ENSAIO: 00000143

DATA: 31/05/2012

HORA: 11:38:04

NORMA: MAMONA GUILHERME 50

TRABALHO REALIZADO: COMPRESSÃO

IDENTIFICAÇÃO: GUILHERME QUITOSANA 60 GRAUS 72 HORAS

CÉLULA DE CARGA: 3000 kgf (1)

PRÉ CARGA (1ª Amostra): 3,75 N

PRÉ CARGA (Demais Amostras): 3,75 N

VEL. DESLOC.: 5,00 mm/min

VEL. RETORNO: 15,00 mm/min

UMIDADE RELATIVA: 50,00 %