

Dispositivos poliméricos cardiovasculares: comportamento termomecânico e viabilidade celular

Cardiovascular polymeric devices:
thermomechanical behavior and cell viability

Emanuelli Cabral Gracioli¹; Patricia Winter⁴; Ana Luiza Ziulkoski⁴;
Fernando Spilki⁴; Jeane Dullius¹; Sandra Einloft¹, Sílvio Perini²,
Luiz Carlos Bodanese^{2,3}, Vanusca Dalosto Jahno⁵, Rosane Angélica Ligabue¹.

¹ Faculdade de Química/Programa de Pós-Graduação em Engenharia e
Tecnologia de Materiais, PUCRS, CEP 90619900, Porto Alegre, RS.

e-mail: emanuelli.gracioli@acad.pucrs.br ; jdullius@pucrs.br ; einloft@pucrs.br ; rligabue@pucrs.br.

² Hospital São Lucas/PUCRS, Porto Alegre, RS.

e-mail: scperini@terra.com.br

³ Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde- Faculdade de Medicina/PUCRS, Porto Alegre, RS.

e-mail: lcbodanese@pucrs.br

⁴ Instituto de Ciências da Saúde/FEEVALE, Novo Hamburgo, RS.

e-mail: patirovaris@hotmail.com ; analuiza@feevale.br ; fernandors@feevale.br

⁵ Instituto de Ciências Exatas e Tecnológicas/FEEVALE, Novo Hamburgo, RS.

e-mail: vanusca@feevale.br

RESUMO

Nas últimas décadas têm sido desenvolvidos novos materiais sintéticos que possuam biofuncionalidade e biocompatibilidade para que se tornem um biomaterial. Polímeros bioestáveis têm uso generalizado no campo biomédico, sendo que muitos avanços em biomateriais poliméricos têm ocorrido na busca de melhorias aos implantes cardiovasculares. Atualmente, os materiais sintéticos mais utilizados para a fabricação de próteses vasculares são o PET e o PTFE devido a sua estabilidade química após o implante. Neste trabalho é apresentado um estudo das propriedades térmicas e mecânicas de dispositivos comerciais à base de PET e PTFE, bem como sua citotoxicidade em células de fibroblastos de camundongos, 3T3-NIH, através de testes para a avaliação da viabilidade celular (teste VN e MTT). Estes materiais apresentaram grande estabilidade térmica (acima de 300 °C), mesmo após 270 dias de degradação *in vitro* e um comportamento elástico (deformação máxima de 186±22% para o PET e de 65±19% para o PTFE). A viabilidade celular por VN e MTT do dispositivo de PTFE foi superior a 80%, permitindo classificar o mesmo como não citotóxico. No teste de VN, o dispositivo de PET não apresentou efeito citotóxico, contudo os resultados por MTT indicaram que o mesmo causa alteração da funcionalidade mitocondrial, independente da dose e tempo avaliados.

Palavras-chave: Biomaterial, PET, PTFE, cardiovascular, viabilidade celular.

ABSTRACT

In recent decades new synthetic materials have been developed with adequate biofunctionality and biocompatibility to become a biomaterial. Biostable polymers have widespread use in the biomedical field, and many advances in polymeric biomaterials have been made in the search for improvements to cardiovascular implants. Currently, the most commonly used synthetic materials for the production of vascular grafts are PTFE and PET, due to their chemical stability after implant. In this work, a study of the thermal and mechanical properties of the commercial devices based on PET and PTFE is reported, as well as their cytotoxicity in mouse fibroblast cells, 3T3- NIH, through tests for the evaluation of cell viability (MTT test and VN). These materials showed high thermal stability (over 300 °C), even after 270 days *in vitro* degradation and elastic behavior (maximal strain value of 186±22% by PET and 65±19% by PTFE). Cell viability by VN and MTT of PTFE device was more than 80%, thus, classified as non-cytotoxic. For PET device, VN test showed no cytotoxic effect, however the results obtained by MTT indicated that it causes alteration of mitochondrial function, independent of dose and time measured.

Keywords: Biomaterial, PET, PTFE, Cardiovascular, Cell viability.

1. INTRODUÇÃO

Muitos avanços em biomateriais poliméricos têm ocorrido na busca de melhorias ou novos implantes cardiovasculares, pois grande parcela da população mundial apresenta problemas associados a doenças cardiovasculares [1, 2]. No Brasil, segundo dados do DATASUS, em 2010 cerca de 30% do total de óbitos da população brasileira foram em consequência de infarto do coração [3]. Além disso, um aumento do número de procedimentos cirúrgicos e intervencionistas na área cardiovascular justifica a busca pelo desenvolvimento e a utilização de uma ampla gama de próteses e dispositivos médicos, incluindo válvulas cardíacas, enxertos vasculares, *stents*, entre outros [4, 5].

Atualmente, os materiais sintéticos comerciais à base de poli(etilenotereftalato), PET, e de poli(tetrafluoroetileno), PTFE, são os mais utilizados para a fabricação de próteses vasculares. Estes materiais são quimicamente estáveis após a implantação [6]. O PET é um poliéster aromático e linear que promove regeneração tecidual e possui um longo histórico em implantações humanas [7]. O PTFE é um homopolímero não-reativo e não-tóxico quando implantado em tecidos biológicos [8], e a energia da ligação carbono-flúor confere uma elevada resistência química e física, bem como uma elevada estabilidade térmica [9]. Apesar destes polímeros serem bastante conhecidos e muito utilizados em próteses vasculares, há pouca informação sobre o seu comportamento térmico e mecânico nos dispositivos, bem como sua degradação em meio similar ao do fluido corpóreo.

Ensaio de citotoxicidade em cultivos celulares são amplamente usados em estudos toxicológicos *in vitro*. O teste da redução do metiltetrazólio (MTT) e o da incorporação do vermelho neutro (VN) são os ensaios mais comumente empregados para a determinação de citotoxicidade ou viabilidade celular após a exposição a substâncias potencialmente tóxicas [10]. O ensaio do MTT é baseado no protocolo primeiramente descrito por MOSSMAN [11], no qual o MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio brometo), um sal tetrazólio amarelo e solúvel, é convertido a formazan, um produto insolúvel de cor púrpura, após a clivagem do anel tetrazólio pela succinato desidrogenase dentro da mitocôndria. O formazan é impermeável para as membranas celulares, desta forma, ele se acumula nas células saudáveis, e pode ser quantificado por espectrofotometria. Portanto, o ensaio do MTT informa sobre a funcionalidade mitocondrial. Já o ensaio do VN ($C_{15}H_{17}ClN_4$) está baseado no protocolo inicial descrito por BORENFREUND e PUERNER [12] e determina a acumulação do corante vermelho neutro nos lisossomos de células viáveis e não prejudicadas, refletindo a viabilidade lisossomal.

Dentro deste contexto, este trabalho teve como objetivo a avaliação das propriedades térmicas e mecânicas de dispositivos comerciais vasculares à base de PET e PTFE, bem como, o estudo da degradação *in vitro* e citotoxicidade destes materiais, utilizando cultivos de linhagens celulares.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Os reagentes MTT em pó (Sigma), Ácido Acético Glacial p.a. (> 99,5%, Merck), Solução Tampão Fosfato, PBS (Sigma e LGCBio), DMSO (99,9%, Synth), Vermelho Neutro em pó adequado para cultura celular, VN (Sigma), DMEM em pó com traços de glicose (Sigma e LGCBio), Cloreto de Cálcio (> 99%, Nuclear), Formaldeído concentrado (Synth), Solução de Azul de Trypan 0,4% (Sigma), Solução de Tripsina 0,25% (LGCBio), Gentamicina (Nuclear) e Soro Fetal Bovino inativado (LGCBio) foram utilizados como recebidos.

Os dispositivos comerciais à base de PET e PTFE analisados foram cedidos pela Faculdade de Medicina da PUCRS em forma de implantes tubulares para a área cardiovascular. Estes tubos foram cortados para obtenção dos corpos de prova e caracterizados no Laboratório de Caracterização de Materiais da Faculdade de Química da PUCRS. Os testes de citotoxicidade foram feitos no Laboratório de Microbiologia Molecular do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Feevale.

2.2 Métodos

2.2.1 Análise termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas foram realizadas em um equipamento TA Instruments modelo SDT Q600, entre a temperatura ambiente até 1200 °C, com uma taxa de aquecimento de 20 °C/min sob atmosfera de nitrogênio e usando porta-amostra de platina.

2.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises por calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram feitas em um equipamento de DSC da TA Instruments, modelo Q20, em um intervalo de temperatura de -90 a 400 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min em atmosfera de nitrogênio e usando porta-amostra de alumínio.

2.2.3 Ensaio de tração uniaxial

Os ensaios de tração uniaxial, para a obtenção dos diagramas de tensão-deformação dos materiais, foram realizados em um equipamento DMA da TA Instruments, modelo Q800, na temperatura ambiente e rampa de força de 1 N/min, utilizando corpos de prova com 3 cm de comprimento e 0,5 cm de largura, variando a espessura de acordo com cada material (entre 0,8 a 1,20 mm). Os ensaios foram realizados em triplicatas e baseado na norma D638 da ASTM [13].

2.2.4 Degradação hidrolítica

Os testes de degradação *in vitro* dos materiais foram realizados baseados na norma ASTM F1635 [14]. As amostras foram mantidas em solução de PBS a 37°C e retiradas em 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 e 270 dias, lavadas com água destilada e secadas a vácuo até massa constante.

2.2.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As análises da morfologia e superfície das amostras foram realizadas utilizando o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), PHILIPS modelo XL30 com resolução de 3,5 nm (no modo elétron secundário) e faixa de aumentos de 100 a 4000 vezes, tensão de aceleração de 20 kV, utilizando ouro para metalização das amostras.

2.2.6 Cultivos celulares

A linhagem celular utilizada foi a 3T3-NIH, células fibroblásticas de embrião de camundongo. Os cultivos celulares foram mantidos em garrafas de 25 cm² contendo meio de cultura DMEM suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB) e gentamicina 0,1 mg/mL, a 37 °C, em atmosfera úmida com 5% de CO₂. Neste trabalho, o DMEM serviu como meio de cultivo padrão.

2.2.7 Meio de extração

Para a realização dos testes foram utilizadas amostras dos materiais comerciais com área de 0,5 cm², as quais permaneceram 24 horas em 5,0 mL de meio DMEM com 10% de SFB. Após esse período, os meios foram filtrados com filtros de 0,22 µm para remoção de partículas e manutenção da esterilidade. Os meios assim obtidos foram denominados de meio de extração (ME), e foram utilizados a 100% ou misturados com igual volume de meio padrão (DMEM), obtendo-se ME a 50%, para ambos os polímeros avaliados.

2.2.8 Ensaios de citotoxicidade

Para os ensaios de citotoxicidade, 1 x 10³ células 3T3-NIH foram semeadas em placas de 96 poços. As células foram expostas por 24, 48 e 72 horas aos ME 100% e 50%, sendo os meios de cultivo renovados a cada 24 horas, para todos os grupos, até o final das 72 horas de cultura. Paralelamente, também foram mantidas culturas apenas no meio de cultivo padrão (DMEM), utilizadas como controles de proliferação e viabilidade celular. Ao final das 72 horas de exposição, as culturas foram submetidas aos ensaios de citotoxicidade do MTT e do VN.

Para o ensaio do MTT, foi adicionado volume suficiente de solução concentrada de modo a obter-se uma concentração final de 0,04 mg por poço. Após incubação por duas horas, o meio foi removido por inversão, e adicionado 200 µL de DMSO para liberação dos cristais. Já para o ensaio do VN, após o descarte do meio de exposição, adicionou-se DMEM (sem soro) contendo 50 µg/mL de vermelho neutro, com incubação de 3 h a 37 °C. Após esse período, esse meio foi removido e as células lavadas duas vezes com

PBS e uma vez com cloreto de cálcio 1% em solução de formaldeído a 0,5%, de forma sequencial. Após descarte das soluções, cada poço recebeu 0,2 mL de ácido acético 1% em etanol 50%, para solubilização dos cristais. Para ambos os ensaios, após transferência para outra placa de 96 poços, a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro de microplacas, em 540 nm.

2.2.9 Análise estatística

Todos os experimentos de citotoxicidade foram conduzidos em hexaplicata, para todos os grupos experimentais (controle, ME PET 100%, ME PET 50%, ME PTFE 100% e ME PTFE 50%) e nos três períodos de exposição (24, 48 e 72 horas). As médias foram comparadas por ANOVA de 1 via e as diferenças foram avaliadas pelo teste de Duncan, sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de avaliar o efeito da degradação hidrolítica sobre as características térmicas, mecânicas e morfológicas dos dispositivos comerciais de PET e PTFE foram realizadas análises de TGA, DSC, MEV e ensaio de tração.

A Figura 1 apresenta o perfil de decomposição térmica por TGA para as amostras de PET (Fig. 1a) e PTFE (Fig. 1b), antes e após o ensaio de degradação hidrolítica (270 dias).

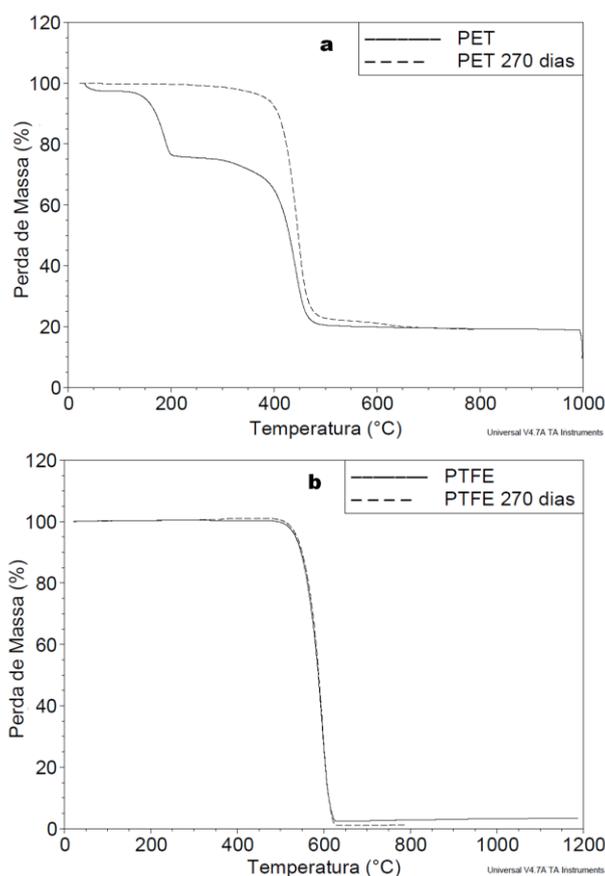


Figura 1: Curvas termogravimétricas das amostras: a) PET e PET (270 dias de degradação) e b) PTFE e PTFE (270 dias de degradação).

A curva de TGA (Fig. 1a) mostra que o dispositivo à base de PET apresenta uma perda de massa em duas etapas: a primeira entre 113 ° a 211 °C e a segunda entre 374 ° a 495 °C. A primeira etapa de decomposição sugere a presença de algum outro componente na composição do dispositivo, como por exemplo a adição de plastificante ftalato, usualmente utilizado no processamento de vários polímeros termoplásticos. A segunda etapa de degradação do PET puro, de acordo com a literatura, ocorre entre 436 ° a 479 °C, sendo esta dependente da taxa de aquecimento utilizada na análise de TGA [15]. Após 270 dias de degradação *in vitro*, a amostra de PET apresenta decomposição em uma única etapa entre 358 ° a 512 °C (Fig.

1a). Entretanto, para as amostras de PTFE, antes e após 270 dias sob ação da degradação *in vitro*, foi observada uma decomposição entre 460 ° a 631 °C (Fig. 1b) evidenciando a grande estabilidade térmica do material, similar aos valores encontrados (467° - 630 °C) por ODOCHIAN *et al.* [16].

A Figura 2 mostra as curvas de DSC para as amostras de PET (Fig. 2a) e PTFE (Fig. 2b), antes e após o ensaio de degradação hidrolítica (270 dias).

A curva de DSC para o PET antes da degradação (Fig. 2a) apresentou um pico largo de fusão (em torno de 229 °C), devido à presença de componentes nesta mistura polimérica corroborando os resultados de TGA para este material, e diferentemente do pico de fusão (em torno de 253 °C) apresentado após 270 dias sob ação da degradação *in vitro* (Fig. 2a), sendo este último semelhante aos valores encontrados na literatura para o PET puro ($T_f = 255$ °C) [17, 18]. Após o processo de degradação houve um aumento na cristalinidade do PET em torno de 30% quando comparado ao PET antes da degradação, e com conseqüente aumento na temperatura de fusão. Este aumento na cristalinidade provavelmente deve-se ao fato do processo de degradação iniciar mais facilmente na região amorfa do polímero, como descrito na literatura para a degradação de poliuretanos utilizados como biomaterial [19], também é possível que ocorra um rearranjo das regiões amorfas numa fase cristalina [20].

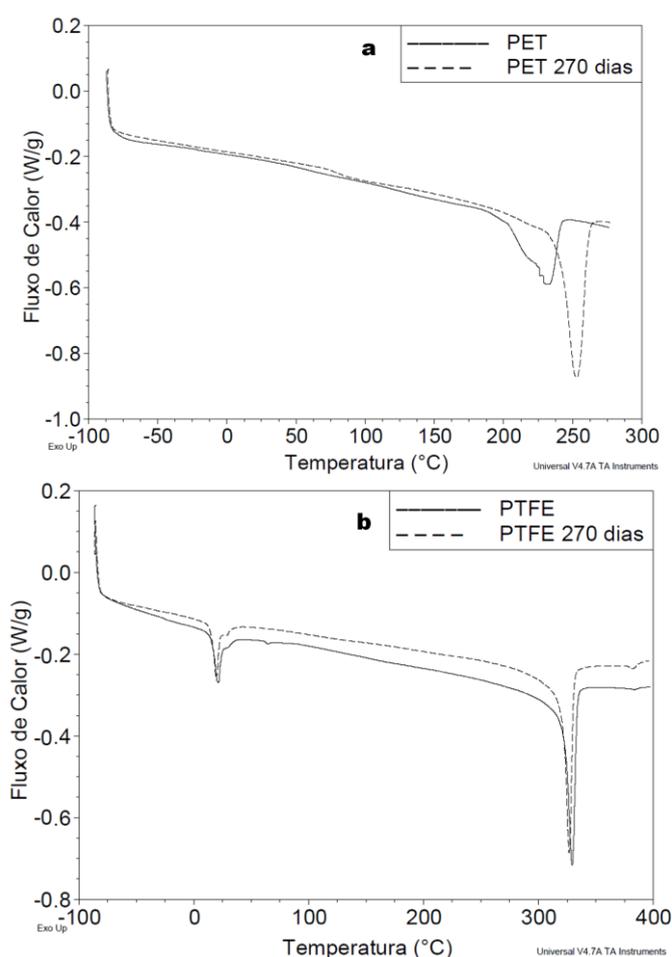


Figura 2: Curvas de DSC das amostras: a) PET e PET (270 dias de degradação) e b) PTFE e PTFE (270 dias de degradação).

Para as amostras de PTFE (antes e após a degradação) observaram-se duas temperaturas de fusão, em torno de 20 °C e 320 °C (Fig. 2b), sendo esta última similar ao valor descrito na literatura para este polímero puro (326 °C) [21, 22]. Contudo, observa-se um aumento na cristalinidade do polímero (em torno de 34%), similar ao observado com o dispositivo de PET. Estes comportamentos na degradação, observados para o PET e PTFE, estão em acordo com trabalhos relatados para outros polímeros, como, por exemplo, o descrito por GORNA *et al.* [23], em que a degradação *in vitro* de amostras baseadas no polímero poliuretano, provocou um aumento progressivo em sua entalpia de fusão indicando o aumento da cristalinidade.

Os valores de temperatura de fusão do PTFE obtidos antes e após a degradação (em torno de 320 °C) indicam que o processo de degradação hidrolítica não afeta significativamente a estabilidade térmica e química deste polímero. A temperatura de fusão próxima à ambiente (em torno de 21 °C) pode estar associada à adição de algum componente no processamento do polímero, a fim de obter um material adequado para dispositivos cardiovasculares, como os plastificantes, que, quando adicionados ao polímero, o tornam mais flexível [24].

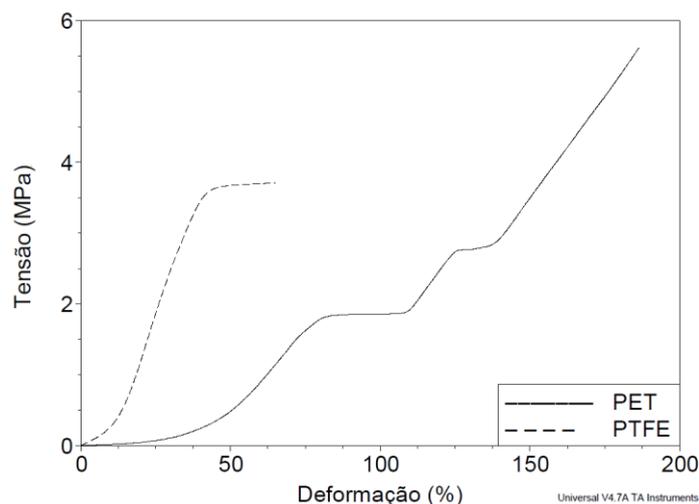
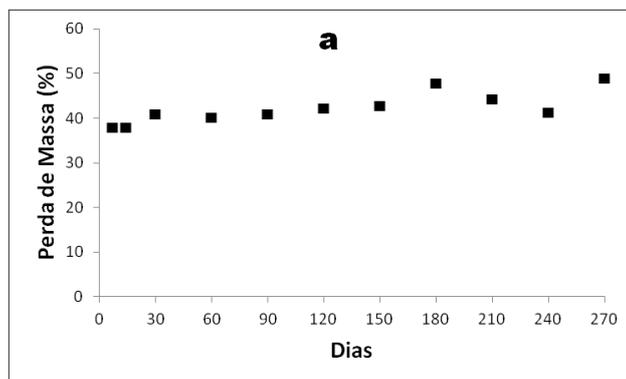


Figura 3: Curvas tensão-deformação dos materiais comerciais obtidas com ensaio de tração.

Analisando as curvas de tensão-deformação apresentadas na Figura 3, verificou-se que os materiais comerciais à base de PET e PTFE apresentaram um comportamento plástico (deformação normal máxima em tração de $186 \pm 22\%$ para o PET e de $65 \pm 19\%$ para o PTFE) nas condições do ensaio sem rompimento do corpo de prova (força máxima aplicada de 18 N). Entretanto, o material à base de PET apresentou uma maior deformação plástica com dois patamares de tensão constante (Fig. 3), que pode estar associada tanto à morfologia das fibras (longitudinais), bem como à estrutura tramada da qual o material é formado. O comportamento mecânico encontrado para estes materiais comerciais é diferente daqueles encontrados na literatura [25, 26], em que o PET normalmente possui um módulo de Young relativamente mais alto (2000-3000 MPa) quando comparado com o PTFE (800-1500 MPa). Este módulo de Young mais alto para o PET indica que ele é mais rígido do que o PTFE, o que exigiria uma maior carga para deformá-lo elasticamente.

A Figura 4 mostra as perdas de massas obtidas dos materiais comerciais quando submetidos à exposição de 270 dias em meio tamponado, na qual foi possível observar que o PET tem perda de massa rápida de 40% no início, progredindo para cerca de 48% em 270 dias. Esta perda pode estar associada à degradação do componente observado no TGA (Fig. 1a). Já o PTFE não sofreu variação significativa de massa (Fig. 4b), onde o ponto em 210 dias de análise é devido, provavelmente, a erro experimental.



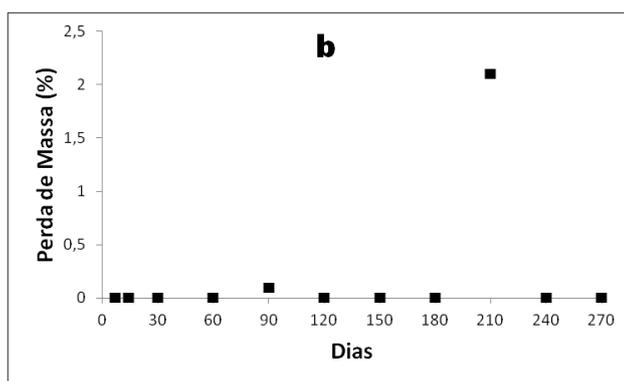


Figura 4: Degradação hidrolítica do a) PET e b) PTFE.

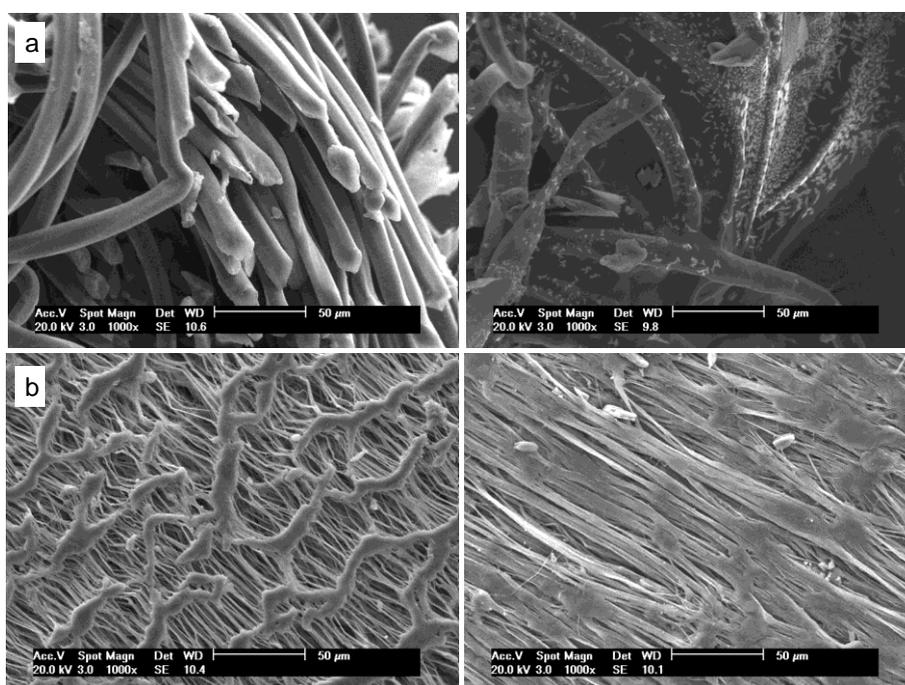


Figura 5: Micrografias dos materiais a) PET; b) PTFE; antes (esquerda) e após 270 dias de degradação (direita); com aumento de 1000x.

As micrografias dos filmes de PET e PTFE antes da degradação (Fig. 5a e 5b, esquerda) apresentaram uma morfologia na forma de fibras longitudinais, em que as fibras no filme de PET têm maior diâmetro do que aquelas apresentadas no filme de PTFE. Além disso, o filme de PTFE mostra interligações entre essas fibras formando poros [8]. Após a degradação, os filmes de PET e PTFE apresentaram uma modificação significativa na estrutura original (Fig. 5a e 5b, direita), na qual para o PET, observa-se a diminuição do número de fibras, bem como o surgimento de particulado sobre a superfície [6]. Já para o filme de PTFE, observa-se o desaparecimento das interligações entre as fibras, tornando-as mais próximas.

A Figura 6 mostra os resultados de citotoxicidade obtidos para os meios de extração do PET pelos métodos do VN e do MTT. No ensaio de incorporação do VN, o qual detecta alterações na viabilidade lisossomal, observa-se que não existe diferença significativa entre os grupos testados, ou seja, não há indicativo de efeito citotóxico. No entanto, é possível observar que o ME 100% do PET causou diminuição da viabilidade mitocondrial em células 3T3-NIH a partir das 48 horas de exposição (Fig. 6a). Já para a mistura a 50% esse efeito citotóxico só foi observado nas 72 horas de exposição ao ME. Esses resultados indicam que o PET causa alteração da funcionalidade mitocondrial de forma, dose e tempo dependente, a

qual pode estar relacionada com o efeito de seus subprodutos de degradação. Tem sido sugerido que alterações na funcionalidade mitocondrial podem estar relacionadas ao fenômeno de estresse oxidativo, visto que as mitocôndrias constituem o principal ambiente celular de geração de radicais livres [27]. Contudo, a viabilidade celular dos materiais mostrou-se superior a 80%, permitindo classificar as amostras como não citotóxicas, de acordo com a norma USP 23 [28]

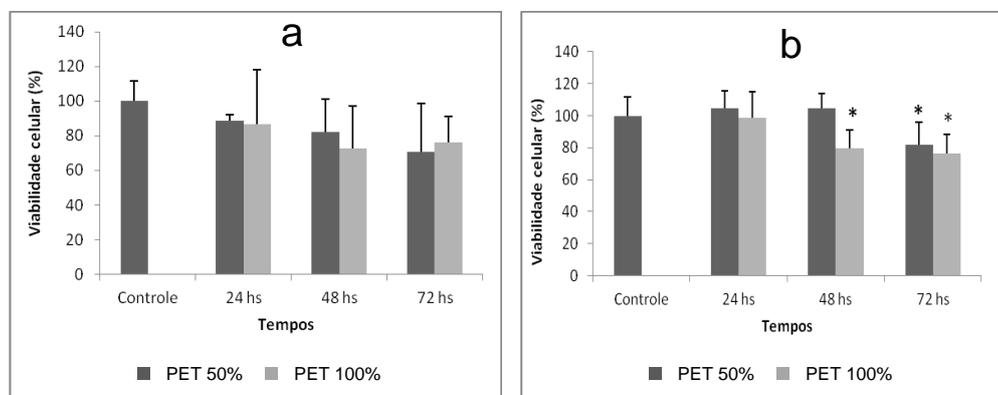


Figura 6: Citotoxicidade em células 3T3-NIH expostas aos meios de extração do PET por 24, 48 e 72 horas. (a) ensaio do vermelho neutro, (b) ensaio do MTT. Resultados expressos como % da viabilidade celular, considerando como 100% as células que não foram expostas (controles). As diferenças entre os grupos foram avaliadas através de ANOVA de 1 via e teste de Duncan (*), para valores de $p < 0,05$.

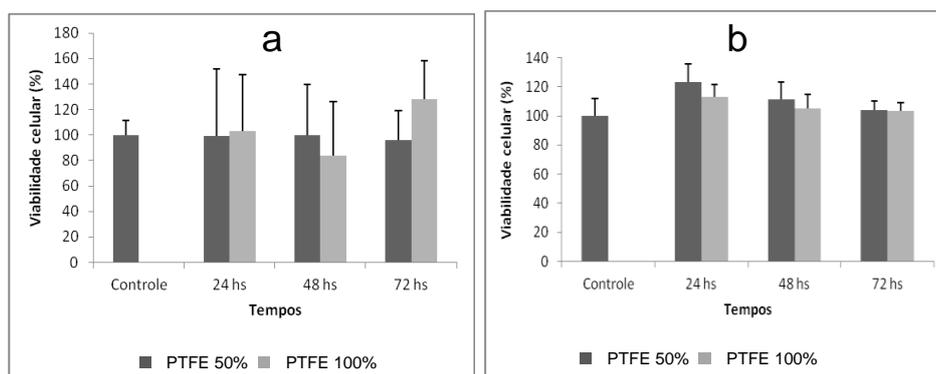


Figura 7: Citotoxicidade em células 3T3-NIH expostas aos meios de extração do PTFE por 24, 48 e 72 horas. (a) ensaio do vermelho neutro, (b) ensaio do MTT. Resultados expressos como % da viabilidade celular, considerando como 100% as células que não foram expostas (controles). As diferenças entre os grupos foram avaliadas através de ANOVA de 1 via e teste de Duncan (*), para valores de $p < 0,05$.

Já os resultados obtidos para o PTFE, tanto no ensaio de incorporação do VN como no ensaio de redução do MTT (Fig. 7a e 7b, respectivamente), não demonstram qualquer alteração de viabilidade celular em ambas as doses e em todos os tempos de exposição testados, sugerindo menor citotoxicidade desse material.

4. CONCLUSÕES

Os materiais comerciais usados em próteses vasculares avaliados neste trabalho apresentaram grande estabilidade térmica (acima de 300 °C), mesmo após 270 dias de degradação *in vitro*, e um comportamento plástico (deformação normal máxima em tração de $186 \pm 22\%$ para o PET e de $65 \pm 19\%$ para o PTFE) diferente dos respectivos polímeros puros. A viabilidade celular por VN e MTT do dispositivo de PTFE foi superior a 80%, permitindo classificar o mesmo como não citotóxico. Para o dispositivo de PET, o teste de VN não mostrou efeito citotóxico, contudo, os resultados por MTT indicaram que o mesmo causa alteração da funcionalidade mitocondrial independente da dose e tempo avaliados.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à PUCRS, Universidade Feevale, CAPES, FAPERGS, CNPq e à A.S.Technology pelo apoio financeiro.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] SOARES, J.F., *Constitutive modeling for biodegradable polymers for application in endovascular Stents*, Dissertação de M.Sc. Texas A&M University, USA, 2008.
- [2] VENKATRAMAN, S., BOEY, F., LAO, L., “Implanted cardiovascular polymers: Natural, synthetic and bio-inspired”, *Progress in Polymer Science*, v. 33, pp. 853–874, ago. 2008.
- [3] BANCO DE SAÚDE, <http://www.bancodesaude.com.br/infarto-miocardio/infarto-agudo-miocardio-consideracoes-finais>. Acessado em setembro de 2010.
- [4] SCHOEN, F.J., “Cardiovascular pathology: maturation of a discipline and the Society for Cardiovascular Pathology”, *Cardiovascular Pathology*, v. 19, n. 4, pp. 198–200, ago. 2010.
- [5] KUSHWAHA, M., ANDERSON, J.M., BOSWORTH, C.A., *et al.*, “A nitric oxide releasing, self assembled peptide amphiphile matrix that mimics native endothelium for coating implantable cardiovascular devices”, *Biomaterials*, v. 31, n. 7, pp. 1502–1508, mar. 2010.
- [6] BIOMATERIALS IN CARDIOLOGY, http://chemistry.org.il/booklet/22/pdf/ilana_cohen.pdf. Acessado em agosto de 2009.
- [7] METZGER, A., “Polyethylene terephthalate and the pillar™ palatal implant: its historical usage and durability in medical applications”, *Journal of Polymer Science (Part A) Polymer Chemistry*, pp.1-2, 1994.
- [8] CATANESE, J., COOKE, D., MAAS, C., *et al.*, “Mechanical properties of medical grade expanded polytetrafluoroethylene: the effects of internodal distance, density and displacement rate”, *Journal Biomedical Materials Research (Applied Biomaterials)*, v. 48, n. 2, pp. 187-192, mar. 1999.
- [9] GARCÍA, A.N., VICIANO, N., FONT, R., “Products obtained in the fuel-rich combustion of PTFE at high temperature”, *Journal of Analytical Applied Pyrolysis*, v. 80, n. 1, pp. 85-91, ago. 2007.
- [10] FOTAKIS, G., TIMBRELL, J.A., “In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride”, *Toxicology Letters*, v. 160, n. 2, pp.171-177, jan. 2006.
- [11] MOSSMANN, T., “Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays”, *Journal of Immunological Methods*, v. 65, n. 1, pp. 55–63, dez. 1983.
- [12] BORENFREUND, E., PUERNER, J., “A simple quantitative procedure using monolayer culture for toxicity assays”, *Journal of Tissue Culture Methods*, v. 9, n. 1, pp. 7–9, 1984.
- [13] ASTM D638, Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics, 2010.
- [14] ASTM F1635, Standard Test Method for in vitro Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants, 2010.
- [15] YUAN, X., LI, C., GUAN, G., *et al.*, “Thermal degradation investigation of poly (ethylene terephthalate)/fibrous silicate nanocomposites”, *Polymer Degradation and Stability*, v. 93, n. 2, pp. 466-475, fev. 2008.
- [16] ODOCHIAN, L., MOLDOVEANU, C., MOCANU, A.M., *et al.*, “Contributions to the thermal degradation mechanism under nitrogen atmosphere of PTFE by TG-FTIR analysis. Influence of the additive nature”, *Thermochimica Acta*, v. 526, n. 1-2, pp. 205-212, nov. 2011.
- [17] WONG, J., “The application and characteristics of Dacron vascular graft”, In: *Curso de Biomateriais*, 2008.
- [18] KINT, D., MUNÓZ-GUERRA, S., “A review on the potential biodegradability of poly (ethylene terephthalate)”, *Polymer International*, v. 48, n. 5, pp. 346-352, maio 1999.
- [19] PENG, H., LING, J., LIU, J. *et al.*, “Controlled enzymatic degradation of poly(3-caprolactone)-based copolymers in the presence of porcine pancreatic lipase”, *Polymer Degradation and Stability*, v. 95, n. 4, pp. 643-650, abr. 2010.
- [20] RABELLO, M.S., WELLEN, R.M.R., “Estudo da cristalização a frio do poli (tereftalato de etileno) (PET) para produção de embalagens”, *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 3, n. 2, pp. 01-09, 2008.

- [21] BAQUEY, C., DURRIEU, M-C., GUIDOIN, R.G. “Fluorinated biomaterials for cardiovascular surgery”, In: *Tressaud, A., Haufe, G. (eds), Fluorine and Health*, chapter 8, United Kingdom, 2008.
- [22] KHEDKAR, J., NEGULESCU, I., MELETIS, E.I., “Sliding wear behavior of PTFE composites”, *Wear*, v. 252, n. 5, pp. 361-369, mar. 2002.
- [23] GORNA, K., GOGOLEWSKI, S., “In vitro degradation of novel medical biodegradable aliphatic polyurethanes based on ϵ -caprolactone and Pluronic® with various hydrophilicities”, *Polymer Degradation and Stability*, v. 75, n. 1, pp. 113-122, jun. 2002.
- [24] DE PAOLI, M-A. Degradação e estabilização de polímeros, <http://www.chemkeys.com/blog/wp-content/uploads/2008/09/polimeros.pdf>, Chemkeys (2ª versão on-line), Brasil, 2008. Acessado em junho de 2013.
- [25] RAE, P.J., BROWN, E.N., “The properties of poly (tetrafluoroethylene) (PTFE) in tension”, *Polymer*, v. 46, n. 19, pp. 8128-8140, set. 2005.
- [26] TORRES, N., ROBIN, J.J., BOUTEVIN, B., “Study of thermal and mechanical properties of virgin and recycled poly (ethylene terephthalate) before and after injection molding”, *European Polymer Journal*, v. 36, n. 10, pp. 2075-2080, out. 2000.
- [27] VALKO, M., RHODES, C.J., MONCOL, J., et al., “Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer”, *Chemico-Biological Interactions*, v. 160, n. 1, pp. 1-40, mar. 2006.
- [28] UNITED STATES PHARMACOPEIA. Organic Volatiles Impurities, USP 23, NF 18, pp. 1746-1747, jan. 1995.