



DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE POLI(ÉTER IMIDA)  
FUNCIONALIZADAS PARA APLICAÇÃO EM HEMODIÁLISE

Alana Melo dos Santos

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientadores: Alberto Claudio Habert

Helen Conceição Ferraz

Rio de Janeiro

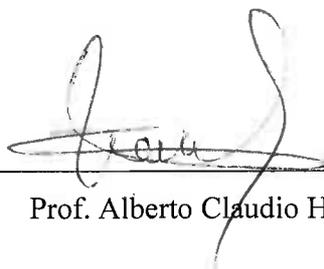
Março de 2014

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE POLI(ÉTER IMIDA)  
FUNCIONALIZADAS PARA APLICAÇÃO EM HEMODIÁLISE

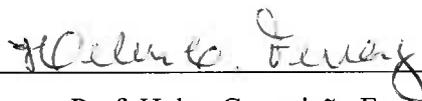
Alana Melo dos Santos

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA QUÍMICA.

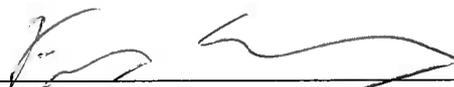
Examinada por:



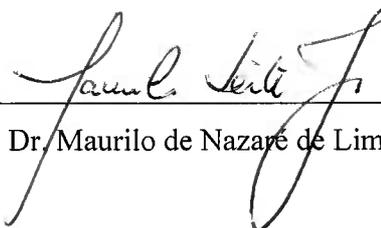
Prof. Alberto Claudio Habert, Ph.D.



Prof. Helen Conceição Ferráz, D.Sc.



Prof. Frederico Caetano Jandre Assis Tavares, D.Sc.



Dr. Maurilo de Nazaré de Lima Leite Júnior, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

MARÇO DE 2014

Santos, Alana Melo dos

Desenvolvimento de Membranas de Poli(éter imida) Funcionalizadas para Aplicação em Hemodiálise/ Alana Melo dos Santos. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2014.

XVI, 127 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: Alberto Claudio Habert

Helen Conceição Ferraz

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Química, 2014.

Referências Bibliográficas: p. 110-121.

1. Membranas Planas e do Tipo Fibras Ocas. 2. Funcionalização. 3. Heparina. 4. Biocompatibilidade e hemocompatibilidade. 5. Hemodiálise I. Habert, Alberto Claudio, *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título.

*Dedico este trabalho aos meus pais,  
pelo apoio, incentivo, carinho  
e amor incondicionais.*

# AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, pelo dom da vida e por sempre guiar meus caminhos.

Aos meus pais, Benedito e Margareth, minha base, pelo incentivo, apoio, amor e dedicação de sempre. Obrigada por tudo. Amo vocês.

Ao meu irmão Arthur, pelas dicas sempre valiosas para meu futuro.

Ao meu namorado, Gustavo, por estar sempre perto, mesmo longe. Por me apoiar, incentivar, ser amigo e querer o melhor pra mim.

Aos meus orientadores, Habert e Helen, por acreditarem no meu trabalho e estarem sempre dispostos a ajudar, tirar dúvidas, discutir resultados. Muito obrigada pela orientação impecável que recebi (e continuarei recebendo!).

Ao Professor Frederico e ao Dr. Maurilo, por aceitarem fazer parte da banca examinadora.

Aos meus amigos do mestrado, companheiros desta jornada, com quem dividi momentos de alegria e desespero, em especial a Aiany, Élber, João Victor, Luana, Paola, Sandra. Quando a gente se reúne, é coisa de nerd na certa! (rs)

Aos amigos Bel, Cícera Iva, Luana Flávia, Márcia Valtinho, Vivian, obrigada pela amizade sincera, pelo apoio, pelos conselhos, pelos momentos de descontração, enfim... Vocês são demais. Obrigada!

Aos meus primos, Rejane e Ricardo, que conheci graças ao mestrado e que me receberam no Rio de braços abertos, obrigada por toda a ajuda e apoio oferecidos À Vanessa e tia Sandra, pelo suporte no início dessa jornada.

Ao pessoal do PAM, pela convivência harmoniosa, em especial ao pessoal da sala 22, que me acolheu muito bem como “agregada”. Também agradeço ao Caio, Carol, Cátia, Felipe Coelho, Flávia, Jane, Juliana (maninha rs), Marcela, Mariana, Mateus, Thaís, Vivianne, e ao Bob, o cara mais disputado do laboratório. Obrigada a todos por toda ajuda e amizade.

Ao pessoal do NUCAT, afinal vez ou outra eu estava por lá, quase como parte do laboratório.

Ao pessoal do GRIFIT, pela ajuda nas análises de ângulo de contato e pelo uso do espectrofotômetro.

Ao Laboratório de Engenharia de Cultivos Celulares (LECC), pelas análises de TTPa, em especial a Juliana e Douglas.

Ao Laboratório da Biofísica (CCS), pelas últimas análises de MEV.

Não poderia deixar de agradecer, também, aos mais fiéis companheiros, Carioquinha e Neguinha. Do jeito deles, tiveram participação única e essencial na concretização deste trabalho, logo não poderia deixá-los de fora.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para o êxito desse trabalho.

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE POLI(ÉTER IMIDA)  
FUNCIONALIZADAS PARA APLICAÇÃO EM HEMODIÁLISE

Alana Melo dos Santos

Março/2014

Orientadores: Cláudio Alberto Habert  
Helen Conceição Ferraz

Programa: Engenharia Química

A hemodiálise é o tratamento mais utilizado em doenças renais crônicas, apesar de ainda apresentar importantes limitações a serem ultrapassadas, a fim de diminuir o índice de mortalidade e melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi a síntese de membranas de poli(éter imida) (PEI), funcionalizadas através da imobilização química de heparina, a fim de aumentar sua bicompatibilidade, visando à aplicação em hemodiálise. As membranas sintetizadas foram caracterizadas através da análise da morfologia e das propriedades de transporte, bem como por espectroscopia de infravermelho (FT-IR), adsorção de proteínas, ângulo de contato, tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa), adesão de plaquetas e teste de hemólise. As propriedades de transporte das membranas de PEI sintetizadas foram comparáveis às dos dialisadores comerciais de baixo fluxo; a imobilização de heparina, por sua vez, resultou na obtenção de membranas mais hidrofílicas em relação às membranas antes da funcionalização, com características antitrombogênicas confirmadas pelo aumento do TTPa, que não adsorvem albumina em sua superfície (ao contrário das membranas comerciais), reduzem a adesão de plaquetas, e não causam hemólise.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

DEVELOPMENT OF FUNCIONALIZED POLYETHERIMIDE MEMBRANES FOR  
APPLICATION IN HEMODIALYSIS

Alana Melo dos Santos

March/2014

Advisors: Cláudio Alberto Habert

Helen Conceição Ferraz

Department: Chemical Engineering

Hemodialysis is the most used treatment for chronic kidney disease, although it still requires improvements to decrease the mortality and increase the quality of life of patients. Thus, the present study aimed to synthesize membranes for hemodialysis based on the polymer polyetherimide (PEI), with chemical immobilization of heparin on its surface in order to increase the biocompatibility. The synthesized PEI membranes were characterized by morphological analysis and transport properties, as well by infrared spectroscopy (FT-IR), protein adsorption, contact angle, activated partial thromboplastin time (aPTT), platelet adhesion and hemolysis test. The transport properties of the synthesized PEI membranes were comparable to those of low flux commercial dialyzers; the immobilization of heparin, in turn, resulted in more hydrophilic membranes in relation to those one prior to functionalization, with insignificant protein adsorption and platelet adhesion (as opposed to commercial membranes), presenting anti-thrombogenic characteristics as confirmed by increased aPTT, and unable to cause hemolysis.

# SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS</b> .....	1
CAPÍTULO 2 – FUNDAMENTOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1. BREVE HISTÓRICO DA HEMODIÁLISE.....	12
2.2. PRÍNCIPIOS E PRINCIPAIS PARÂMETROS DE HEMODIÁLISE.....	18
<b>2.2.1. Fundamentos da transferência de massa através de membranas</b> .....	<b>20</b>
<b>2.2.2. Principais parâmetros da hemodiálise</b> .....	<b>23</b>
2.3. MEMBRANAS DE HEMODIÁLISE .....	24
<b>2.3.1. Classificação</b> .....	<b>24</b>
<b>2.3.2. Propriedades</b> .....	<b>28</b>
<b>2.3.3. Remoção de solutos</b> .....	<b>32</b>
<b>2.3.4. Eficácia da terapia de hemodiálise</b> .....	<b>34</b>
<b>2.3.5. Biocompatibilidade e coagulação sanguínea</b> .....	<b>35</b>
2.4. MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE MEMBRANAS.....	37
<b>2.4.1. Imobilização de heparina na superfície das membranas</b> .....	<b>39</b>
<b>2.4.2. Imobilização de outras substâncias</b> .....	<b>42</b>
2.5. DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS PARA HEMODIÁLISE.....	43
<b>2.5.1 Membranas de Poli(éter imida)</b> .....	<b>45</b>
2.6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	46
<b>CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>48</b>
3.1. PREPARO DAS SOLUÇÕES POLIMÉRICAS .....	48
3.2. SÍNTESE DAS MEMBRANAS PLANAS .....	50
3.3. SÍNTESE DE FIBRAS OCAS .....	52
<b>3.3.1. Variáveis de síntese e condições de fiação</b> .....	<b>53</b>
3.4. IMOBILIZAÇÃO DE HEPARINA NA SUPERFÍCIE DAS MEMBRANAS... 54	
<b>3.4.1. Quantificação da heparina imobilizada</b> .....	<b>55</b>
3.5. TESTES DE CARACTERIZAÇÃO .....	56
<b>3.5.1. Análise morfológica</b> .....	<b>56</b>
<b>3.5.2. Propriedades de transporte</b> .....	<b>57</b>
3.5.2.1. Membranas planas .....	57
3.5.2.2. Fibras ocas .....	62
<b>3.5.3. Caracterização das superfícies</b> .....	<b>64</b>

3.5.3.1. Análise de espectroscopia de infravermelho (FT-IR).....	64
3.5.3.2. Ângulo de contato.....	65
3.5.3.3. Testes de adsorção de proteína.....	67
3.5.3.4 Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA).....	68
3.5.3.5. Adesão de plaquetas.....	69
3.5.3.6. Teste de hemólise sanguínea.....	70
<b>CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>72</b>
4.1. ANÁLISE MORFOLÓGICA.....	72
<b>4.1.1. Membranas Planas.....</b>	<b>72</b>
<b>4.1.2. Fibras ocas.....</b>	<b>76</b>
4.2. PROPRIEDADES DE TRANSPORTE.....	79
<b>4.2.1. Membranas Planas.....</b>	<b>79</b>
4.2.1.1. Permeabilidade hidráulica.....	80
4.2.1.2. Permeabilidade difusiva dos solutos.....	81
4.2.1.3. Coeficiente de rejeição aos solutos.....	84
<b>4.2.2. Fibras ocas.....</b>	<b>85</b>
4.2.2.1. Permeabilidade hidráulica.....	85
4.2.2.2. Rejeição a solutos.....	87
4.3. IMOBILIZAÇÃO DE HEPARINA.....	89
4.4. CARACTERIZAÇÃO DAS SUPERFÍCIES.....	93
<b>4.4.1. Espectroscopia por infravermelho (FT-IR).....</b>	<b>93</b>
<b>4.4.2. Ângulo de contato.....</b>	<b>95</b>
<b>4.4.3. Adsorção de proteínas (albumina).....</b>	<b>98</b>
<b>4.4.4. Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA).....</b>	<b>100</b>
<b>4.4.5. Adesão de plaquetas.....</b>	<b>102</b>
<b>4.4.6. Teste de hemólise sanguínea.....</b>	<b>104</b>
4.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	105
<b>CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS</b>	
<b>FUTUROS.....</b>	<b>107</b>
5.1. CONCLUSÕES.....	107
5.2. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	108
<b>CAPÍTULO 6 - BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>110</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>122</b>
<b>A1. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE SÍNTESE DAS FIBRAS OCAS.....</b>	<b>122</b>

A2. CURVAS DE CALIBRAÇÃO UTILIZADAS NAS CARACTERIZAÇÕES DAS MEMBRANAS PLANAS E FIBRAS OCAS .....	123
<b>A2.1. Curva de calibração da ureia .....</b>	<b>123</b>
<b>A2.2. Curva de calibração da creatinina.....</b>	<b>124</b>
<b>A2.3. Curva de calibração do fosfato .....</b>	<b>125</b>
<b>A2.4. Curva de calibração da vitamina B12 .....</b>	<b>125</b>
<b>A2.5. Curva de calibração da lisozima .....</b>	<b>126</b>
<b>A2.6. Curva de calibração da albumina.....</b>	<b>126</b>
<b>A2.7. Curva de calibração da heparina.....</b>	<b>127</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1:</b> Sistema urinário. Fonte: EATON e POOLER (2005). .....	1
<b>Figura 1.2:</b> Esquema da diálise peritoneal. ....	2
<b>Figura 1.3:</b> Esquema do tratamento de hemodiálise. Fonte: Adaptado de HÖRL <i>et al</i> (2004). ....	3
<b>Figura 1.4:</b> Máquina de hemodiálise. Fonte: MILLER (2006). ....	3
<b>Figura 1.5:</b> Desenvolvimento das doenças renais crônicas (DRC) e da diálise, de 2000 a 2012. Taxas de paciente por milhão de habitantes. Fonte: Adaptado de MARKET SURVEY (2013). ....	4
<b>Figura 1.6:</b> Distribuição dos tratamentos de diálise em pacientes renais crônicos. Fonte: Adaptado de MARKET SURVEY (2013). ....	6
<b>Figura 1.7:</b> Taxa de mortalidade por modalidade de pacientes com doenças renais crônicas, de 1980 a 2004: (A) Todos; (B) Hemodiálise; (C) Diálise Peritoneal; (D) Transplante. Fonte: Adaptado de COLLINS <i>et al</i> (2009). ....	7
<b>Figura 1.8:</b> Taxa de mortalidade bruta em pacientes de hemodiálise, no Brasil, entre os anos de 2008 a 2011. Fonte: SESSO <i>et al</i> (2012). ....	8
<b>Figura 2.1:</b> Máquina de vividifusão de Abel e colegas, em 1913. Fonte: ABEL <i>et al</i> (1913). ....	13
<b>Figura 2.2:</b> Dialisador desenvolvido por Kolff. Fonte: KOLFF <i>et al</i> (1944). ....	15
<b>Figura 2.3:</b> Rim de Kolff-Brigham, versão modificada do tambor rotatório original de Kolff. Fonte: TURNER (2011). ....	15
<b>Figura 2.4:</b> Dialisador de fibra oca desenvolvido por Richard Stewart. Fonte: HOME DIALYSIS CENTRAL (2013). ....	17
<b>Figura 2.5:</b> Esquema de um néfron, unidade funcional do rim. Fonte: Adaptado de BAKER (2004). ....	19
<b>Figura 2.6:</b> Fluxo de soluto em um sistema de diálise. ....	22
<b>Figura 2.7:</b> <i>Clearance</i> em função da massa molar do soluto. Fonte: Adaptado de BAKER (2004). ....	24
<b>Figura 2.8:</b> Desenvolvimento do material das membranas de diálise e do tipo de dialisador. Fonte: Adaptado de MARKET SURVEY (2013). ....	25
<b>Figura 2.9:</b> Estrutura simétrica de uma fibra de celulose. Fonte: NATIONAL KIDNEY FOUNDATION (2013). ....	26

<b>Figura 2.10:</b> Estrutura assimétrica de uma membrana de polisulfona. Fonte: NATIONAL KIDNEY FOUNDATION (2013). .....	27
<b>Figura 2.11:</b> Diagrama de fases ternário utilizado para descrever o processo de formação de membranas pela técnica de inversão de fases. Fonte: BAKER (2012). ....	29
<b>Figura 2.12:</b> Forma das fibras (a) Ondulada (b) Reta. Fonte: NATIONAL KIDNEY FOUNDATION (2013). .....	31
<b>Figura 2.13:</b> Esquema e consequência do tipo de corte do feixe de fibras em hemodialisadores (a) Superfície plana e lisa (b) Superfície rugosa. Fonte: NATIONAL KIDNEY FOUNDATION (2013). .....	32
<b>Figura 2.14:</b> Caminho de ativação do sangue em contato com um material. Fonte: Adaptado de HOENICH (2004) .....	36
<b>Figura 2.15:</b> Principais formas de ligação da heparina para modificação de superfícies. Fonte: Adaptado de MURUGESAN <i>et al</i> (2008). .....	40
<b>Figura 2.16:</b> Esquema para heparinização de membranas de polisulfona utilizando APGD, no trabalho de Li <i>et al</i> (2011). Adaptado. ....	41
<b>Figura 3.1:</b> Fórmula estrutural da poli(éter imida). .....	49
<b>Figura 3.2:</b> Fórmula estrutural do n-metil-2-pirrolidona. ....	49
<b>Figura 3.3:</b> Estrutura química do poli(vinil pirrolidona). .....	50
<b>Figura 3.4:</b> Etapas da síntese de membranas planas por espalhamento. (a) Solução polimérica sendo vertida na placa de vidro; (b) Espalhamento com faca de espessura controlada; (c) Exposição ao ar ambiente; (d) Imersão no banho de precipitação. ....	51
<b>Figura 3.5:</b> Representação esquemática do processo de fiação por extrusão simples... 53	53
<b>Figura 3.6:</b> Célula de permeação utilizada na medição da permeabilidade hidráulica das membranas planas. ....	57
<b>Figura 3.7:</b> Esquema do sistema empregado para compactação e determinação da permeabilidade hidráulica e rejeição aos solutos das membranas planas. ....	58
<b>Figura 3.8:</b> Esquema do sistema para testes de diálise. ....	59
<b>Figura 3.9:</b> Detalhes do módulo de permeação confeccionados para medição das propriedades de transporte das fibras ocas: (a) Entrada da alimentação (b) Reciclo da alimentação (c) Saída de permeado. ....	62
<b>Figura 3.10:</b> Detalhe da seção transversal cortada, mostrando as fibras ocas fixadas pela resina epóxi do tipo Araldite®. ....	62
<b>Figura 3.11:</b> Sistema de permeação para análise das propriedades de transporte das fibras ocas. ....	63

<b>Figura 3.12:</b> Esquema do sistema utilizado para determinação da permeabilidade hidráulica e rejeição a solutos das fibras ocas. ....	63
<b>Figura 3.13:</b> Ângulo de contato: gota séssil. Fonte: SOBCZAK (2005) citado por PEREIRA (2012). ....	66
<b>Figura 3.14:</b> Goniômetro OCA 15 EC, da <i>Dataphysics</i> . ....	67
<b>Figura 3.15:</b> Coagulômetro BF II, <i>Dade Behring</i> . ....	69
<b>Figura 3.16:</b> Representação esquemática do teste de hemólise (I) Referência positiva (água) (II) Referência negativa (NaCl 0,9%) (III) Solução NaCl 0,9% + amostra membrana antes da funcionalização (IV) Solução NaCl 0,9% + amostra membrana após a funcionalização (V) Solução NaCl 0,9% + amostra membrana clínica de polisulfona. ....	71
<b>Figura 4.1:</b> Fotomicrografias das membranas planas sintetizadas a partir da solução PEI/PVP/NMP (15/10/75% <i>m/m</i> ) em diferentes tempos de exposição, (a) 0 s; (b) 1 min; (c) 10 min e (d) 30 min. ....	73
<b>Figura 4.2:</b> Fotomicrografias das membranas planas sintetizadas a partir de soluções poliméricas com diferentes concentrações em relação ao aditivo PVP. ....	75
<b>Figura 4.3:</b> Fotomicrografias das membranas do tipo fibras ocas em diferentes condições de síntese: (a) F1505; (b) F1510; (c) F1210A; (d) F1210AN. ....	77
<b>Figura 4.4:</b> Fotomicrografias da membrana clínica de poli(éter sulfona). ....	79
<b>Figura 4.5:</b> Correlação entre a permeabilidade difusiva e a massa molar dos solutos, para a membrana sintetizada com 5% de PVP. ....	83
<b>Figura 4.6:</b> Correlação entre a permeabilidade difusiva e a raiz quadrada do inverso da massa molar ( $MM^{-1/2}$ ), em dáltons (Da), para a membrana sintetizada com 5% de PVP. ....	83
<b>Figura 4.7:</b> Rejeição das fibras aos solutos de menor massa molar, a 26°C. ....	87
<b>Figura 4.8:</b> Rejeição aos solutos de média e alta massa molar, a 26°C. ....	88
<b>Figura 4.9:</b> Isoterma de adsorção da reação de imobilização de heparina em PEI a 4°C. ....	90
<b>Figura 4.10:</b> Esquema da reação da poli(éter imida) com poliaminas. Fonte: ALBRECHT <i>et al</i> (2006). ....	92
<b>Figura 4.11:</b> Modelo de superfície com imobilização de heparina. Fonte: Adaptado de ZHANG (2011). ....	93

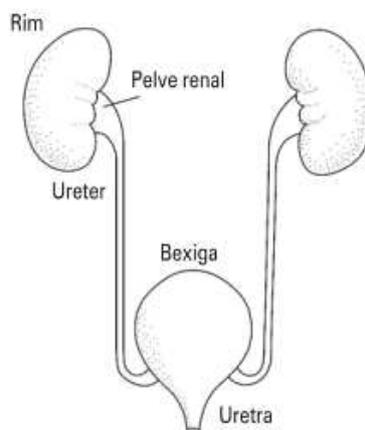
<b>Figura 4.12:</b> Comparação entre os espectros realizados nas amostras de membranas antes e após a funcionalização com heparina. ....	94
<b>Figura 4.13:</b> Gota em contato com as superfícies das membranas: (a) Sem modificação (b) Ativada com grupos imina (c) Com heparina imobilizada. ....	96
<b>Figura 4.14:</b> Estrutura da polietilenoimina.....	96
<b>Figura 4.15:</b> Estrutura da heparina. ....	97
<b>Figura 4.16:</b> Isotermas de adsorção de albumina a 30°C. ....	98
<b>Figura 4.17:</b> Percentual de albumina adsorvido nas membranas. ....	99
<b>Figura 4.18:</b> Esquema da ação anticoagulante da heparina. Fonte: GAMBRO – EVODIAL®. ....	101
<b>Figura 4.19:</b> Fotomicrografias da adesão de plaquetas na superfície de amostras da membranas (a) Membrana de PEI antes da funcionalização (b) Membrana clínica de polisulfona (c) Membrana de PEI após a imobilização de heparina. ....	103
Figura 4.20: Esquema dos eventos iniciais para formação de trombo e coagulação....	104

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.1:</b> Distribuição de pacientes de diálise no mundo em comparação com a população dos países. Adaptado de FRESENIUS MEDICAL CARE (2013). .....	5
<b>Tabela 2.1:</b> Principais componentes da solução de diálise e respectivas concentrações. Adaptado de DAUGIRDAS e ING (1996). .....	18
<b>Tabela 2.2:</b> Classificação e tamanho dos solutos importantes em hemodiálise. ....	34
<b>Tabela 3.1:</b> Condições experimentais analisadas na síntese de membranas planas. ....	52
<b>Tabela 3.2:</b> Condições experimentais referentes à síntese de fibras ocas. ....	54
<b>Tabela 3.3:</b> Concentração dos solutos para os testes de diálise e respectivas massas molares. ....	59
<b>Tabela 3.4:</b> Conteúdo químico dos kits para determinação dos solutos. ....	60
<b>Tabela 3.5:</b> Concentração dos solutos utilizados nos testes de ultrafiltração e suas respectivas massas molares. ....	61
<b>Tabela 4.1:</b> Nomenclatura dada para as fibras ocas sintetizadas e respectivas variáveis de síntese. ....	76
<b>Tabela 4.2:</b> Permeabilidades aos solutos de baixa massa molecular para as membranas sintetizadas a partir das soluções poliméricas compostas por 3 e 5% de PVP. ....	81
<b>Tabela 4.3:</b> Rejeição aos solutos de média e alta massa molar (26°C; 0,25 bar). ....	84
<b>Tabela 4.4:</b> Permeabilidades hidráulicas das fibras ocas sintetizadas e de fibras comerciais de hemodiálise para comparação, a 26°C. ....	86
<b>Tabela 4.5:</b> Imobilização de heparina na superfície das membranas. ....	90
<b>Tabela 4.6:</b> Ângulo de contato das membranas de PEI. ....	95
<b>Tabela 4.7:</b> Resultados de TTPA. ....	100
<b>Tabela 4.8:</b> Valores de absorvância para verificação da ocorrência de hemólise. ....	105

# CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

As doenças renais crônicas são reconhecidamente um grave problema de saúde pública global (SANTOS, 2012; RODRIGUES, 2011; BASTOS *et al*, 2010). A deficiência renal crônica é definida como a ocorrência de alguma anormalidade do rim, como o decréscimo da função renal durante três meses ou mais. Os rins são órgãos de extrema importância no processo metabólico do corpo, sendo responsáveis por uma série de funções, como a regulação do equilíbrio hídrico e eletrolítico, a excreção de restos metabólicos, a regulação da pressão sanguínea arterial e da produção de células vermelhas do sangue, a excreção de substâncias bioativas que afetam a função do corpo (hormônios e muitas substâncias estranhas, como os fármacos em especial), e a regulação da produção de vitamina D (EATON e POOLER, 2005). No corpo humano, cada um dos dois rins (Figura 1.1) tem um comprimento de cerca de 11 cm e pesa cerca de 160 g, em adultos.

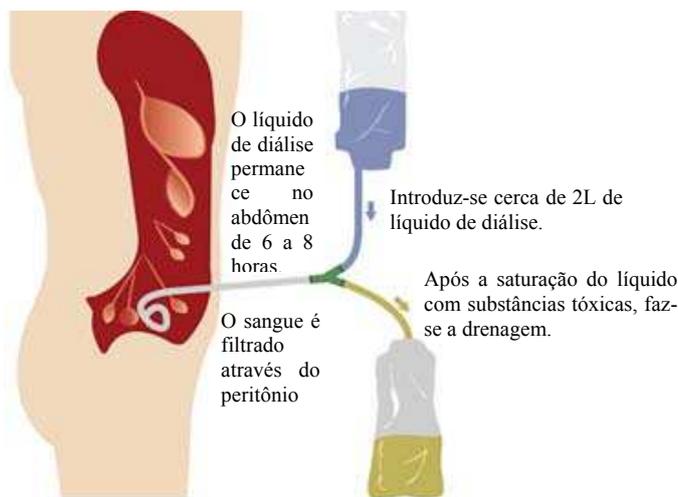


**Figura 1.1:** Sistema urinário. Fonte: EATON e POOLER (2005).

As principais formas de tratamento aplicadas aos doentes renais são a hemodiálise, a diálise peritoneal ou o transplante renal. A implantação de um rim de um doador saudável é a melhor opção, porém não há doadores suficientes, além de muitas vezes existirem razões médicas e pessoais que impedem o transplante. Assim, faz-se uso dos “rins artificiais”, ou seja, da diálise.

A diálise peritoneal baseia-se na infusão e drenagem de uma solução estéril na cavidade peritoneal, através de um cateter intra-abdominal. O peritônio, uma membrana

biológica, permite a troca de solutos por difusão, pois estabelece a interface entre o sangue do paciente e a solução estéril (dialisato), havendo perda de líquidos por ultrafiltração osmótica, devido à adição, na solução de diálise, de um agente osmoticamente ativo, o qual é geralmente a glicose (LOPES, 2007). A Figura 1.2 apresenta um esquema demonstrativo do processo.

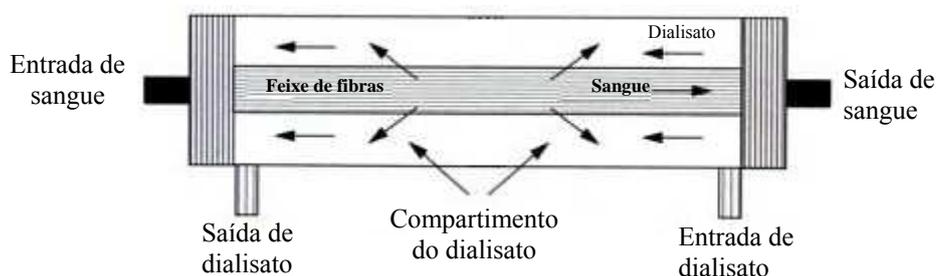


**Figura 1.2:** Esquema da diálise peritoneal.

A diálise peritoneal não é apropriada para pessoas com obesidade mórbida ou com múltiplas cirurgias abdominais, pois o abdômen dessas pessoas torna o tratamento difícil ou impossível. Além disso, os pacientes devem receber treinamento para tornarem-se aptos para executar o tratamento corretamente (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2014).

A hemodiálise utiliza uma máquina de diálise e um filtro especial, chamado dialisador, para filtrar o sangue. Durante o processo, o sangue do paciente é bombeado para fora do corpo, através de um acesso vascular (que pode ser através de cateteres ou fístulas arteriovenosas), passa através desse filtro e é, em seguida, reintroduzido no paciente. O dialisador acomoda membranas sintéticas seletivas que permitem a passagem dos produtos residuais metabólicos da corrente sanguínea do paciente para a solução de diálise, garantindo simultaneamente a conservação de componentes vitais, como as proteínas do sangue. Excesso de água também pode ser removido. A vazão de sangue é controlada pelo acesso vascular e não pela bomba de sangue, empregando-se, frequentemente, um medidor da pressão arterial para monitorar a capacidade do acesso

vascular (OFSTHUN *et al*, 2008). A Figura 1.3(a) um esquema dos fluxos em um dialisador, no tratamento por hemodiálise.



**Figura 1.3:** Fluxos em um dialisador. Fonte: Adaptado de HÖRL *et al* (2004).

Uma máquina de diálise (Figura 1.4) equipada com uma bomba de sangue e com sistemas de monitoramento que garantem a segurança do tratamento controla o processo, sendo possível a administração de drogas como a heparina, utilizada para evitar a coagulação do sangue no sistema extracorpóreo. Em geral, a hemodiálise é realizada três vezes por semana para cada paciente, nos centros de diálise, durando cerca de quatro horas cada sessão. O tratamento também pode ser realizado em casa, neste caso sendo mais frequente, de quatro a sete vezes na semana, por períodos de tempo mais curtos. A hemodiálise é contraindicada nos casos de doença de Alzheimer, demência multiinfarto, síndrome hepatorenal, cirrose avançada e doenças malignas avançadas (DAUGIRDAS e ING, 1996).

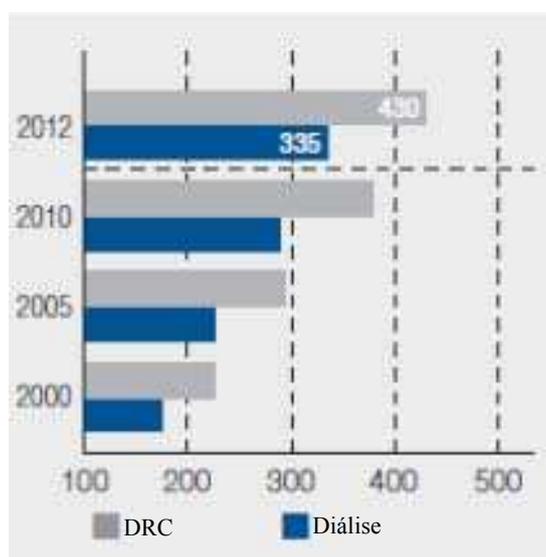


**Figura 1.4:** Máquina de hemodiálise. Fonte: MILLER (2006).

O número estimado de pacientes tratados por doenças renais crônicas no mundo, no final de 2012, era de cerca de 3 milhões, com uma taxa de crescimento aproximada

de 7%, verificando-se que seu aumento continua sendo significativamente maior que o crescimento populacional (1,1%). Destes pacientes, 2.358.000 encontram-se em tratamento dialítico (hemodiálise ou diálise peritoneal), enquanto 652.000 vivem com rim transplantado.

Na população em geral, a taxa de prevalência dos pacientes em estágio crônico tratados por diálise varia de 100 até mais de 2.000 pacientes por milhão de habitantes. A Figura 1.5 apresenta a prevalência da população em tratamento dialítico e o desenvolvimento global das doenças renais crônicas (DRC) (valores em pacientes por milhão de habitantes), de 2000 até 2012, observando-se uma média global de pacientes renais crônicos (430) muito menor que a existente em diversos países economicamente mais ricos (Taiwan, 2.990; Japão, 2.590; Estados Unidos, 2.020). Isto sugere que o acesso ao tratamento ainda é limitado e um número grande de pacientes com insuficiência renal não recebe tratamento. Em contrapartida, o aumento global da prevalência indica o aumento do número de pessoas necessitando de cuidados para doenças renais crônicas, bem como uma melhoria gradual do acesso ao tratamento (MARKET SURVEY, 2013).



**Figura 1.5:** Desenvolvimento das doenças renais crônicas (DRC) e da diálise, de 2000 a 2012. Taxas de paciente por milhão de habitantes. Fonte: Adaptado de MARKET SURVEY (2013).

Mais de 50% da população global em tratamento de diálise é distribuída em apenas cinco países: Estados Unidos (EUA), Japão, China, Brasil e Alemanha. Na Tabela 1.1, apresenta-se a distribuição de pacientes de diálise, comparando-se com a população geral de cada país. Verificam-se diferentes valores de prevalência de pacientes, em pacientes por milhão de população (p.p.m.), nos países com maior prevalência dialítica, indicando ampla variedade de situações em relação às práticas no tratamento.

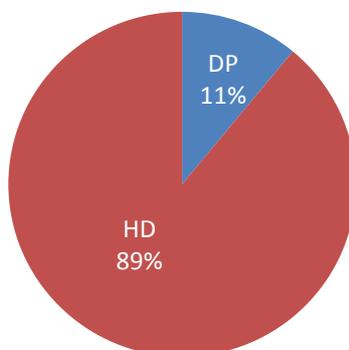
**Tabela 1.1:** Distribuição de pacientes de diálise no mundo em comparação com a população dos países. Adaptado de MARKET SURVEY (2013).

<b>País</b>	<b>População (milhões)</b>	<b>%População mundial</b>	<b>Pacientes de diálise (milhares)</b>	<b>%Pacientes de diálise total</b>	<b>Prevalência diálise (p.p.m*)</b>
<b>Estados Unidos</b>	315	4	436	19	1.380
<b>Japão</b>	126	2	312	13	2.475
<b>China</b>	1.346	19	289	12	215
<b>Brasil</b>	200	3	110	5	550
<b>Alemanha</b>	81	1	85	4	1.040
<b>Outros (países classif. de 6° a 15°)</b>	1.785	25	528	22	295
<b>Outros (16° a 150°)</b>	3.013	43	598	25	200
<b>Outros (151° a 232°)</b>	182	3			
<b>Global</b>	<b>7.048</b>		<b>2.358</b>		<b>335</b>

\*Paciente por milhão de habitante.

A hemodiálise (HD) continua a ser a escolha preferencial de tratamento dos pacientes, em comparação com a diálise peritoneal (DP), conforme mostra a Figura 1.6.

Entre os quinze países com maior tratamento dialítico<sup>1</sup>, apenas o México possui maior quantidade de tratamento por diálise peritoneal; no Japão, na Alemanha e no Egito a quantidade de tratamentos por hemodiálise é superior à média global.



Total: 2.358.000

**Figura 1.6:** Distribuição dos tratamentos de diálise em pacientes renais crônicos. Fonte: Adaptado de MARKET SURVEY (2013).

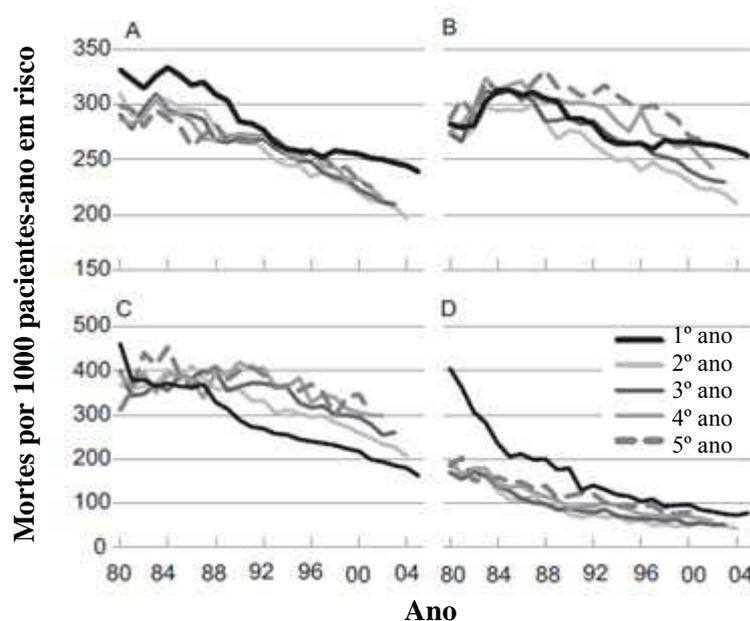
De acordo com o especialista Rajnish Mehrotra, em *Renal and Urology News* (YARD, 2009), a disparidade observada entre a quantidade de pacientes em tratamento por hemodiálise e por diálise peritoneal pode ter diversas causas. Primeiro, ele cita o fato de que faltavam profissionais com conhecimento adequado para treinar os pacientes para realizarem a diálise em casa. Adicionalmente, muitas indústrias assumiram que os resultados obtidos com a diálise peritoneal eram inferiores aos resultados da hemodiálise, embora a satisfação dos pacientes e as pesquisas de saúde tenham mostrado o contrário. Finalizando, Mehrotra diz que não foi oferecida infraestrutura adequada para o tratamento ser realizado sem maiores problemas, além de considerar o lado financeiro, pois o tratamento por hemodiálise é mais lucrativo para a indústria da saúde.

---

<sup>1</sup>Os quinze países com maior população em diálise são: Estados Unidos, Japão, China, Brasil, Alemanha, México, Índia, Taiwan, Turquia, Coreia, Itália, Tailândia, França, Egito e Malásia.

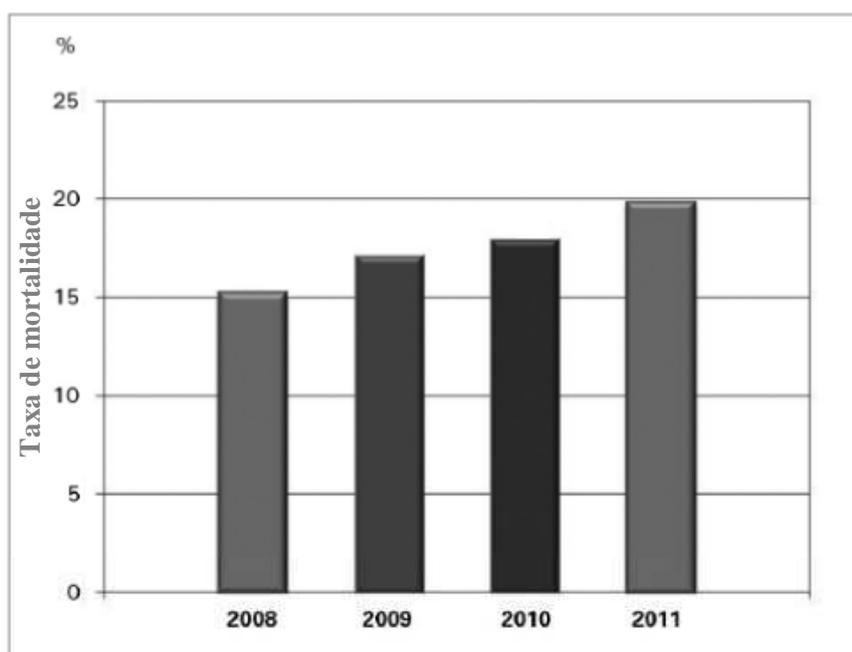
A maioria dos pacientes realiza o tratamento nos centros de diálise, sendo registrados 33.600 centros ao redor do mundo, dando uma média de 63 pacientes por centro. No Brasil, conforme observado na Tabela 1.1, o número de pacientes em tratamento dialítico é 110.000, com taxa de prevalência de 550 pacientes por milhão de população. Segundo o Censo de Diálise de 2012, da Sociedade Brasileira de Nefrologia (2013), existem 696 centros de diálise no país, resultando uma média de 158 pacientes por centro, muito superior ao valor mundial (63 pacientes por centro). Em geral, a fonte pagadora do tratamento é o Sistema Único de Saúde (SUS), responsável por 84% dos tratamentos, com um custo publicado anual de cerca de 2 bilhões de reais, em 2012, segundo dados do Relatório de Gestão da Secretaria de Atenção à Saúde (2013).

A taxa de mortalidade de pacientes tratados com hemodiálise é um problema a ser levado em consideração, principalmente no primeiro ano de tratamento, conforme apresentado na Figura 1.7 (B). Entre 2 e 5 anos de tratamento, as taxas de mortalidade vêm apresentando uma queda desde a metade dos anos 80. Porém, verifica-se um número ainda elevado da taxa de mortalidade, chegando a aproximadamente 260 óbitos para cada 1.000 pacientes-ano (em risco), em tratamentos de longa duração.



**Figura 1.7:** Taxa de mortalidade por modalidade de pacientes com doenças renais crônicas, de 1980 a 2004: (A) Todos; (B) Hemodiálise; (C) Diálise Peritoneal; (D) Transplante. Fonte: Adaptado de COLLINS *et al* (2009).

No Brasil, o número estimado de óbitos em pacientes de hemodiálise, em 2011, foi de 18.187, correspondendo a uma taxa de mortalidade bruta de 19,9% durante o ano (considerando pacientes em risco, a taxa cai para 15,5%), segundo dados do Censo Brasileiro de Diálise de 2011. A Figura 1.8 apresenta a taxa de mortalidade de pacientes em hemodiálise, no Brasil, ao longo dos anos, de 2008 a 2011, verificando-se um aumento consistente ao longo dos anos. Segundo *SESSO et al (2012)*, algumas hipóteses que justificam esse aumento são as dificuldades relacionadas ao sistema público de saúde, o não atingimento de metas de qualidade de ofertas de tratamento, pior perfil prognóstico dos pacientes, como co-morbidades, manejo pré-dialítico, idade, entre outros fatores. Entretanto, estudos mais criteriosos devem ser realizados para que se faça uma análise mais completa sobre a taxa de mortalidade.



**Figura 1.8:** Taxa de mortalidade bruta em pacientes de hemodiálise, no Brasil, entre os anos de 2008 a 2011. Fonte: *SESSO et al (2012)*.

Em geral, a principal causa de morte em pacientes de diálise são os eventos cardíacos, devido à alta incidência de doença coronária aterosclerótica. Mesmo que as lesões coronárias sejam adquiridas na fase pré-dialítica, fatores relacionados aos procedimentos de diálise, cedo ou tarde, acabam por influenciar a aterogênese (formação de placas de gordura – ateroma - na superfície interna das paredes arteriais).

A segunda maior causa de morte são as infecções, devido à menor resposta imunológica causada por caminhos pró-inflamatórios ativados (HOENICH, 2004).

Assim, apesar de ser um tratamento consolidado, a hemodiálise ainda apresenta importantes limitações a serem ultrapassadas, podendo citar-se a baixa remoção de moléculas de tamanho médio ( $\beta$ 2-microglobulina, por exemplo) e a ocorrência de respostas imunológicas, devido à baixa biocompatibilidade das membranas utilizadas no processo. Adicionalmente, para evitar a coagulação do sangue no circuito extracorpóreo, adiciona-se heparina à corrente sanguínea do paciente; porém, várias reações adversas são relacionadas ao uso dessa substância, como hemorragias, osteoporose, reações cutâneas, alterações de função hepática, entre outras (LONGHI, 2001).

A fim de melhorar os resultados da hemodiálise, o desenvolvimento das membranas utilizadas no processo tem sido alvo contínuo de grande interesse. Mudanças na composição, estrutura e transporte podem aperfeiçoar as membranas em relação à remoção dos solutos urêmicos, com o balanço desejável entre a rejeição de moléculas de tamanho médio e a perda de importantes proteínas do sangue. Por sua vez, a biocompatibilidade também é alvo de estudo, pois sabe-se que o uso de membranas de baixa biocompatibilidade apresenta como reações adversas os fenômenos de coagulação, devido à ocorrência de adsorção de proteína, que provoca a ativação de enzimas de diferentes sistemas; a agregação e adesão de plaquetas, induzindo à sua ativação e degranulação; a ativação da via alternativa do complemento, com ativação de neutrófilos e monócitos (que fazem parte do sistema imunológico do organismo), havendo a disfunção dessas células, o que potencialmente inibe o combate a infecções, resultando em maior incidência, pior evolução e maior mortalidade em pacientes hemodialisados (NETO e SANTOS, 1996).

Como será descrito mais adiante, a literatura científica registra desafios no processo de hemodiálise e o desenvolvimento de uma membrana melhor de hemodiálise poderia suscitar a sua produção no Brasil, resultando no barateamento de custos gerais do SUS e na possibilidade de mais atendimento aos que não têm acesso ao tratamento atualmente. Esta carência tem levado a um esforço nacional de estímulo às pesquisas e inovação no setor de saúde, como é o caso do Programa INOVA SAÚDE, lançado em

abril de 2013, que objetiva criar condições de fomento e financiamento a projetos cujos resultados possam contribuir para a diminuição da dependência tecnológica do país em relação ao fornecimento de importantes insumos utilizados no campo da saúde humana.

Esta dissertação foi realizada no Laboratório de Processos com Membranas (PAM), o qual realiza estudos sobre síntese de membranas para processos de separação desde a segunda metade da década de 70. Além da síntese e caracterização de membranas planas e do tipo fibra oca (CUNHA, 2013; MERMIER, 2012; OLIVEIRA, 2012; SILVA, 2011), o laboratório possui projetos de pesquisa aplicados a determinados processos, como pervaporação para remoção de contaminantes orgânicos voláteis, dessalinização de águas e tratamento de efluentes, fracionamento de misturas gasosas, entre outros. Entre estas linhas de pesquisa, está o desenvolvimento de membranas para hemodiálise. O primeiro trabalho na área foi de LOGAREZZI (1984), que testou a permeabilidade difusiva de membranas de acetato de celulose utilizando um sistema de diálise contínua. Em seguida, SANTOS (1988) estudou o mecanismo de formação de membranas de acetato de celulose, bem como a influência dos parâmetros de síntese na estrutura e nas propriedades de transporte das membranas. SILVA (1991) estudou o efeito das condições hidrodinâmicas do escoamento na taxa de transferência de massa dos solutos através de uma membrana de acetato de celulose, a fim de minimizar o tempo de diálise a que um paciente é submetido.

Dando continuidade a esta linha de trabalho, este projeto de pesquisa para o mestrado visa ao desenvolvimento e à caracterização de membranas de hemodiálise de poli(éter imida) de desempenho melhor que as membranas de uso clínico atual, e mais biocompatíveis pela modificação de suas superfícies através da imobilização de heparina. A caracterização das membranas inclui a análise morfológica e a medição das propriedades de transporte, bem como a identificação da heparina imobilizada em sua superfície. Os objetivos específicos são:

- Obter membranas (plana e fibra oca) de PEI com rejeição a solutos-padrão comparáveis com as membranas utilizadas clinicamente.
- Imobilizar e quantificar heparina na superfície das membranas.
- Evidenciar o poder de anticoagulação das membranas funcionalizadas por heparina.

O texto desta dissertação foi organizado em cinco capítulos, conforme descrito a seguir.

Este Capítulo inicial apresentou uma introdução geral sobre o assunto, incluindo o panorama das doenças renais crônicas e seu tratamento, situando a necessidade de melhorias no processo a fim de aumentar a qualidade de vida dos pacientes tratados. Também foram apresentados os objetivos pretendidos com a realização desta pesquisa de mestrado.

No Capítulo 2 (Revisão Bibliográfica), foram abordados os conceitos fundamentais envolvidos no processo de hemodiálise, realizando-se uma descrição das membranas utilizadas neste tratamento e trabalhos recentes na área. Além disso, o capítulo descreve métodos de modificação de superfícies visando ao aumento da biocompatibilidade, bem como apresenta os principais trabalhos publicados sobre membranas de poli(éter imida) (PEI) na área médica.

O Capítulo 3 (Metodologia Experimental) expõe a descrição dos materiais, e a metodologia empregada para a síntese e modificação de membranas de PEI, bem como as técnicas de caracterização empregadas.

No Capítulo 4 (Resultados e Discussões), são apresentados e discutidos os principais resultados obtidos, mostrando a viabilidade da obtenção de membranas de PEI comparáveis com as membranas de hemodiálise de uso clínico, bem como a eficiência da imobilização da heparina em sua superfície.

No Capítulo 5 (Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros), apresentam-se as principais conclusões obtidas e as sugestões a serem implementadas em novos trabalhos.

O Capítulo 6 apresenta as referências bibliográficas utilizadas nesta dissertação.

Nos Anexos, são apresentadas as condições experimentais utilizadas na síntese de fibras ocas e as curvas de calibração utilizadas no trabalho.

# CAPÍTULO 2 – FUNDAMENTOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

*Neste capítulo, serão apresentados os principais conceitos, teorias e informações relevantes acerca da hemodiálise, incluindo um breve histórico do processo. Será realizada uma descrição das membranas utilizadas em hemodiálise, principais características e trabalhos recentes na área. Também serão apresentados trabalhos que abordam a modificação da superfície de membranas, bem como a utilização de membranas de poli(éter imida) na área médica.*

## 2.1. BREVE HISTÓRICO DA HEMODIÁLISE

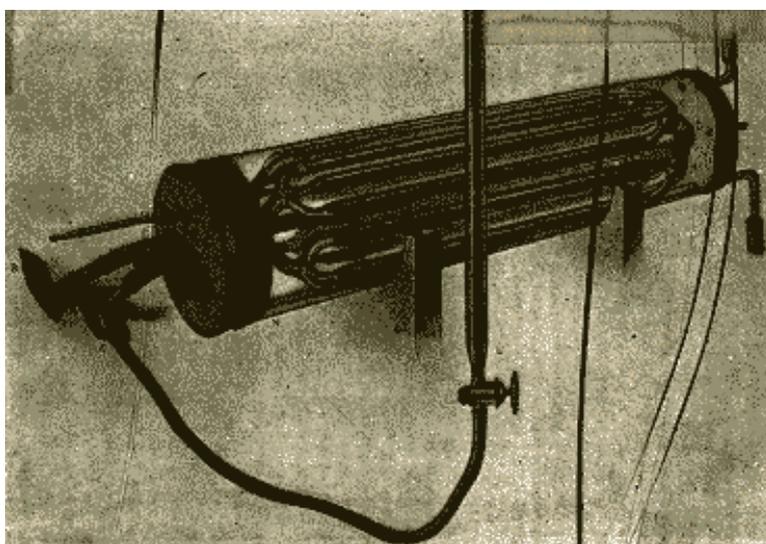
O entendimento da função renal começou a progredir a partir do final do século 18, após a descoberta do oxigênio, nitrogênio, hidrogênio, enxofre, fósforo, amônia, e do estabelecimento da nomenclatura química. Em seguida, determinou-se que a ureia é um dos principais constituintes da urina, sendo a primeira sugestão de que ela seria uma toxina, o que foi confirmado por Willem Johann Kolff, em 1965, quando mostrou um caso de insuficiência renal tratado com um dialisador, no qual, em um tratamento de 14 horas, foram retirados em torno de 263 g de ureia (TWARDOWSKI, 2008).

Os princípios fundamentais do tratamento para insuficiências renais foram desenvolvidos por Thomas Graham e por Adolf Eugen Fick, que descobriram os processos de diálise e difusão, respectivamente.

No caso da anticoagulação, a primeira noção que se tem sobre o assunto vem dos egípcios, em 1500 a. C., que utilizavam sanguessugas para retardar o processo de coagulação por alguns dias. Este conhecimento foi utilizado na medicina por muitos anos, tendo seu auge no final do século 18 e início do século 19. Em 1883, John B. Haycraft notou a atividade antitrombogênica da saliva das sanguessugas e, posteriormente o componente presente na saliva foi isolado por Bondong e C Jacobj, os quais deram o nome de hirudina (TWARDOWSKI, 2008).

Assim, no início do século 20, sabia-se que os rins eram responsáveis pela eliminação de substâncias de alta toxicidade, as quais eram acumuladas no organismo em caso de insuficiência renal; que estas substâncias poderiam ser removidas pelo processo de diálise, utilizando uma membrana semipermeável; e que a coagulação sanguínea poderia ser evitada com o uso de hirudina (TWARDOWSKI, 2008).

A primeira descrição histórica do uso do processo de diálise foi publicada em 1913, quando John J. Abel e colegas submeteram o sangue de um animal a uma diálise extracorpórea, retornando-o à circulação após o procedimento, sem prejuízo ao animal. Em seu experimento, o sangue passava através de tubos de celoidina contidos em um cilindro de vidro preenchido com uma solução de troca salina, conforme apresentado na Figura 2.1, utilizando a hirudina como anticoagulante. Os autores afirmaram que o aparato poderia ser utilizado em seres humanos sofrendo de algum estágio de toxicidade, principalmente se causado por insuficiência renal. Apesar de nunca ter sido utilizado para tratar pacientes, este procedimento (conhecido como vividifusão) comprovou eficiente remoção de solutos e, assim, o tratamento de diálise atualmente continua a utilizar os principais elementos da Abel (MILLER, 2006).



**Figura 2.1:** Máquina de vividifusão de Abel e colegas, em 1913. Fonte: ABEL *et al* (1913)

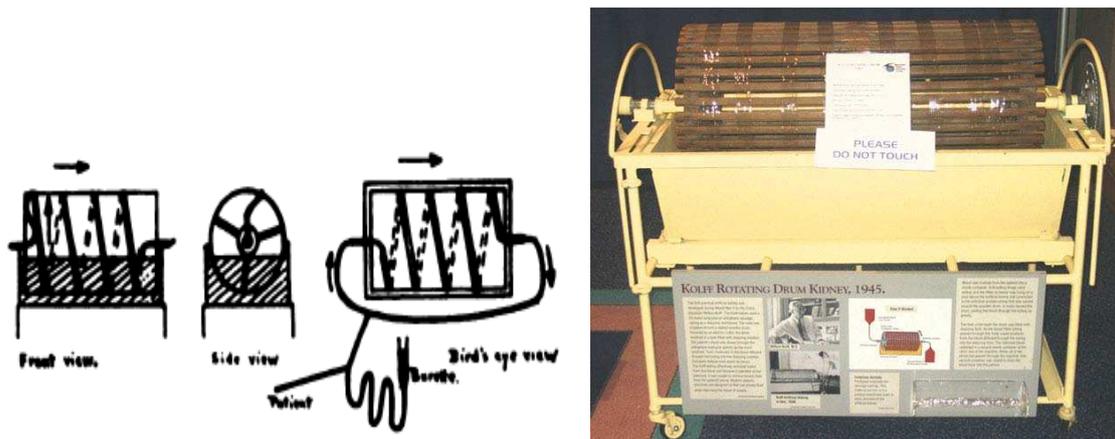
A primeira sessão de diálise em seres humanos foi realizada em 1924, quando o cientista alemão Georg Haas submeteu um paciente com uremia terminal (pois esta era

a condição em que os médicos consideravam-se impotentes) a uma sessão de diálise de quinze minutos, que ocorreu sem complicações (MILLER, 2006).

Apesar de sua característica como anticoagulante, a hirudina levava a complicações no procedimento, como reações alérgicas, pois a substância era insuficientemente purificada e originada em espécies muito distante dos humanos. Assim, em seu último experimento, Haas utilizou uma substância chamada heparina, o anticoagulante universal em mamíferos, primeiramente isolada do fígado de cachorros em 1916, pelo estudante de medicina americano Jay MacLean. A descoberta da heparina contribuiu significativamente para o sucesso da hemodiálise, pois causa menos complicações que a hirudina, mesmo que insuficientemente purificada, e pode ser produzida em grandes quantidades (TWARDOWSKI, 2008).

Um marco na história da hemodiálise foi o desenvolvimento de um dialisador, pelo Dr. Willen Johan Kolff, que utilizava cilindros de celofane, em cujo interior circulava o sangue, enrolados de forma helicoidal em torno de um tambor, que ficava girando mergulhado até metade de sua altura em um tanque banhado pela solução de troca (dialisato), de cerca de cem litros, e que era renovada sempre que saturava. Como os tubos membranosos passavam pelo banho, as toxinas urêmicas poderiam passar para este líquido de troca. A Figura 2.2 apresenta o esquema do procedimento, desenhado pelos autores do trabalho, e uma foto do dialisador utilizado (TWARDOWSKI, 2008).

O equipamento foi utilizado em 15 pacientes, sem sucesso, mas o décimo sexto, uma senhora de 67 anos com insuficiência renal aguda, recuperou-se após 11h de tratamento, tornando-se o primeiro maior avanço no tratamento de pacientes com doenças renais e provou a utilidade dos conceitos desenvolvidos por Abel e Haas (TURNER e FARRELL, 2009).



**Figura 2.2:** Dialisador desenvolvido por Kolff. Fonte: KOLFF *et al* (1944).

Após a Segunda Guerra Mundial, o tambor rotatório de Kolff chegou ao Hospital Peter Bent Brigham, em Boston, nos Estados Unidos, onde foi construída uma nova versão de rim artificial, chamada modelo Kolff-Brigham. A Figura 2.3 apresenta uma foto da utilização do novo modelo de Kolff-Brigham.



**Figura 2.3:** Rim de Kolff-Brigham, versão modificada do tambor rotatório original de Kolff. Fonte: TURNER (2011).

Além da função de filtrar as toxinas urêmicas, uma das principais funções do rim natural é a remoção do excesso de água do corpo. Com a falha do rim, essa função pode ser executada pelo rim artificial num procedimento chamado ultrafiltração, que força a água do plasma do paciente a passar através da membrana dialisadora utilizando pressão. Nesse sentido, em 1947, Nils Alwall produziu um dialisador com ultrafiltração

controlada, que consistia de um tubo de celofane enrolado em um tambor vertical rotatório, feito de uma tela de metal (MILLER, 2006).

Seguiram-se vários estudos no sentido de desenvolver dialisadores mais eficientes, surgindo, assim, o dialisador de placas paralelas, no qual o escoamento de dialisato e de sangue foram direcionados em contracorrente através de camadas de membranas planas. Nesse sentido, destaca-se o desenvolvimento do dialisador de Kiil, em 1960, do médico norueguês Fredrik Kiil, o qual foi utilizado clinicamente até o final dos anos 90.

Apesar dos grandes desenvolvimentos tecnológicos para o procedimento adequado no tratamento de pacientes urêmicos, o acesso ao sangue ainda era um fator limitante nos anos iniciais da diálise. Os principais avanços nessa área foram o desenvolvimento do “*shunt de Scribner*”, acesso relativamente simples ao sistema circulatório do paciente, que poderia permanecer no local por cerca de dois meses e, em seguida, da Fístula Arteriovenosa, a qual continua a ser atualmente a principal escolha para os pacientes de diálise.

O processo de hemodiálise estabeleceu-se como o principal tratamento para insuficiência renal crônica e as membranas, os dialisadores e as máquinas de diálise foram melhorados continuamente e produzidas industrialmente em um número sempre crescente. O americano Richard Stewart foi responsável por um importante desenvolvimento, em 1964: os dialisadores de fibra oca. A nova geometria substituiu os tubos membranosos e as membranas planas, até então utilizados, permitindo a produção de dialisadores com área grande o suficiente para cumprir a demanda do tratamento de diálise eficiente. A Figura 2.4 apresenta o dialisador de fibra oca desenvolvido por Stewart.



**Figura 2.4:** Dialisador de fibra oca desenvolvido por Richard Stewart. Fonte: HOME DIALYSIS CENTRAL (2013).

No Brasil, o primeiro rim artificial no modelo Kolff-Brigham foi utilizado no Hospital Pedro Ernesto, no Rio de Janeiro, em 1955. Porém, a primeira sessão de hemodiálise foi realizada em 1949, pelo médico Tito Ribeiro de Almeida (1913-1998), em São Paulo. Dr. Tito também desenvolveu um modelo de rim artificial baseado no que tinha sido desenvolvido no Canadá pelo Dr. Murray. Neste, o cilindro contendo os tubos de celofane era estacionário e na posição vertical, enquanto a solução de troca era agitada, contrário do modelo de Kolff-Brigham (RENAL CLASS, 2010).

Em 1972, a Baxter, empresa multinacional norte-americana, iniciou suas atividades comerciais no Brasil, no setor de equipamentos de hemodiálise, favorecendo a difusão do tratamento no país. Em 1973, foi aprovada pelo Congresso Americano uma lei que permitiu o livre acesso de todo cidadão americano ao tratamento dialítico, o que foi marcante para a universalização do acesso à hemodiálise nos Estados Unidos, repercutindo em seguida para vários outros países.

Desde então, o número de centros de diálise e de pacientes vem crescendo em todo o mundo. No Brasil, por exemplo, existem mais de 600 centros de diálise, atendendo uma população de mais de 100 mil pacientes (696 unidades de diálise cadastradas na Sociedade Brasileira de Nefrologia – SBN, segundo dados do Censo de Diálise de 2013). Como já mencionado, este atendimento ainda é bem menor que o necessário para a população portadora de doenças crônicas renais no país.

## 2.2. PRÍNCIPIOS E PRINCIPAIS PARÂMETROS DE HEMODIÁLISE

O hemodialisador é o substituto parcial extracorpóreo dos rins e, como ocorre nestes órgãos, solutos indesejáveis e água são removidos do sangue por uma combinação dos processos de diálise e ultrafiltração. Nele, o sangue escoar no canal interno de membranas do tipo fibra oca a uma vazão máxima 400 mL/min, sendo mantido em contato com uma solução fisiológica de eletrólitos (dialisato), que escoar externamente à fibra em contracorrente com o sangue, no dialisador, com uma vazão entre 300 e 500 mL/min. Assim, há passagem de água e pequenos solutos por difusão, devido à existência de uma diferença de concentração entre o sangue e a solução dialisato. A solução de diálise compõe-se de eletrólitos que inclui sódio, potássio, cloro, magnésio, cálcio, glicose (opcional) e bicarbonato (ou acetato) como tampão. Uma composição típica da solução de diálise é apresentada na Tabela 2.1.

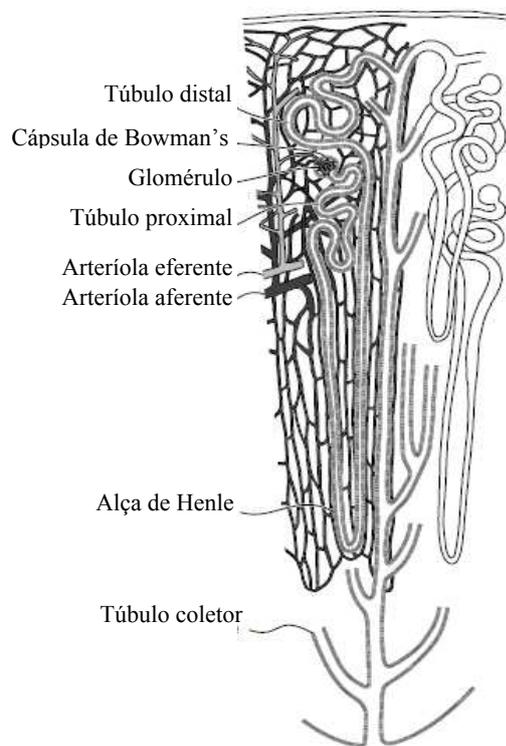
**Tabela 2.1:** Principais componentes da solução de diálise e respectivas concentrações.

Adaptado de DAUGIRDAS e ING (1996).

<b>Componente</b>	<b>Concentração contendo acetato (mEq/L)</b>	<b>Concentração contendo bicarbonato (mEq/L)</b>
Sódio	135 - 145	135 - 145
Potássio	0 - 4	0 - 4
Cálcio	2,5 - 3,5	2,5 - 3,5
Magnésio	0,5 - 1,0	0,5 - 1,0
Cloro	100 - 119	100 - 124
Acetato	35 - 38	2 - 4
Bicarbonato	0	30 - 38
Dextrose	11	11
PCO <sub>2</sub> (mmHg)	0,5	40 - 100

A operação dos rins humanos simulada pelos hemodialisadores ocorre nos néfrons (Figura 2.5), que estão presentes em número de 1 a 4 milhões em cada rim, atuando alternadamente para atingir as necessidades do organismo. O processo começa no glomérulo, uma rede de minúsculos capilares preenchendo espaços chamados cápsulas de Bowman. O sangue escoando através destes capilares está a uma pressão maior que o fluido na cápsula de Bowman e as paredes dos capilares são microporosas.

Como resultado, água, sais, e outros microssolutos no sangue são ultrafiltrados para dentro da cápsula enquanto as células sanguíneas permanecem no sangue. Cada cápsula de Bowman é conectada por um duto relativamente fino e longo a um túbulo coletor, onde há formação da urina, que é enviada através da uretra para a bexiga. O rim tem aproximadamente um milhão de túbulos e muitas cápsulas de Bowman são conectadas a cada túbulo. Mais de 99% da água e quase todos os sais, açúcares e proteínas são reabsorvidos pelo sangue por um processo similar ao transporte facilitado. O fluido concentrado restante que forma a urina é rico em ureia e creatinina e este é o principal método pelo qual esses metabólitos nitrogenados são removidos do organismo. O balanço ácido-base do corpo também é controlado pelo nível de bicarbonato na urina, e muitas drogas e toxinas são excretadas do organismo por este meio (BAKER, 2004).



**Figura 2.5:** Esquema de um néfron, unidade funcional do rim. Fonte: Adaptado de BAKER (2004).

No caso da hemodiálise, as membranas agem como barreiras que impedem a perda de proteínas do sangue e células e regulam o fluxo de soluto controlado pela difusividade do mesmo na membrana, ou seja, pelo seu tamanho molar. O excesso de água acumulado durante o período interdialítico é filtrado pela aplicação de uma

diferença de pressão através da membrana para manter o balanço de fluidos do paciente (CATAPANO E VIENKEN, 2008).

O tratamento típico de hemodiálise dura de 3 a 5 horas e é realizado três vezes por semana.

### 2.2.1. Fundamentos da transferência de massa através de membranas

Do ponto de vista do transporte de matéria, a passagem de soluções binárias através de membranas pode ser deduzida a partir de equações que representam o fluxo convectivo através dessas membranas, medido pelo fluxo volumétrico do solvente ( $J_v$ ). Este fluxo é causado por uma diferença de pressão hidrostática ( $\Delta P$ ) e uma diferença de pressão osmótica ( $\Delta\pi$ ), estabelecidos entre as faces da membrana (LOGAREZZI, 1984). Dessa forma, quando a pressão hidrostática é maior no compartimento mais concentrado, o fluxo volumétrico é dado pela Equação 2.1.

$$J_v = L_p(\Delta P - \Delta\pi_0) \quad (\text{Equação 2.1})$$

$L_p$  é a permeabilidade hidráulica

$\Delta\pi_0$  é a diferença efetiva de pressão osmótica, definida pela Equação 2.2.

$$\Delta\pi_0 = \sigma\Delta\pi = \sigma R_g T \Delta C \quad (\text{Equação 2.2})$$

$\sigma$  é o coeficiente de reflexão, característica intrínseca do par membrana-soluto

$R_g$  é a constante universal dos gases

$T$  é a temperatura

$\Delta C$  é a diferença de concentração do soluto entre as faces da membrana

A Equação 2.3 apresenta o parâmetro coeficiente de rejeição ( $R$ ), característica similar ao coeficiente de reflexão, que indica a quantidade de soluto retida em relação à quantidade alimentada.

$$R = \frac{C_A - C_p}{C_A} \quad (\text{Equação 2.3})$$

$C_p$  é a concentração de soluto no permeado

$C_A$  é a concentração de soluto na alimentação

O coeficiente de rejeição se aproxima do coeficiente de reflexão para altos valores de fluxo volumétrico de solvente, apesar de não ser um parâmetro intrínseco.

No caso do fluxo de soluto através da membrana, em geral, ele é definido pela combinação de uma parcela convectiva e outra difusiva, como apresentado na Equação 2.4, válida para soluções de um único soluto e com temperatura constante através da membrana.

$$J_S = \bar{C}(1 - \sigma)J_V + w\Delta\pi \quad (\text{Equação 2.4})$$

$J_S$  é o fluxo de soluto através da membrana

$\bar{C}$  é a concentração média do soluto através da espessura da membrana

$w$  é o coeficiente de permeabilidade difusiva

Para altos valores de fluxo volumétrico de solvente,  $J_V$ , e expressando a Equação 2.4 em termos de concentração, obtemos a Equação 2.5.

$$J_S = \bar{C}(1 - R)J_V + P\Delta C \quad (\text{Equação 2.5})$$

$(1 - R)$  representa uma correção que leva em consideração a seletividade da membrana

$P$  é a permeabilidade difusiva do soluto na membrana

O valor do coeficiente de rejeição pode ser medido quando os valores de  $C_A$  são baixos, pois dessa forma, os gradientes de concentração e de pressão osmótica tornam-se desprezíveis e o processo torna-se praticamente convectivo.

Nos casos em que não há fluxo volumétrico resultante ( $J_V = 0$ ), obtemos a Equação 2.6; e de um balanço de massa no sistema, verificamos que o fluxo de soluto representa a quantidade de soluto que atravessa uma unidade de área da membrana, em cada unidade de tempo, o que está representado na Equação 2.7.

$$J_S = P\Delta C \quad (\text{Equação 2.6})$$

$$J_S = -\frac{1}{A} \frac{d}{dt} (V_S C_S) \quad (\text{Equação 2.7})$$

$A$  é a área de troca da membrana

$V_S$  é o volume da solução do lado mais concentrado

$C_S$  é a concentração do soluto no lado mais concentrado

Supondo não haver variação do volume  $V_S$  com o tempo, obtemos a Equação 2.8, através da substituição da Equação 2.7 na Equação 2.6. Na Equação 2.8, o subscrito “ $S$ ” refere-se ao soluto no lado da solução teste (mais concentrada) e o subscrito “ $D$ ” refere-se ao soluto no lado da solução dialisato (menos concentrada).

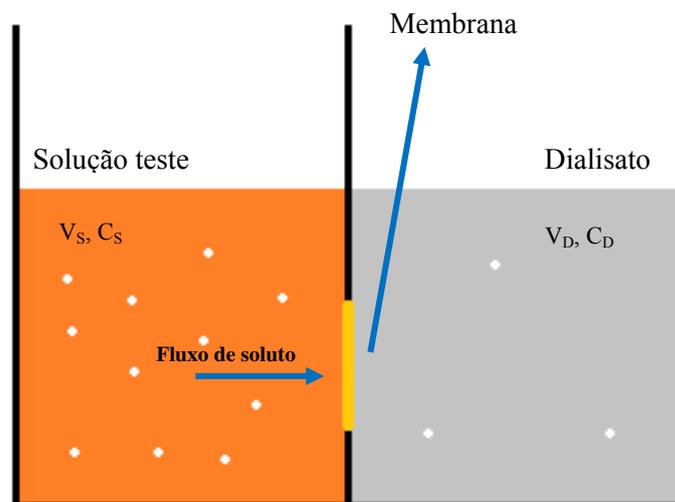
$$V_S \frac{dC_S}{dt} = -PA(C_S - C_D) \quad (\text{Equação 2.8})$$

Para a validade da Equação 2.8, as resistências à transferência de massa em ambas as faces da membrana, devido à presença de camadas limites, devem ser desprezíveis. Além disso, as concentrações de toda a superfície da membrana devem ser uniformes.

A integração da Equação 2.8 resulta na Equação 2.9, a qual é aplicada para sistema recirculante, em que a concentração da solução de diálise varia ao longo do processo, sem descarte desta solução, conforme apresentado na Figura 2.6.

$$\ln \frac{C_S(V_S+V_D)-m}{V_D(C_{S0}-C_{D0})} = -PA \frac{V_S+V_D}{V_S V_D} t \quad (\text{Equação 2.9})$$

$m = V_S C_S + V_D C_D$  (balanço de massa de soluto total presente no sistema)



**Figura 2.6:** Fluxo de soluto em um sistema de diálise.

A Equação 2.9 será utilizada nesta dissertação para o cálculo das permeabilidades difusivas dos solutos (ureia, creatinina e fosfato) através das membranas.

### 2.2.2. Principais parâmetros da hemodiálise

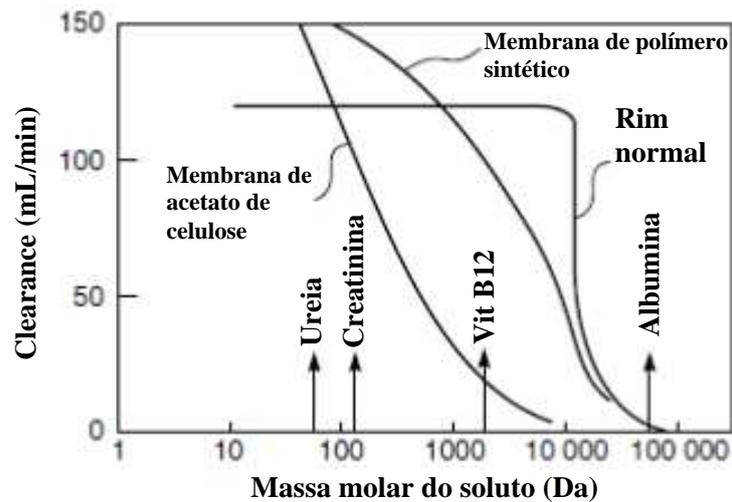
Os principais parâmetros operacionais envolvidos na hemodiálise estão relacionados às propriedades de transporte, sendo as membranas deste processo caracterizadas em termos de coeficiente de ultrafiltração ( $K_{uf}$ ), *clearance* dos solutos e o produto do coeficiente de transferência de massa pela área de superfície ( $K_oA$ ).

O coeficiente de ultrafiltração ( $K_{uf}$ ) é definido como a vazão de filtração volumétrica (mL/h) por mmHg de diferença de pressão mantida através da membrana quando está filtrando o sangue. Esse parâmetro simula uma permeabilidade hidráulica da membrana, sendo, porém, mais abrangente, já que a exposição ao sangue afeta a permeabilidade hidráulica do dialisador. Como o coeficiente de ultrafiltração não é normalizado pela área de superfície, ele é uma propriedade do dialisador e não da membrana. Assim, um dialisador contendo membranas com poros relativamente pequenos pode ter um alto  $K_{uf}$  se a área é grande o suficiente. A agência americana *Food and Drug Administration* (FDA) classifica as membranas em relação ao fluxo utilizando o coeficiente de ultrafiltração, sendo consideradas membranas de alto fluxo aquelas cujo  $K_{uf}$  é maior que 11,3 mL/h mmHg (KEEN *et al*, 1995).

Segundo OFSTHUN *et al* (1991), a medição do  $K_{uf}$  *in vitro* é realizada através de experimentos com sangue bovino, medindo-se a vazão de filtração em função da variação da pressão através da membrana. A vazão de filtração é linear com a pressão a baixas pressões e atinge um patamar a pressões elevadas. O  $K_{uf}$  é o valor do coeficiente angular da faixa linear.

O *clearance* de um soluto é definido como a taxa de remoção mássica dividida pela concentração do soluto no sangue, sendo expressa em unidades de mL/min. Então, o *clearance* representa o volume equivalente de sangue completamente livre de soluto a cada minuto e não pode exceder a vazão de sangue para o dialisador. Segundo OFSTHUN *et al* (2008), a medida mais apropriada para a permeabilidade dos

dialisadores seria a dialisância, definida como a taxa de remoção mássica dividida pela diferença de concentração através da membrana, pois os dialisadores não operam em modo puramente convectivo, mas a difusão é o mecanismo de transferência de massa predominante. Porém, pela sua aplicabilidade, o termo médico acabou prevalecendo historicamente sobre o termo de engenharia na caracterização dos dialisadores. A Figura 2.7 apresenta valores de *clearance* em função da massa molar dos solutos para membranas de diálise de celulose, de polímeros sintéticos e para o rim normal.



**Figura 2.7:** *Clearance* em função da massa molar do soluto. Fonte: Adaptado de BAKER (2004).

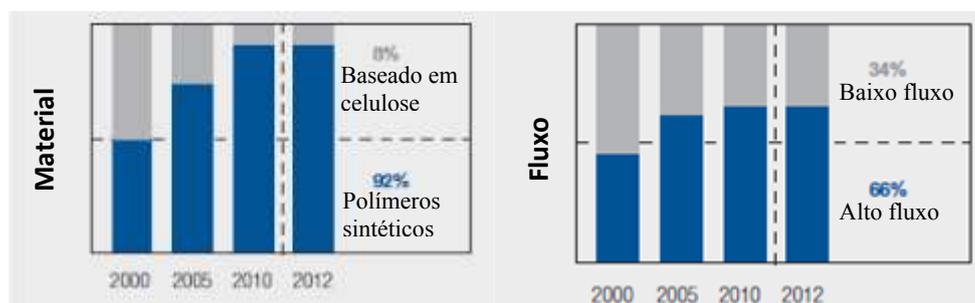
Outro termo utilizado para caracterizar as propriedades de transporte das membranas de diálise é o coeficiente de área de transferência de massa, definido como o produto do coeficiente de transferência de massa ( $K_o$ ) pela área de superfície da membrana ( $A$ ). Usualmente o coeficiente de área de transferência de massa reportado é aquele para a ureia (OFSTHUN *et al*, 2008).

## 2.3. MEMBRANAS DE HEMODIÁLISE

### 2.3.1. Classificação

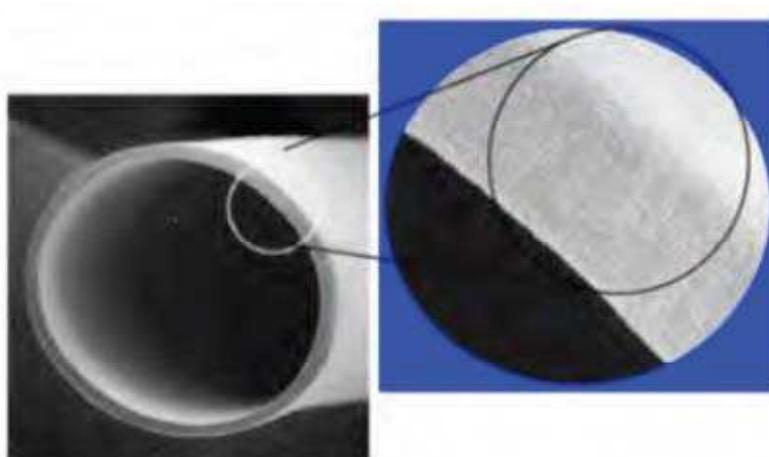
As membranas utilizadas em dialisadores podem ser de diversos materiais, sendo classificadas, conforme sua composição, em membrana celulósica, membrana celulósica modificada e membrana sintética e, em relação ao fluxo (conforme citado

anteriormente), como de baixo ou alto fluxo. A Figura 2.8 mostra, ao longo dos anos, a predominância das membranas de diálise sintéticas e de alto fluxo.



**Figura 2.8:** Desenvolvimento do material das membranas de diálise e do tipo de dialisador. Fonte: Adaptado de MARKET SURVEY (2013).

As membranas celulósicas são constituídas principalmente por celobiose, um polissacarídeo encontrado em diversas substâncias naturais. Possuem particular adequação a procedimentos baseados em processos de difusão, como é o caso da hemodiálise, sendo muito efetivas na remoção de solutos de baixa massa molar. Além disso, possuem simetria em relação à composição e morfologia (membranas isotrópicas) e, portanto, uma resistência à transferência de massa praticamente uniforme ao longo da espessura (CLARK E GAO, 2002), conforme apresentado na Figura 2.9. Entretanto, a remoção de moléculas de massa molar média é insuficiente devido ao seu baixo tamanho médio de poros. Por possuírem uma alta densidade de grupos hidroxila, os problemas de biocompatibilidade são muito mais pronunciados, devido à ativação do sistema complemento, o que é clinicamente indesejável, fator que contribui para a diminuição do uso deste tipo de membrana (OFSTHUN *et al*, 2008).



**Figura 2.9:** Estrutura simétrica de uma fibra de celulose. Fonte: NATIONAL KIDNEY FOUNDATION (2013).

As membranas celulósicas modificadas são mais compatíveis que as anteriores devido à substituição dos grupos hidroxila por grupos que permitem a atenuação da ativação do sistema complemento. São caracterizadas pelos baixos valores de espessura de parede e estruturas simétricas. Foram inicialmente utilizadas em hemodiálise nos anos 1980 e, devido ao seu maior tamanho médio de poros, possui melhor depuração de solutos de massa molar média e maior permeabilidade hidráulica. As duas membranas de celulose modificadas mais utilizadas são as membranas de acetato de celulose, nas quais aproximadamente 75% dos grupos hidroxila são substituídos por grupos acetato, e os dialisadores *Hemophan*, nos quais somente uma pequena porcentagem (menos que 5%) de grupos de hidroxila é de fato substituída, havendo um recobrimento dos grupos hidroxila por aminas terciárias substituintes (volumosas) (CLARK E GAO, 2002).

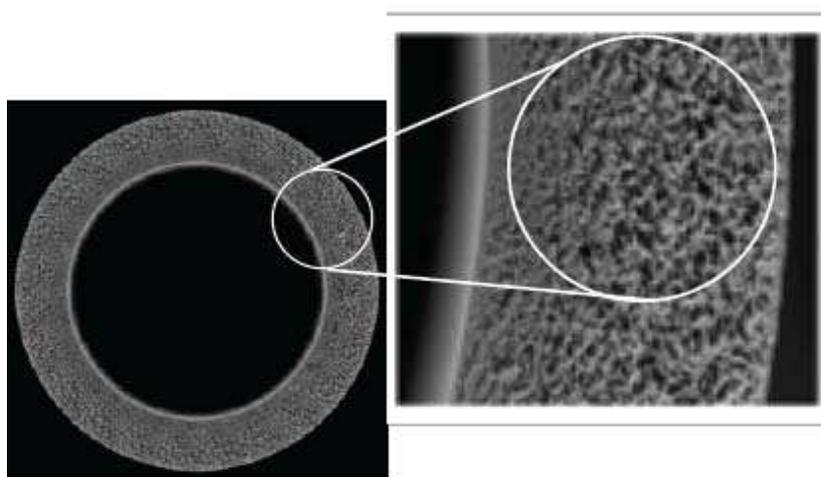
KEE e IDRIS (2010) sintetizaram membranas de acetato de celulose/glutamato de sódio e realizaram a caracterização em relação à permeabilidade à ureia, creatinina e albumina e permeabilidade hidráulica e observaram que essas membranas atuam similarmente às membranas de celulose modificadas comerciais, obtendo-se, inclusive, membranas de alto fluxo, consideradas melhores na remoção dos solutos de massa molar média. Em relação à biocompatibilidade das membranas, os autores não realizaram testes diretos, porém supuseram ser comparáveis com as membranas de celulose comerciais, através da observação visual da rugosidade da superfície de suas membranas, já que diferentes autores consideram esta característica como crucial na

determinação da biocompatibilidade do material (HOSSAIN *et al*, 2008; FUKUDA *et al*, 1999; TSUNODA *et al*, 1999).

Por fim, as membranas sintéticas referem-se às membranas poliméricas. São as mais comercialmente utilizadas, sendo exemplos as membranas de polisulfona (PSf), poliétersulfona (PES), poliacrilonitrila (PAN), entre outras. O desenvolvimento das membranas de hemodiálise foi dirigido no sentido de alargar o espectro de massa molar dos solutos removidos e de minimizar a ativação do complemento. Foram inicialmente utilizadas no início dos anos 1970, quando a membrana AN69 (copolímero de acrilonitrila com um grupo sulfonado aniônico) foi empregada na forma de membrana plana em um sistema de circuito fechado de dialisato (GAO E CLARK, 2002).

Segundo SAITO *et al* (2011), as membranas sintéticas geralmente possuem maior permeabilidade e melhor biocompatibilidade que as membranas de celulose. Podem ser categorizadas como hidrofílicas ou hidrofóbicas e são fabricadas com uma ampla faixa de fluxos permeados.

As membranas sintéticas são usualmente obtidas a partir de polímeros que são classificados como termoplásticos. A estrutura dessas membranas pode ser simétrica ou assimétrica. Neste último caso, uma “pele” muito fina na superfície da membrana age primariamente como meio de exclusão do soluto (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2013), conforme apresentado na Figura 2.10.



**Figura 2.10:** Estrutura assimétrica de uma membrana de polisulfona. Fonte: NATIONAL KIDNEY FOUNDATION (2013).

Segundo SENTHILKUMAR *et al* (2012), as membranas sintéticas de polisulfona são as mais utilizadas em hemodiálise devido à sua estabilidade térmica, mecânica e oxidativa e de suas excelentes propriedades em formar filmes. Além disso, possuem alta permeabilidade a substâncias tóxicas de baixa massa molar.

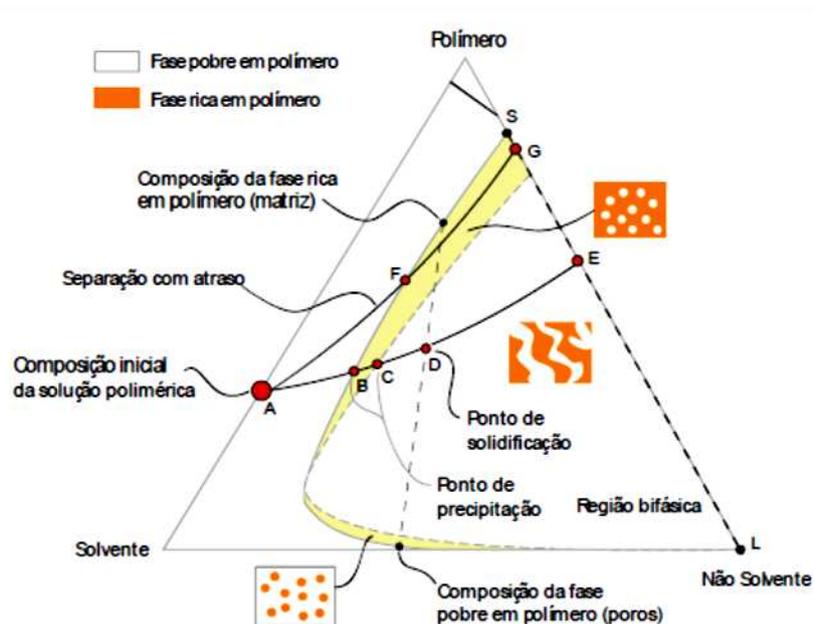
### **2.3.2. Propriedades**

Para ser usada em hemodiálise, uma membrana deve atender aos seguintes requisitos: ser hidrofílica, permeável aos produtos residuais do sangue, impermeável a proteínas e células, não tóxica, não trombogênica, permeável à água, resistente mecanicamente, apirogênica e moldável ou processável principalmente na forma de fibras ocas e ter baixo custo (LOGAREZZI, 1984).

O desempenho das membranas utilizadas em dialisadores, determinado pela eficácia na remoção de solutos e pela biocompatibilidade, depende da composição química do material usado, de sua espessura, da permeabilidade hidráulica, tamanho e densidade dos poros, biocompatibilidade e das propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas (OFSTHUN *et al*, 2008). Em geral, as membranas utilizadas em hemodiálise são do tipo fibra oca, pois apresentam como vantagem o fato de apenas 60 – 100 mL de sangue serem necessários para preencher o dialisador, minimizando o volume extracorpóreo; são facilmente drenadas ao fim do procedimento, sendo lavadas com agente esterilizante e reusadas. Além disso, seu custo de produção é baixo, conseguido pelo uso de máquinas de alta velocidade, capazes de fiar centenas de fibras continuamente (BAKER, 2004). Sendo assim, propriedades específicas deste tipo de membrana serão aqui descritas, embora o tratamento também possa ser realizado com membranas planas.

O processo de fabricação de membranas do tipo fibra oca (“fiação”) já é amplamente empregado em escala industrial, embora tenha complexo conjunto de fatores intervindo na sua morfologia e propriedades, envolvendo ciência e tecnologia de polímeros, termodinâmica, cinética das reações e engenharia química em geral. A síntese das membranas pode ser explicada através de um diagrama ternário, no qual cada vértice do diagrama representa um componente puro (polímero, solvente e não solvente) e cada ponto dentre dele representa uma composição específica de mistura desses componentes, que pode ser monofásica ou bifásica. Descrevendo o processo de

formação de membranas planas através do método de inversão de fases utilizando um diagrama ternário, conforme a Figura 2.11, a composição inicial da solução polimérica é indicada por A, enquanto a final, por E. Durante a precipitação, a solução empobrece-se em solvente e enriquece-se em não solvente até atravessar o limite binodal (B), entrando na região metaestável. Nesta região, o mecanismo de separação de fases por nucleação e crescimento é favorecido. Em seguida, o sistema passa para a região termodinamicamente instável, ao atravessar o limite espinodal (C), quando a solução separa-se espontaneamente em duas fases interconectadas, uma rica em polímero e outra pobre em polímero, sem haver formação de núcleos e cujas composições são dadas pelas linhas de amarração. A saída de solvente no processo aumenta a viscosidade da fase rica em polímero até que a mesma precipita e é considerada um sólido (D). Ao final da precipitação (E), ambas as fases estão em equilíbrio termodinâmico: a fase sólida, que forma a matriz da membrana (S) e a fase líquida, composta essencialmente do não solvente, que forma os poros da membrana (L). A porosidade total da membrana é indicada pelo ponto (E) (MERMIER, 2012).



**Figura 2.11:** Diagrama de fases ternário utilizado para descrever o processo de formação de membranas pela técnica de inversão de fases. Fonte: BAKER (2012).

A maioria das fibras ocas para hemodiálise tem um diâmetro interno padrão (compartimento do sangue) de aproximadamente 180 – 220  $\mu\text{m}$  e um comprimento de cerca de 20 – 24 cm. Esses parâmetros são importantes para as condições de operação

usadas no processo de hemodiálise. Por um lado, fibra de diâmetro interno relativamente pequeno é desejável porque fornece uma distância difusiva curta para a transferência de massa de soluto. Um diâmetro interno menor também fornece maior taxa de cisalhamento, a uma dada vazão sanguínea, resultando em melhor atenuação dos efeitos de camada limite no lado do sangue. Entretanto, a redução do diâmetro interno tem desvantagens: um pequeno decréscimo induz a um grande aumento da resistência ao escoamento, como pode ser verificado através da equação de Hagen-Poiseuille (Equação 2.10), a qual é utilizada, em muitos casos, para governar o escoamento do fluido ao longo do comprimento de um cilindro (CLARK E GAO, 2002).

$$Q_B = \frac{\Delta P_A}{8\mu L/\pi r^4} \quad (\text{Equação 2.10})$$

$Q_B$  é a vazão de sangue

$\Delta P_A$  é a queda de pressão axial

$\mu$  é a viscosidade do sangue

$L$  é o comprimento da fibra

$r$  é o raio da fibra oca

Como se pode observar, uma pequena diminuição do raio da fibra oca leva a um grande aumento do denominador da Equação 2.10, o que leva a uma diminuição da vazão de sangue. Este denominador também é definido como a resistência ao escoamento.

As fibras ocas sintetizadas podem ser onduladas para produzir um modelo que eventualmente distribua a corrente de dialisato, como apresentado na Figura 2.12. Esta forma ondulada previne o contato ou o excesso de empacotamento das fibras e, portanto, permite uma melhor adequação do escoamento de sangue e dialisato em todas as seções do feixe de fibras (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2013).



**Figura 2.12:** Forma das fibras (a) Ondulada (b) Reta. Fonte: NATIONAL KIDNEY FOUNDATION (2013).

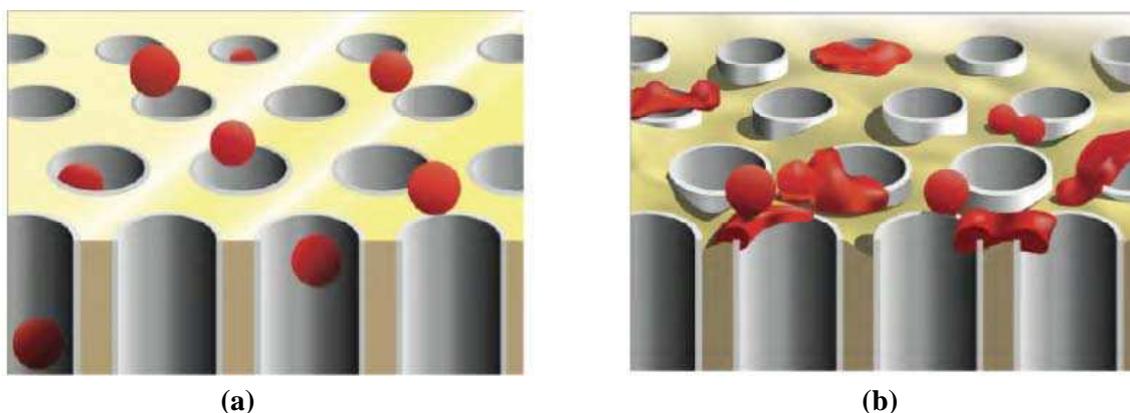
Em relação à área de superfície total, esta depende do tamanho da fibra, diâmetro interno e do número de fibras a serem comprimidas no dialisador (varia de aproximadamente 7.000 a 14.000), mas tipicamente dialisadores de fibra oca possuem de 1 a 2 m<sup>2</sup> de área total. O cálculo da área da região anular de uma fibra é realizado através da equação que define a área de um cilindro (Equação 2.11).

$$A = 2\pi rL \quad (\text{Equação 2.11})$$

Outra característica importante é o grau com o qual a carcaça do dialisador é preenchida com fibras, ou seja, a densidade de empacotamento do dialisador, definida como a razão entre a área de seção reta de todas as fibras e a área de seção reta do módulo (dialisador) (LI *et al*, 2004) . Densidades de empacotamento menores que 50% implicam insuficiente área de superfície de membrana para um apropriado ajuste de vazões de operação. Em contrapartida, valores maiores que aproximadamente 60% podem levar a um contato ineficiente de dialisato sobre a superfície das fibras, com formação de caminhos preferenciais (GAO E CLARK, 2002).

Após as fibras serem empacotadas na carcaça do dialisador, elas são cortadas de modo a obter uma superfície lisa e plana, o que é de suma importância para a prevenção de hemólise, coagulação sanguínea, ou retenção de sangue residual (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2013). A Figura 2.13 apresenta um esquema de uma

superfície plana e de uma superfície rugosa e sua consequência quando do contato com o sangue.



**Figura 2.13:** Esquema e consequência do tipo de corte do feixe de fibras em hemodialisadores (a) Superfície plana e lisa (b) Superfície rugosa. Fonte: NATIONAL KIDNEY FOUNDATION (2013).

### 2.3.3. Remoção de solutos

Quando em função renal normal, a membrana glomerular nos rins permite a passagem de solutos com massas molares de até 35.000 Da. Dialisadores têm um valor de retenção nominal (maior molécula que pode ser removida), variando de 3.000 Da a 15.000 Da, sendo que a nova geração de membranas de altíssimo fluxo pode chegar a 65.000 Da.

Em relação à distribuição do tamanho de poros, as membranas mais antigas possuíam uma grande variação de tamanho de poros, com menor quantidade de poros maiores, limitando, dessa forma, a remoção de toxinas urêmicas de massa molar média. Membranas com distribuição de tamanho de poros mais estreita deixam passar proteínas de baixa massa molar e reduzem a perda de albumina (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2013).

A remoção de solutos é dependente de uma variedade de fatores, como concentração, taxas de transporte através das membranas celulares, ligação dos solutos com proteínas, carga eletrostática, configuração estérica e massa molar. Em

hemodiálise, essa remoção ocorre através da combinação dos processos de difusão, convecção e adsorção.

Os solutos removidos são divididos em três categorias:

- a) Os pequenos compostos solúveis em água, como ureia e creatinina, cuja massa molar é menor que 500 Da, e que são removidos em qualquer membrana de diálise por difusão.
- b) Moléculas de massa molar média (500 a 15.000 Da), removidas através das membranas de diálise através da melhoria da capacidade de transporte e poros suficientemente grandes (membranas de alto fluxo). O *clearance* por difusão desses solutos decresce à medida que a massa molar aumenta; estudos recentes (OFSTHUN *et al*, 2008) têm mostrado que o aumento da filtração interna, ou escoamento de Starling (fluxo positivo de filtrado próximo à entrada do sangue e fluxo negativo de filtrado próximo à saída de sangue), pelo aumento do comprimento ou diminuição do diâmetro da fibra, ou aumento da queda de pressão no lado do dialisato resultou na melhoria do *clearance* das moléculas de tamanho médio.
- c) Moléculas ligadas a proteínas, a maioria com massa molar de 500 Da, mas difíceis de remover pelo tamanho do complexo. Algumas dessas moléculas ligadas a proteínas exercem um efeito tóxico em determinados níveis encontrados em pacientes de diálise. Por exemplo, o P-cresol e o indoxil sulfato, ambos quase totalmente ligados a proteínas, inibem a proliferação endotelial e a reparação de feridas. O fluxo dos solutos grandes depende primariamente do transporte convectivo, e o aumento do fluxo aumenta a remoção de toxinas ligadas a proteínas. Altos valores de *clearance* de solutos ligados a proteínas podem ser alcançados através do aumento do coeficiente de área de transferência de massa ( $K_0A$ ) do dialisador combinado ao aumento da vazão de dialisato (OFSTHUN *et al*, 2008).

Uma importante limitação ao tamanho de poro máximo das membranas de hemodiálise é a necessidade de reter importantes proteínas do plasma, como a albumina.

Como pacientes de hemodiálise são, em geral, malnutridos, a perda de proteínas do plasma não é aceitável clinicamente. Além disso, mesmo pequenas quantidades de proteína nos fluxos de dialisato cria um problema de formação de espuma gerada nas linhas de drenagem (OFSTHUN *et al*, 2008). A Tabela 2.2 apresenta importantes solutos no processo de hemodiálise.

**Tabela 2.2:** Classificação e tamanho dos solutos importantes em hemodiálise. Adaptado de NATIONAL KIDNEY FOUNDATION (2013).

<b>Classificação dos solutos</b>	<b>Massa molar (Da)</b>
<b>Moléculas pequenas</b>	
Ureia	60
Creatinina	113
Fosfato	134
<b>Moléculas médias</b>	
Vitamina B12	1.355
Vancomicina	1.448
Insulina	5.200
Fragmentos de endotoxina	1.000-15.000
$\beta_2$ -microglobulina	11.818
<b>Moléculas grandes</b>	
Mioglobina	17.000
Proteína de ligação ao retinol	21.000
Eritropoietina	34.000
Albumina	66.000
Transferrina	90.000

#### 2.3.4. Eficácia da terapia de hemodiálise

A avaliação quantitativa da eficácia da hemodiálise é realizada em função dos solutos de baixa massa molar, apesar dos solutos em hemodiálise serem classificados em três categorias (baixa, média e alta massa molar), conforme visto no tópico anterior. Segundo OFSTHUN *et al* (2008), podem ser utilizados três métodos para determinar as taxas de remoção de ureia:

- a) Razão de redução de ureia (URR): definida em termos dos valores de pré- e pós-nitrogênio de ureia sanguíneo (NUS) segundo a Equação 2.12.

$$URR (\%) = 100 \times \frac{(préNUS - pósNUS)}{préNUS} \quad (\text{Equação 2.12})$$

O valor de 65% é considerado ser indicativo de adequada hemodiálise.

- b)  $\frac{Kt}{V}$ , definido como  $K = clearance$  de ureia;  $t =$  tempo de tratamento;  $V =$  volume de distribuição de ureia. Através de um balanço de massa simples, chega-se à Equação 2.5.

$$\frac{Kt}{V} = -\ln \left( \frac{pósNUS}{préNUS} \right) \quad (\text{Equação 2.13})$$

O valor recomendado deste parâmetro para adequada hemodiálise é de 1,2, para tratamentos realizados três vezes na semana.

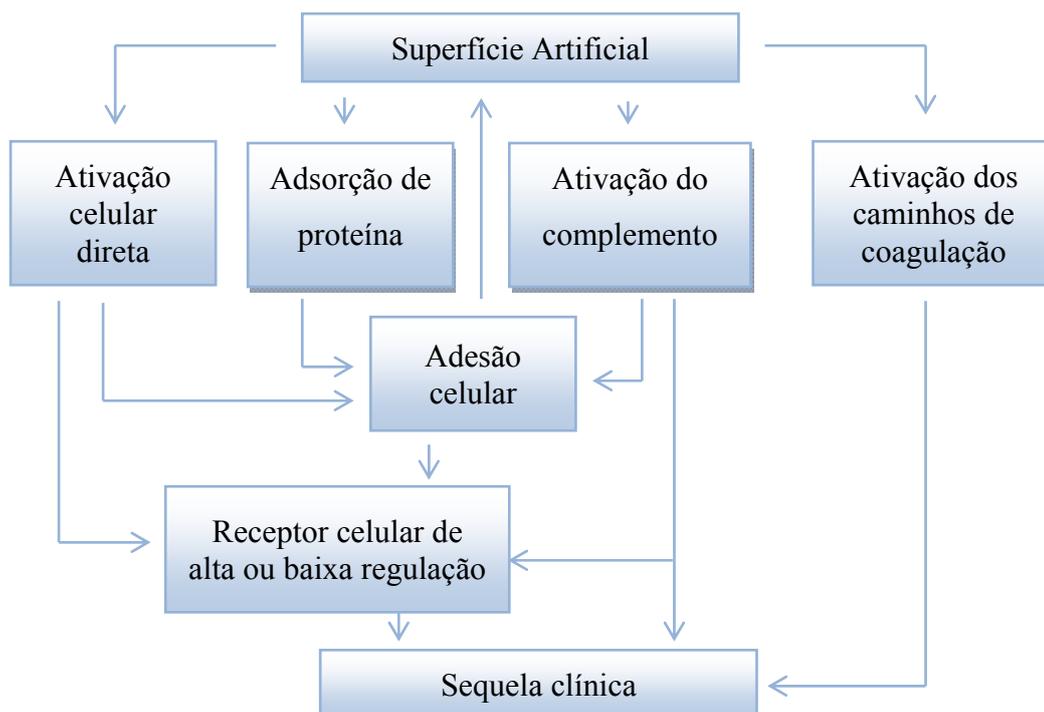
- c) Modelagem formal da cinética de remoção da ureia: solução iterativa de equações diferenciais, podendo ser usada para calcular os valores de  $\frac{Kt}{V}$  em equilíbrio. Os valores típicos de  $\frac{Kt}{V}$  em equilíbrio são 0,2 unidades menores que os cálculos simples, para os mesmos resultados de nitrogênio de ureia sanguíneo (NUS).

### 2.3.5. Biocompatibilidade e coagulação sanguínea

Um dos principais requisitos para realização da hemodiálise é a biocompatibilidade da membrana, definida como a habilidade do material em executar a função pretendida, com o mínimo de interação entre o mesmo e o sangue, sem afetar negativamente o desempenho do material e sem induzir a ativação descontrolada de cascatas celulares ou proteínas plasmáticas (WILLIAMS, 2003).

Durante a hemodiálise, a membrana se constitui em uma grande superfície não fisiológica a qual o sangue é exposto e, cada exposição resulta na deposição de

proteínas, ativação do sistema complemento, quinina, coagulação e caminhos fibrinolíticos, bem como a ativação de elementos celulares para cada ocasião. A magnitude desses eventos está associada a uma variedade de fatores, como composição química e característica da superfície da membrana (HOENICH, 2004). A Figura 2.14 apresenta esquematicamente o que ocorre com o sangue quando exposto à superfície de um material, como uma membrana, por exemplo.



**Figura 2.14:** Caminho de ativação do sangue em contato com um material. Fonte: Adaptado de HOENICH (2004)

O sistema complemento é o principal mediador humoral do processo inflamatório junto aos anticorpos. Está constituído por um conjunto de proteínas, tanto solúveis no plasma como expressas na membrana celular, e é ativado por diversos mecanismos. A ativação do complemento produz, entre outros, anafilatoxinas, como C3a, que podem causar reações alérgicas durante a diálise, e pode levar a hipertensão pulmonar intradialítica aguda, inflamação sistêmica e disfunção de leucócitos (ITURRY-YANAMOTO E PORTINHO, 2001).

O nível de ativação do complemento produzido por uma membrana é um fator determinante para sua biocompatibilidade. Todas as membranas ativam o complemento em alguma extensão, mas as membranas de celulose não modificadas são conhecidas

por possuírem os mais potentes ativadores e identificadas como bioincompatíveis. Para melhorar sua biocompatibilidade, pode-se realizar a modificação da superfície, introduzindo-se cadeias de polímero solúveis em água (FUKUDA *et al*, 1999).

A adesão de plaquetas que ocorre em significativa quantidade durante a hemodiálise pode causar trombose no dialisador. O fibrinogênio do plasma ao ligar-se à membrana e causar adesão de plaquetas e ativação, enquanto o sangue escoar no dialisador, pode impactar a coagulação independentemente da composição química da membrana utilizada (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2013). Para aumentar a hemocompatibilidade, o método mais utilizado é a modificação dos materiais com substâncias antitrombogênicas.

A rugosidade da superfície da membrana também influencia a biocompatibilidade e a ação antitrombogênica. TSUNODA *et al* (1999) avaliaram a influência da rugosidade da superfície de membranas de diálise de acetato de celulose na hemocompatibilidade, analisando a ocorrência de adesão de plaquetas. Os autores observaram que nas membranas com menor rugosidade, a adesão de plaquetas é bem menor e, conseqüentemente, tais membranas possuem melhor hemocompatibilidade, devido às diferenças nas condições de escoamento. Entretanto, os autores também afirmam que a rugosidade da superfície de diferentes materiais pode causar diversos efeitos na hemocompatibilidade e, portanto, a adequada rugosidade pode variar com o material utilizado na síntese da membrana.

#### 2.4. MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DE MEMBRANAS

Um biomaterial é um material insolúvel nos fluidos do corpo, projetado e construído para ser colocado dentro ou sobre o corpo ou para estar em contato com fluidos corpóreos e, idealmente, não induz reações indesejadas, como coagulação sanguínea, morte de tecidos, formação de tumor, reações alérgicas, rejeição ou reação inflamatória. Outras propriedades desejáveis para esses materiais são: propriedades físicas adequadas, como força, elasticidade, permeabilidade e flexibilidade requeridas para a função para a qual foi projetado; idealmente, deve ser purificado, fabricado e esterilizado facilmente; mantém suas propriedades físicas e função durante o tempo que permanecer implantado ou em contato com o corpo. A superfície sólida de um

biomaterial é caracterizada como biocompatível se é capaz de funcionar ou existir em contato com fluidos biológicos e/ou tecidos de organismos vivos com efeito benéfico para o organismo (BLEZER *et al*, 1998).

Porém, os polímeros atualmente utilizados são materiais convencionais (celulose, quitosana, politetrafluoretileno, polietileno, *nylon*, polisulfona, entre outros) que, em contato direto com sangue, ainda são capazes de iniciar a formação de coágulos, quando plaquetas e outros componentes do sistema de coagulação sanguínea são ativados. Para melhorar a biocompatibilidade de materiais, pode-se utilizar de duas estratégias: criar superfícies que previnem ou evitam reações do sangue indesejáveis ou incontroláveis, como a ativação coagulação sanguínea, ou preparar polímeros inertes ou passivos em relação às reações com sangue (MAO *et al*, 2004).

A modificação adequada da superfície do material é a mais comum, pois as interações entre o ambiente biológico e os materiais artificiais são provavelmente dominadas pelas propriedades de superfície do material. Além disso, a hemocompatibilidade pode ser melhorada, mantendo essencialmente as propriedades físicas do material (MAO *et al*, 2004).

Diversos métodos são aplicados para modificar a superfície de materiais, entre os quais citam-se: modificação por enxertia química, tecnologia de enxertia induzida por ozônio, adsorção física, aditivos modificadores de superfície, deposição por plasma, biomembranas de superfícies miméticas, radiação e deposição por Langmuir-Blodgett.

Em geral, a coagulação sanguínea no circuito extracorpóreo, no processo de hemodiálise, é evitada através da administração de heparina diretamente na corrente sanguínea. Porém, tem-se observado diversas reações adversas associadas a esta substância, como hemorragia, osteoporose, eosinofilia, reações cutâneas, alopecia, alteração dos testes de função hepática, hipercalemia ocasional e trombocitopenia (LONGHI, 2001). Assim, a imobilização de agentes antitrombogênicos, como a própria heparina, na superfície das membranas tem se tornado uma alternativa interessante, no sentido de evitar/diminuir a adição de heparina ao sangue.

Segundo BLEZER *et al* (1998), o mecanismo responsável por reduzir a trombogenicidade de matérias heparinizados reside na habilidade da heparina de acelerar a inativação da serina proteases (enzima de coagulação sanguínea) pela antitrombina III (AT-III). No processo, AT-III forma um complexo com uma sequência pentassacarídea bem definida na heparina, passando por uma mudança conformacional e então aumenta a habilidade do AT-III de formar ligações covalentes com os sítios ativos das serina proteases como a trombina. O complexo trombina-antitrombina (TAT) formado, então, libera-se do polissacarídeo, deixando a molécula de heparina livre para uma segunda inativação.

#### **2.4.1. Imobilização de heparina na superfície das membranas**

A heparina é um dos glicosaminoglicanos mais estudados devido às suas propriedades anticoagulantes. Se imobilizada em uma superfície, pode levar a diversas melhorias nas propriedades dessa superfície, como a compatibilidade sanguínea e a biocompatibilidade. Além disso, reduz a adesão de plaquetas, a perda de células sanguíneas e aumenta o tempo de recalcificação do plasma e o tempo de tromboplastina parcial ativada (MURUGESAN *et al*, 2008).

A estrutura da heparina contém diversos grupos funcionais ativos, como grupos hidroxila, carboxila, amina, entre outros, de modo que a imobilização da heparina em geral é realizada através da ativação da superfície da membrana, visando à ligação com esses grupos funcionais (-COOH, -OH, -NH). A Figura 2.15 apresenta um quadro com uma lista de possíveis ligações para imobilização de heparina.

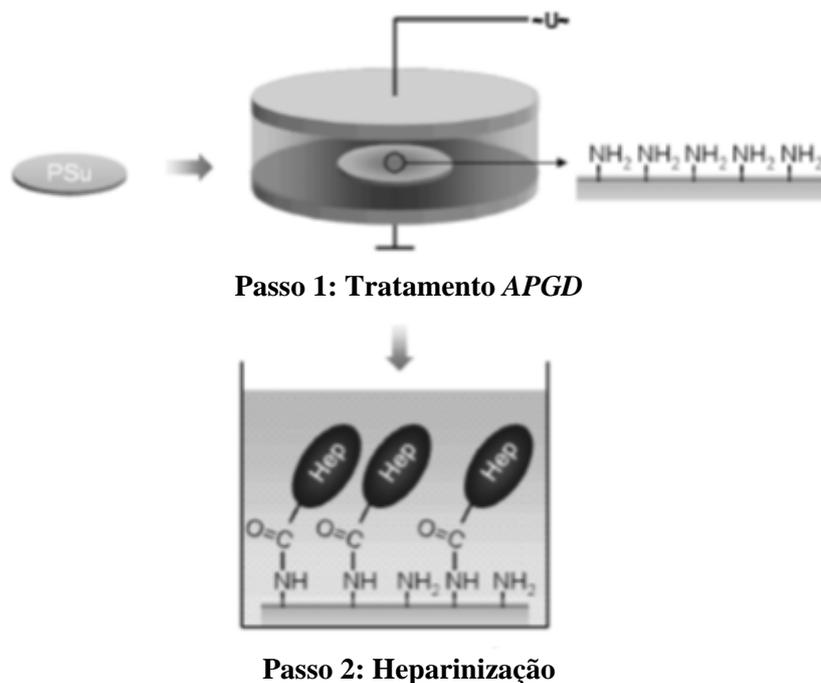
A principal forma de ativação da superfície é a introdução de grupos amina, os quais são capazes de se ligarem aos grupos aldeído da molécula de heparina. Nesse sentido, HUANG *et al* (2011) imobilizaram heparina em membranas de polisulfona através da introdução prévia de grupos amina pela imersão da membrana em solução de cloroéterdimetil, hexano e SnCl<sub>4</sub>, seguindo-se a incubação da mesma em etilenodiamina e, por fim, ligação covalente da heparina. Após a imobilização, observou-se um aumento na hidrofiliabilidade das membranas, aumento no tempo de formação de trombo (tempo de coagulação) e menor adesão de plaquetas, indicando uma melhoria da hemocompatibilidade pela imobilização da heparina.

Grupo funcional	#de sítios/ cadeia de heparina	Ativação com, para	Reação com	Ligação
	1	Nenhum 	R-NH <sub>2</sub> or RNH-NH <sub>2</sub> , NaBH <sub>3</sub> CN  R-NH <sub>2</sub> , RNH-NH <sub>2</sub>	RNHCH <sub>2</sub> Hep RNHNHCH <sub>2</sub> Hep  RNHCOHep RNHNHCOHep
	~0.3	Nenhum	RCO <sub>2</sub> X  RCOH, NaBH <sub>3</sub> CN	RCONHHep  RCH <sub>2</sub> NHHep
	~20	EDC,	RNH <sub>2</sub>	RNHCOHep, RNHNHCOHep
	~60	CNBr, Hep-O-CN	RNH <sub>2</sub> 	RNHCOO-Hep 
	~5	Na <sub>2</sub> IO <sub>4</sub> ,	RNH <sub>2</sub> , NaBH <sub>3</sub> CN  RNHNH <sub>2</sub> , NaBH <sub>3</sub> CN	
	~15	NaOH,	RNH <sub>2</sub>	
	~15	NaNO <sub>2</sub> ,	RNH <sub>2</sub> , NaBH <sub>3</sub> CN	

**Figura 2.15:** Principais formas de ligação da heparina para modificação de superfícies.

Fonte: Adaptado de MURUGESAN *et al* (2008).

LI *et al* (2011), por sua vez, utilizaram um gerador APGD (*atmospheric pressure glow discharge*) sob atmosfera gasosa de amônia/argônio, introduzindo os grupos amina em membranas de polisulfona para posterior ligação química da heparina, conforme mostra a Figura 2.16. As membranas obtidas apresentaram maior hidrofilicidade (menor ângulo de contato), menor adesão de plaquetas, indicando aumento na biocompatibilidade do material.



**Figura 2.16:** Esquema para heparinização de membranas de polisulfona utilizando APGD, no trabalho de Li *et al* (2011). Adaptado.

Outra forma de fixar heparina também bastante explorada é a adsorção iônica desta, por exemplo, através da adoção de um processo por plasma para tornar a superfície eletropositiva, seguida pela combinação com a heparina eletronegativa (GAO *et al*, 2014).

Em patente de 1998, BLEZER e colaboradores propuseram um novo método para melhorar biomateriais heparinizados. Segundo os autores, a ligação covalente da heparina com a superfície do biomaterial pode ser muito forte, podendo-se observar trombogenicidade mesmo com altos níveis de heparina ativa. Neste caso, devido a esta forte ligação, a heparina não é liberada no sangue e/ou a superfície atrai proteínas do plasma, incluindo a trombina, que é capaz de bloquear a captura da AT-III pela heparina imobilizada, inibindo a formação do complexo AT-III com a heparina, deixando a trombina ainda ativa. Sendo assim, a proposta dos autores foi fornecer uma superfície biocompatível, tendo heparina covalentemente ligada ativa, com melhorada ativação de AT-III no contato com o sangue, através da adsorção da própria AT-III, que é mantida na superfície com heparina imobilizada até o equipamento médico ser colocado em contato com o sangue do paciente. Quando em contato com o sangue do paciente, a AT-

III adsorvida prevenirá a formação inicial de trombo na interface biomaterial-sangue, reduzindo a ativação de plaquetas, que induziria a formação extra de trombo. Em consequência, o acúmulo de trombo é prevenido e a formação de coágulo, atrasada.

Em recente trabalho, GAO *et al* (2014) realizaram a imobilização de heparina na superfície de membranas de poli(ácido láctico) (PLA), através de auto-polimerização e forte adesão de dopamina. Os autores verificaram o sucesso da imobilização de heparina através da diminuição do ângulo de contato das membranas heparinizadas quando em comparação com aquelas sem heparina em sua superfície (aumento da hidrofobicidade), pela diminuição da adesão de plaquetas, pelo aumento do tempo de recalcificação do plasma e pela razão de hemólise.

O dialisador Evodial<sup>®</sup>, desenvolvido pela Gambro, possui uma membrana composta de um copolímero aniônico de acrilonitrila e metalil sulfonato de sódio, com modificação superficial com heparina, através da prévia funcionalização com polietilenoimina. A membrana deste dialisador possui alta permeabilidade e biocompatibilidade, com manutenção da atividade da heparina ao longo da sessão de diálise.

Segundo TANG *et al* (2012), apesar dos diversos estudos dos métodos de imobilização da heparina nas membranas, há diversas restrições para a aplicação, como a elevada perda da bioatividade e a possibilidade da ocorrência de degradação a longo prazo *in vivo* devido à ligação covalente e aos diferentes agentes químicos e biológicos durante o uso de materiais heparinizados.

#### **2.4.2. Imobilização de outras substâncias**

Para melhorar a biocompatibilidade de biomateriais, pode-se ligar à superfície dos mesmos diferentes biomoléculas como fatores de crescimento, agentes antimicrobianos, agentes antitrombogênicos, proteínas de fixação celular, entre outras substâncias. FANG *et al* (2009) modificaram membranas de poli(éter sulfona) através da blenda com um copolímero de acrilonitrila e ácido acrílico, seguido de enxertia de albumina bovina na superfície das membranas. Os autores verificaram uma diminuição do ângulo de contato, da adsorção de proteínas e da adesão de plaquetas, com aumento significativo

do fluxo de água, indicando que a melhoria da hidrofiliabilidade e da biocompatibilidade sanguínea das membranas modificadas. LI *et al* (2012), por sua vez, modificaram membranas de poli(éter sulfona) utilizando uma blenda de ácido cítrico e poliuretano. As membranas modificadas mostraram baixa adsorção de proteínas e não houve adesão de plaquetas nas mesmas. Além disso, observou-se um prolongamento do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), tempo de protrombina (TP), tempo de recalcificação do plasma (TRP) e tempo de coagulação do sangue, indicando haver uma propriedade anticoagulante em tais membranas.

Outro método para aumentar a biocompatibilidade da membrana é a introdução de grupos sulfônicos e/ou grupos carboxílicos negativamente carregados, o que simula a imobilização de heparina. Neste sentido, TANG *et al* (2012) utilizaram poli(éter sulfona) sulfonada e o terpolímero poli(acrilonitrila-co-ácido acrílico-co-vinil pirrolidona) (P(NA-AA-VP), que fornecia os grupos de ácido sulfônico (-SO<sub>3</sub>H) e de ácido carboxílico (-COOH), respectivamente, para modificar membranas de poli(éter sulfona). Os autores observaram que as membranas modificadas apresentaram menor adsorção de proteínas e a adesão de plaquetas foi suprimida. Além disso, devido aos grupos carregados negativamente, similar aos da heparina, houve significativo prolongamento do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA).

## 2.5. DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS PARA HEMODIÁLISE

Ao longo dos anos, as membranas para hemodiálise foram desenvolvidas tendo em vista melhorias para o processo. Inicialmente, a geometria das membranas foi modificada até chegar à forma atual de fibras ocas, que melhor se adequa ao tratamento principalmente porque minimiza a quantidade de sangue extracorpóreo. Ao mesmo tempo, o material das membranas também foi modificado, iniciando com membranas de celulose, que tiveram a espessura reduzida, os grupos hidroxila substituídos, e o tamanho dos poros aumentado, resultando em maior eficiência na remoção dos solutos de baixa massa molar, em um maior espectro de remoção de solutos em geral e em uma atenuação da ativação do complemento. Em seguida, foram desenvolvidas membranas sintetizadas a partir de polímeros sintéticos, as quais possuíam melhores características de biocompatibilidade, maior tamanho de poros e permeabilidade hidráulica e que são as de uso clínico atual no processo de hemodiálise (CLARK *et al*, 1999).

O desempenho das membranas de hemodiálise determina a qualidade e a durabilidade do tratamento. O aumento da eficiência da diálise pode ser alcançado através do desenvolvimento de novas membranas, por meio das quais a taxa de sobrevivência dos pacientes seja melhorada, bem como através da modificação das membranas de uso clínico atual, através do estudo de parâmetros que influenciem diretamente o processo, como a não uniformidade da distribuição de poros, irregularidades na forma e tamanho dos poros, reuso das membranas, fluxo, entre outros.

BOURÉ e VANHOLDER (2004) avaliaram diversos dialisadores, em relação ao fluxo, e verificaram que membranas de alto fluxo são biocompatíveis, não permitem a passagem de impurezas do dialisato para a corrente sanguínea, adsorvem compostos e removem moléculas de tamanho médio. Diversos estudos controlados também sugerem a superioridade das membranas de alto fluxo para aspectos isolados da síndrome urêmica, como a perda da função renal e infecções, por exemplo. Já em relação à mortalidade, diversos estudos também demonstram a superioridade das membranas de alto fluxo, alguns deles sugerindo que este benefício em parte é relacionado à remoção de moléculas de tamanho médio.

LEYPOLDT *et al* (1999) estudaram o efeito do tipo de dialisador e da remoção de moléculas de massa molar média na sobrevivência de pacientes em tratamento por hemodiálise e verificaram que o uso de dialisadores com altas taxas de remoção de moléculas de média massa molar está relacionado com risco reduzido de mortalidade em pacientes de hemodiálise. A biocompatibilidade do material também tem sido objeto de estudo das membranas para aplicação em hemodiálise, devido à interação que ocorre entre a superfície e o sangue, levando a ocorrência de coagulação sanguínea e ativação do complemento, conforme visto anteriormente e ilustrado na Figura 2.12. Neste sentido, diversos trabalhos atuais tem objetivado a melhoria da biocompatibilidade das membranas, através de métodos diversos, como a modificação da superfície do material (GAO *et al*, 2014; LI *et al*, 2012; LI *et al*, 2011; HUANG *et al*, 2011; FANG *et al*, 2009)

### 2.5.1 Membranas de Poli(éter imida)

As poliimidas são polímeros de alto desempenho que tem recebido posição proeminente devido ao excelente balanço entre propriedades-preço-processabilidade. Dentre os polímeros desta família, está a poli(éter imida), uma das poliimidas termofusíveis, também referida como poliimida linear de segunda geração (THANGAMUTHU *et al*, 2006).

A poli(éter imida) (PEI) é um termoplástico amorfo com um interesse particular na fabricação de membranas de ultrafiltração, devido às suas boas propriedades de formação de filmes. As unidades aromáticas da imida da PEI fornecem propriedades como considerável resistência mecânica, estabilidade térmica e resistência química, enquanto as flexíveis ligações do éter fornecem boa processabilidade. Pesquisas recentes e desenvolvimentos no campo biomédico revelaram que a PEI tem excelente biocompatibilidade e mostra baixa resposta imunológica em contato com o sangue (SENTHILKUMAR *et al*, 2012).

Segundo SEIFERT *et al* (2002), a PEI é um material muito interessante para o preparo de membranas para aplicação em órgãos convencionais, como hemodialisadores, e mais particularmente em órgãos híbridos. Em seu trabalho, SEIFERT imobilizou diversos ligantes às membranas de PEI, investigando as respostas sanguíneas e teciduais destes materiais, em relação ao tipo de ligante e duração da funcionalização. Uma dessas modificações foi a introdução de heparina à superfície da membrana, a fim de melhorar a resposta sanguínea à membrana de PEI, o que foi alcançado para incubações mais longas de heparina. Este trabalho visava apenas a modificação da superfície da membrana, sem relacioná-las especificamente a um processo.

A poli(éter imida) é um material bastante atrativo para a formação de membranas devido à sua excelente habilidade em formar filmes e às boas propriedades mecânicas, bem como boas resistências térmica e química, sendo muito utilizada em processos de separação. Possui natureza hidrofóbica, a qual causa elevada incrustação na superfície da membrana quando as soluções a serem filtradas contêm substâncias como proteínas (CHINPA *et al*, 2010). Também possui boa compatibilidade celular e

pode ser covalentemente funcionalizada através da reação de macromoléculas aminadas com o grupo imida repetitivo. Devido às excelentes características já mencionadas, possui relevante aplicação, inclusive na área médica, apesar de sua hemocompatibilidade moderada.

Segundo TZONEVA *et al* (2008), a natureza hidrofóbica das membranas de poli(éter imida) causa um “efeito de passividade” na superfície, em termos de baixa taxa de ativação de plaquetas aderentes. Além disso, a considerável resistência mecânica e estabilidade térmica faz com que as membranas de PEI sejam adequadas para a esterilização a vapor. Mais que isto, a presença de grupos funcionais na estrutura do polímero aumenta as propriedades de formação de membranas e permite que a membrana resultante seja apta para a aplicação desejável, tornando-se uma nova classe de materiais poliméricos para aplicações biomédicas.

ALTANKOV *et al* (2005) desenvolveram um tipo de membrana baseado na poli(éter imida) para aplicações biomédicas, através da blenda entre PEI e polibenzimidazol (PBI), um polímero de afinidade com água relativamente alta e boa compatibilidade com PEI em nível molar. Os autores concluíram que a membrana modificada era mais hidrofílica, menos porosa e com aumento do potencial de superfície (potencial zeta). Além disso, observaram que tanto as membranas de PEI puras quanto as modificadas parecem ser bem compatíveis com tecidos e úteis como suporte para cultura de células dérmicas.

## 2.6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o processo de hemodiálise venha sendo utilizado com sucesso há cerca de 70 anos, ainda há necessidade de muitas melhorias, o que tem sido objeto intenso de pesquisa. Os principais aspectos que têm sido avaliados são a melhoria nas propriedades de transporte (maior exclusão de moléculas de média massa molar) e biocompatibilidade, de forma a reduzir a taxa de mortalidade dos pacientes. De modo geral, os trabalhos encontrados na literatura têm realizado modificações nos materiais de membrana já utilizados clinicamente no processo, como por exemplo, a polisulfona e a poli(éter sulfona), sendo poucos aqueles que buscam estudar novos materiais, como o poli(ácido láctico) e a poli(éter imida), esta última objeto de estudo desta dissertação.

A administração sistêmica intravenosa de heparina também tem sido apontada como causadora de diversos efeitos adversos, incluindo hemorragia, dificuldade em respirar, inchaço nos lábios, língua ou face, dores leves, vermelhidão, calor e perda de cabelo, levando a estudos que minimizem ou evitem o uso dessa substância durante o tratamento.

A modificação da superfície das membranas com compostos diversos tem sido amplamente estudada como método de melhoria da hemo/biocompatibilidade do material, pois apresenta diversas vantagens em relação aos demais, como a manutenção das propriedades físicas do material. Entre as modificações observadas, a modificação com a própria heparina tem sido alvo de estudo, pois a estrutura dessa substância com muitos grupos funcionais ativos permite que a mesma faça ligação com grupos funcionais dos materiais com relativa facilidade, de modo que sua propriedade anticoagulante é mantida sem que a heparina passe a fazer parte da corrente sanguínea do paciente.

## CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

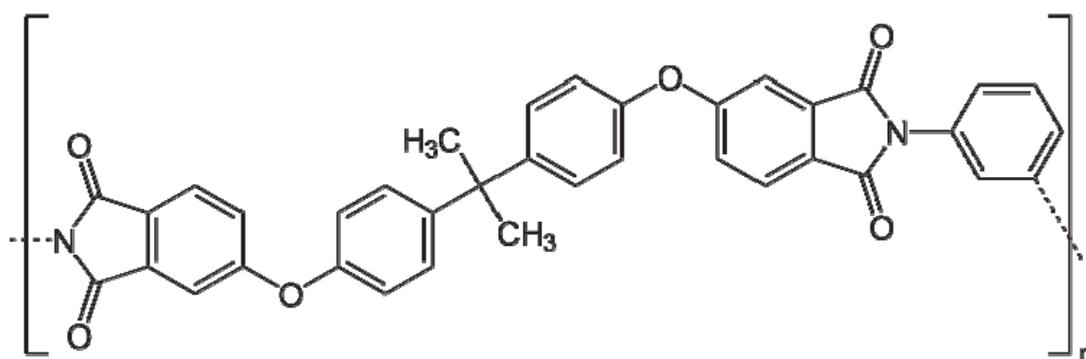
*Este capítulo tem como objetivo descrever as características dos materiais utilizados nessa dissertação, bem como os procedimentos experimentais, os equipamentos e técnicas analíticas empregados na síntese de membranas planas e fibras ocas de poli(éter imida), bem como na funcionalização dessas membranas através da imobilização de heparina.*

*As membranas planas e do tipo fibra oca, sintetizadas sob diferentes condições, foram caracterizadas por análise morfológica, permeabilidade hidráulica e permeabilidade e rejeição aos principais solutos urêmicos. Além disso, as membranas modificadas com heparina foram caracterizadas através de análise por infravermelho (FTIR), ângulo de contato, adsorção de proteínas, testes de tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), adesão de plaquetas e teste de hemólise sanguínea.*

### 3.1. PREPARO DAS SOLUÇÕES POLIMÉRICAS

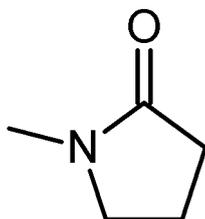
Para o preparo das soluções poliméricas a partir das quais foram sintetizadas as membranas, planas e fibras ocas, foram utilizados basicamente os seguintes compostos: poli(éter imida) (PEI), como polímero base da matriz porosa; n-metil-2-pirrolidona (NMP), como solvente; e poli(vinil pirrolidona) (PVP) do tipo K<sub>90</sub>, como aditivo macromolecular.

O polímero base da matriz porosa, PEI (Ultem 1000), de massa molar numérica 52.000 Daltons, fornecido pela *General Electric*, é um termoplástico amorfo, com temperatura de transição vítrea de aproximadamente 217 °C. Possui boa estabilidade química e térmica. Sua estrutura é apresentada na Figura 3.1.



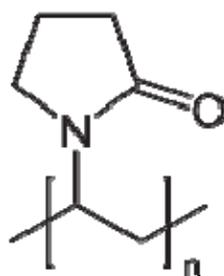
**Figura 3.1:** Fórmula estrutural da poli(éter imida).

O solvente utilizado no preparo das soluções poliméricas foi o n-metil-2-pirrolidona (NMP), fornecido pela Vetec. O NMP é miscível em água em qualquer proporção e caracteriza-se pelo alto ponto de ebulição (aproximadamente 202°C), sendo normalmente utilizado no preparo de membranas por imersão-precipitação (CARVALHO, 2005). A estrutura desse composto é apresentada na Figura 3.2.



**Figura 3.2:** Fórmula estrutural do n-metil-2-pirrolidona.

O poli(vinil pirrolidona) (PVP) do tipo K<sub>90</sub> foi utilizado como aditivo, possui alta massa molar numérica (360.000 Daltons), sendo adquirido da Fluka Chemica Co. É um polímero hidrofílico, miscível em solventes orgânicos, tendo afinidade com ambas as fases rica e pobre em polímero. A adição de PVP objetiva a obtenção de poros com elevada interconectividade nas subcamadas das membranas produzidas, diminuindo a presença de macrovazios e mantendo valores elevados de permeabilidade. Sua estrutura é apresentada na Figura 3.3.



**Figura 3.3:** Estrutura química do poli(vinil pirrolidona).

Antes do preparo das soluções poliméricas, os polímeros passaram por secagem em estufa a 60°C por, no mínimo, 24 horas, sendo acondicionados em um dessecador antes de sua utilização. O preparo dessas soluções foi realizado através da pesagem por adição dos componentes mencionados em um recipiente de vidro adequado, o qual foi fechado e vedado com Parafilm, sendo levados à agitação mecânica sob aquecimento (70°C) por aproximadamente 24 horas para completa homogeneização. Em seguida, a solução polimérica foi mantida em repouso até a completa eliminação de bolhas de ar formadas durante a agitação. No caso das soluções com adição de PVP, realizou-se inicialmente a completa solubilização do polímero base e resfriamento da solução para, então, acrescentar o aditivo na quantidade adequada. Novamente utilizou-se agitação mecânica e aquecimento para homogeneização do PVP por aproximadamente 24 horas, sendo a solução obtida colocada em repouso para eliminação de bolhas.

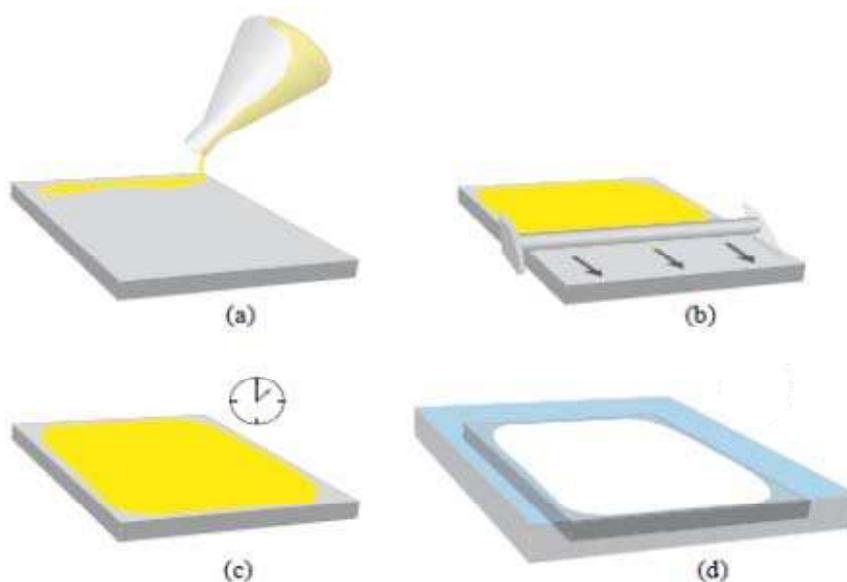
### 3.2. SÍNTESE DAS MEMBRANAS PLANAS

As membranas planas foram sintetizadas por espalhamento simples da solução polimérica, a qual foi vertida sobre uma placa de vidro de 20 cm x 30 cm, previamente lavada, seca e livre de material aderido. O espalhamento foi realizado manualmente, utilizando uma faca de aço inoxidável de espessura controlada de 0,15 mm.

Após o espalhamento, o filme polimérico foi exposto ao ar atmosférico por diferentes tempos e, em seguida, levado ao banho de não solvente de água destilada microfiltrada e desmineralizada. Nesse momento, ocorria a fixação da estrutura e formação da membrana.

Após a precipitação, as membranas formadas foram colocadas em um banho de água e levadas à estufa a 60°C durante 24 horas para eliminação de solvente (NMP) e aditivo (PVP) residuais. Em seguida, em função da análise a ser realizada, as membranas foram mantidas em água por no máximo uma semana ou foram secas através da troca sucessiva de não solventes, evitando, assim, o colapso dos poros devido à elevada tensão superficial da água. Neste caso, as membranas foram transferidas do banho de água para um banho de etanol 95%, onde permaneciam por 2 horas. Seguiu-se para um banho de n-hexano (mistura de isômeros) de grau de pureza analítico, permanecendo por mais 2 horas. Finalmente, as membranas foram secas em atmosfera ambiente. Ambos os reagentes utilizados na troca de não solventes foram adquiridos da Vetec Química Fina Ltda.

As etapas envolvidas na síntese de membranas planas através do espalhamento simples estão esquematizadas na Figura 3.4, bem como todas as condições experimentais avaliadas nesta etapa são apresentadas na Tabela 3.1.



**Figura 3.4:** Etapas da síntese de membranas planas por espalhamento. (a) Solução polimérica sendo vertida na placa de vidro; (b) Espalhamento com faca de espessura controlada; (c) Exposição ao ar ambiente; (d) Imersão no banho de precipitação.

**Tabela 3.1:** Condições experimentais analisadas na síntese de membranas planas.

<b>Condição</b>	<b>Composição PEI/PVP/NMP (% m/m)</b>	<b>Tempo de exposição (min)</b>
<b>1</b>	15/0/85	0; 1; 10; 30
<b>2</b>	15/3/82	0; 1; 10; 30
<b>3</b>	15/5/80	0; 10
<b>4</b>	15/10/75	0; 1; 10; 30

### 3.3. SÍNTESE DE FIBRAS OCAS

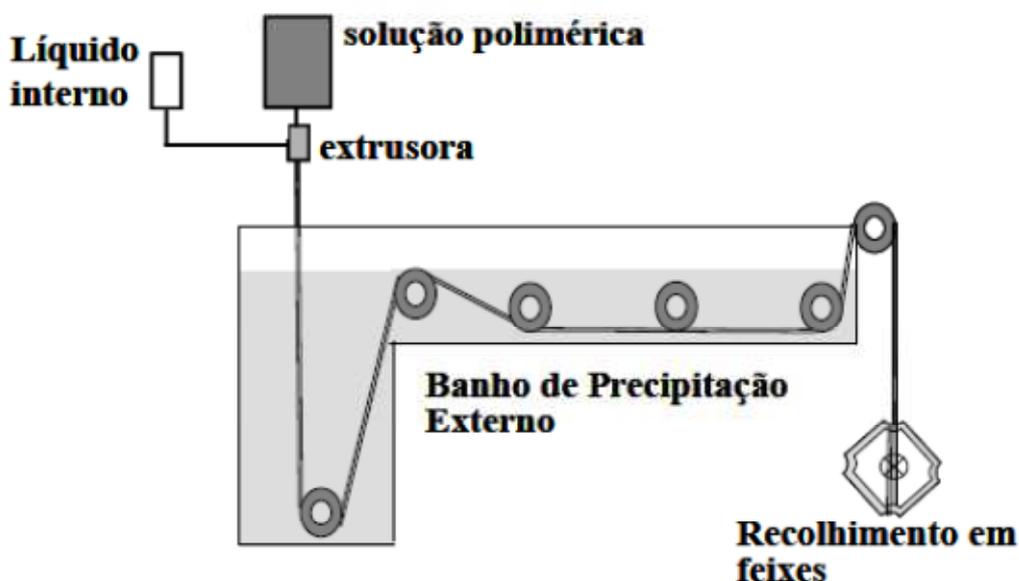
A partir dos resultados obtidos para as membranas planas, as fibras ocas foram sintetizadas por extrusão simples. Nesta técnica, a solução polimérica é colocada em um cilindro de aço inoxidável, que atua como um tanque de alimentação, o qual é hermeticamente fechado e deixado em repouso por 24 horas para eliminação de bolhas de ar remanescentes, formadas durante o processo de transferência da solução para o cilindro.

A Figura 3.5 apresenta esquematicamente o processo de extrusão simples para formação da fibra. Nele, a solução polimérica era bombeada através da pressurização do tanque de alimentação com gás inerte (nitrogênio). O escoamento do líquido interno, responsável pela formação do orifício na fibra resultante, era realizado por meio de uma bomba de engrenagem da marca Diacti. Sua composição é um parâmetro determinante para a morfologia da superfície interna.

Após saírem da extrusora, a solução polimérica e o líquido interno percorriam certa distância antes da imersão no banho externo de precipitação, o qual era composto por água microfiltrada. Esta distância, também chamada distância extrusora-banho (DEB), juntamente com a velocidade de fiação, permite controlar o tempo de exposição ao ar da fibra extrusada, sendo parâmetro determinante na morfologia da membrana.

Ao entrar no banho externo, as fibras eram posicionadas manualmente em roldanas de *nylon* e tensionadas por ação de um motor regulável que atuava na última roldana. Ao sair do banho, as fibras eram recolhidas em um recipiente com água microfiltrada, a fim de remover parte do solvente ainda presente na matriz polimérica.

Em seguida, as fibras eram mantidas imersas e levadas à estufa a 60°C por 24 horas para retirada de solvente e aditivo residuais.



**Figura 3.5:** Representação esquemática do processo de fiação por extrusão simples.

Após a completa eliminação do solvente e aditivo, as fibras foram secas, sendo o processo de secagem também realizado por troca de não solventes, conforme descrito anteriormente. Outro procedimento de secagem também realizado foi a imersão das fibras em banho de água:glicerol (10:1) durante 4 horas, seguida de secagem a atmosfera.

### 3.3.1. Variáveis de síntese e condições de fiação

As condições experimentais utilizadas na síntese das fibras ocas estão descritas na Tabela 3.2. A composição do polímero base PEI e do aditivo PVP na solução polimérica, bem como a composição do líquido interno foram as variáveis investigadas durante a síntese, iniciando-se a partir da solução polimérica composta por 15% de PEI, 5% de PVP e 80% de NMP. O líquido externo em todas as condições analisadas foi água microfiltrada.

**Tabela 3.2:** Condições experimentais referentes à síntese de fibras ocas.

Condição	Composição PEI/PVP/NMP (% m/m)	DEB (cm)	Pressão (bar)	Temperatura (°C)
1	15/5/80	10	1	25
2	15/10/75	20	5	24
3	12/10/78	20	2	25

Durante a fiação foram medidos os seguintes parâmetros: vazão volumétrica de líquido interno, vazão mássica da solução polimérica e velocidade de fiação. Esta última medida foi determinada a partir do aumento do comprimento da fibra em um determinado intervalo de tempo. Assim, foi possível calcular o tempo de exposição ao ar das fibras extrusadas a partir da relação entre a distância extrusora-banho (DEB) e a velocidade de fiação. Os parâmetros obtidos no preparo das fibras ocas são apresentados no Anexo A1.

#### 3.4. IMOBILIZAÇÃO DE HEPARINA NA SUPERFÍCIE DAS MEMBRANAS

O objetivo principal dessa dissertação é a obtenção de membranas de poli(éter imida) funcionalizadas através da imobilização de heparina, de forma a aumentar a biocompatibilidade/hemocompatibilidade da membrana. Para isto, a heparina foi ligada covalentemente à superfície da membrana, através da metodologia seguida por ALBRECHT *et al* (2006) e CHE *et al* (2005).

Inicialmente, foram cortados dois pedaços de membrana plana de cerca de 2 cm de diâmetro cada, imergindo-os em uma solução 2% de polietilenoimina em água e isopropanol 1:1 a 70°C durante 30 min, com agitação magnética branda. Essa etapa tinha a função de ativar a superfície da membrana, introduzindo os grupos amina. Em seguida, os discos de membrana foram lavados com água destilada, microfiltrada e desmineralizada, sendo então imersos em uma solução aquosa 2% de poli(etileno glicol) diglicil éter (PEGDGE), à temperatura ambiente, durante 24 horas, sob agitação magnética branda. Esta segunda etapa tinha função de estabilizar a superfície ativada da membrana. Após a estabilização, as membranas foram lavadas com água desmineralizada e levadas à estufa a 60°C para secagem por 16 horas.

A imobilização de heparina na superfície da membrana foi realizada através da sua imersão, após secagem, em 40 mL de uma solução de tampão citrato (pH 5) contendo 20 mg de EDC (1-etil-3-(3-dimetil amidopropil) carbodiimida) e diferentes quantidades de heparina sódica, *Tocris Bioscience*, com atividade biológica mínima >150 U.I./mg, (foram testadas as massas 5; 7,5; 10 mg), durante 6 horas, com agitação constante e a 4°C. Foram retiradas amostras de 1 mL dessa solução a cada 2 horas para verificar a diminuição da concentração de heparina na solução sobrenadante ao longo do tempo.

Seguindo-se a etapa de imobilização, as membranas foram lavadas duas vezes, durante 5 minutos, com tampão fosfato salino (PBS) 20 mM (pH 7,2) e uma vez, durante 10 minutos, com uma solução 0,1% de Triton X-100. Após, os discos foram lavados com água desmineralizada em banho de ultrassom, durante 10 minutos.

A armazenagem das membranas foi realizada em uma solução aquosa de acetato de sódio 20 mM e etanol 20% a 4°C.

#### **3.4.1. Quantificação da heparina imobilizada**

A quantificação da heparina imobilizada na superfície da membrana foi realizada através do método colorimétrico da metacromasia proposto por FARNDALÉ *et al* (1986).

A solução de metacromasia foi preparada através da dissolução de 16 mg de azul de metileno em 1 L de água destilada contendo 3,04 g de glicina, 2,37 g de NaCl e 95 mL de HCl 0,1 M. Este reagente é estável em vidraria âmbar durante 3 meses, a temperatura ambiente. Quando esta solução é estocada a 4°C, a cor é revertida, provavelmente devido à agregação de partículas do corante (FARNDALÉ *et al*, 1986).

Para a realização da análise, 100 µL de amostra (coletada durante a heparinização, a cada 2 horas) foram adicionados a 2,5 mL da solução de metacromasia em um tubo âmbar, realizando-se a leitura da absorbância a 550 nm no espectrofotômetro ultravioleta/visível da marca Jenway.

A concentração de heparina foi determinada utilizando uma curva de calibração obtida a partir de amostras com concentrações conhecidas de heparina, preparadas de acordo com a solução utilizada na etapa de imobilização. O branco consistia da amostra sem heparina (apenas tampão citrato e EDC). A faixa da curva de calibração foi linear quando a concentração de heparina estava entre 3,0 µg/mL e 16,7 µg/mL, sendo necessário realizar diluições para que as amostras entrassem na faixa de linearidade. A curva de calibração para a heparina está apresentada no Anexo A2.7.

### 3.5. TESTES DE CARACTERIZAÇÃO

Para a escolha do material para membranas de hemodiálise, os principais fatores a serem levados em consideração como ponto de partida são a permeabilidade hidráulica e a seletividade de solutos-padrão (HOENICH, 2004). Portanto, estas foram as análises utilizadas inicialmente para a definição da composição e condição de preparo da membrana de PEI a ser utilizada, bem como foi realizada a análise morfológica das membranas.

#### 3.5.1. Análise morfológica

Tanto as membranas planas quanto as fibras ocas sintetizadas foram analisadas morfológicamente através de microscopia eletrônica de varredura, utilizando o microscópio da FEI, modelo Quanta 200 no caso das membranas planas e o microscópio da Jeol, modelo JSM 5610 LV no caso das fibras ocas, localizado no Instituto de Macromoléculas (IMA). Antes de serem analisadas, realizou-se o preparo das amostras das membranas secas, através do corte de pedaços das superfícies superior e inferior (no caso das membranas planas) e externa (no caso das fibras ocas), os quais foram fixados em um suporte metálico. Para análise da seção transversal, as membranas foram fraturadas em nitrogênio líquido, evitando a deformação dos poros devido ao congelamento rápido da membrana, o que facilita a fratura, e também colocadas no suporte metálico. Em seguida, as amostras foram recobertas com uma camada de ouro, durante 2 minutos, em um metalizador da marca Emitech.

A análise morfológica das membranas planas consistia na observação das regiões: seção transversal (ST), superfície superior (SS) e superfície inferior (SI). Por

sua vez, a análise morfológica das fibras ocas consistia na observação da seção transversal (ST), centro da seção transversal (CST) e superfície externa (SE).

### 3.5.2. Propriedades de transporte

A fim de caracterizar as membranas produzidas, a permeabilidade hidráulica e a seletividade de solutos-padrão da hemodiálise de diferentes tamanhos foram avaliadas. Foram utilizados diferentes sistemas para caracterização das membranas planas e fibras ocas, como serão descritos a seguir.

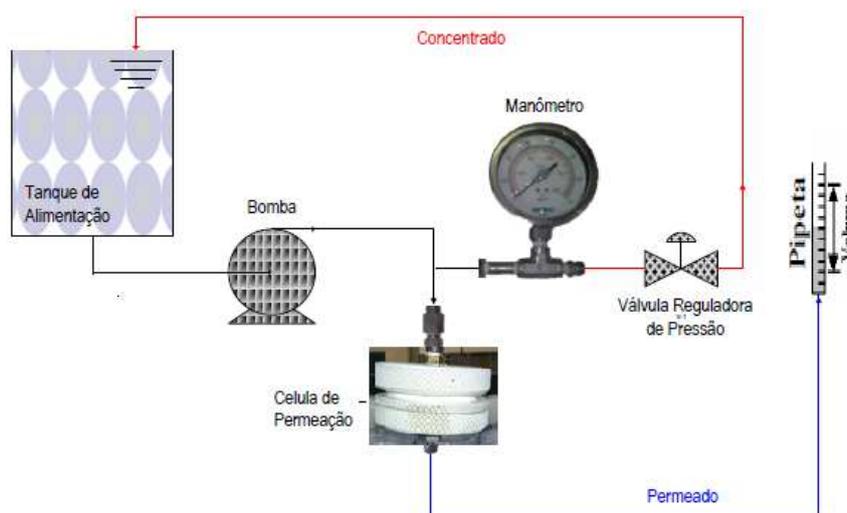
#### 3.5.2.1. Membranas planas

Para medição da permeabilidade hidráulica, foi utilizada uma célula de permeação (Figura 3.6), acoplada a um sistema de permeação. A membrana, armazenada em banho de água, era cortada no formato circular, com diâmetro de 4,6 cm e colocada na célula de permeação. A célula era fechada e conectada ao sistema.



**Figura 3.6:** Célula de permeação utilizada na medição da permeabilidade hidráulica das membranas planas.

O sistema de permeação utilizado, apresentado na Figura 3.7, era de fluxo contínuo, com reciclo de concentrado. As tubulações das linhas eram de poliuretano, exceto a de reciclo da alimentação, que era de aço inoxidável. O tanque de alimentação possuía um volume de 1L e era preenchido com água destilada, microfiltrada e desmineralizada.



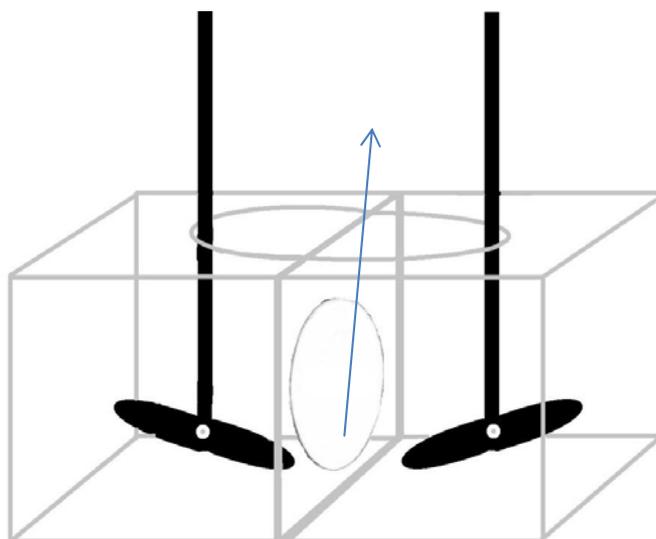
**Figura 3.7:** Esquema do sistema empregado para compactação e determinação da permeabilidade hidráulica e rejeição aos solutos das membranas planas.

Antes da medida da permeabilidade, era necessário realizar a compactação das membranas a uma pressão fixa maior que a pressão de operação dos experimentos, até a estabilização do fluxo de permeado, pois a pressão pode alterar as características de transporte da membrana. Esta etapa de compactação foi realizada à temperatura ambiente de 26°C e pressão de operação de 1,8 bar. A vazão de permeado foi medida através de uma pipeta de 25 mL conectada ao sistema. O fluxo de permeado estabilizado em diferentes pressões foi relacionado com a pressão de operação correspondente para determinar a permeabilidade hidráulica das membranas através do gráfico Fluxo de permeado vs Pressão.

Em relação ao transporte de solutos urêmicos, foram empregados dois sistemas distintos, a depender do tamanho do soluto em questão. Assim, as análises com os solutos de baixa massa molar (ureia, creatinina e fosfato) foram realizadas através de testes de diálise, enquanto as análises com os solutos de média e alta massa molar

(vitamina B12, lisozima e albumina) foram realizados através de testes de ultrafiltração. A lisozima e a vitamina B12, apesar de não serem solutos urêmicos, foram utilizadas como representantes dos solutos de massa molar média, com a lisozima representando a  $\beta_2$  – microglobulina, pois suas massas moleculares são similares (14,3 kDa para a lisozima e 11,8 kDa para a  $\beta_2$  – microglobulina).

a) Testes de diálise: o sistema utilizado nesta etapa da caracterização da membrana é apresentando no esquema da Figura 3.8.



**Figura 3.8:** Esquema do sistema para testes de diálise.

Este sistema era composto por dois compartimentos de acrílico separados pela membrana, um dos quais preenchido com uma solução do soluto de interesse em concentração adequada (simulando o sangue), conforme norma internacional (ISO 8637:2010) para testes de hemodiálise (Tabela 3.3). O outro compartimento era preenchido com água desmineralizada (simulando a solução dialisato). O diâmetro da membrana utilizado era 6 cm e o volume preenchido em cada compartimento era 1 L.

**Tabela 3.3:** Concentração e massas molares dos solutos para os testes de diálise.

<b>Soluto</b>	<b>Concentração (mmol/L)</b>	<b>Massa molar (kDa)</b>
<b>Ureia</b>	30	0,060
<b>Creatinina</b>	0,94	0,113
<b>Fosfato</b>	1,7 (pH 7,4±0,1)	0,134

Os testes foram realizados à temperatura ambiente (26°C) e mantidos em contínua agitação com agitador mecânico IKA RW20 digital, com rotação de 300 rpm. Foram coletadas amostras de ambos os compartimentos de hora em hora durante três horas para análise da concentração e verificação do transporte de soluto entre os compartimentos.

Para análise da concentração dos solutos nas amostras coletadas, foram utilizados kits específicos para estas determinações. O kit utilizado para determinação de ureia, da marca Katal, utiliza o método enzimático colorimétrico (metodologia Urease Berthelot), através do qual a ureia da amostra é hidrolisada pela enzima urease, produzindo gás carbônico e íons amônio, que após reação, produzem o corante azul de indofenol. A cor formada é proporcional à concentração de ureia, realizando-se a leitura da absorbância das amostras a 600 nm; para determinação da concentração de creatinina, também foi utilizado o kit da marca Katal, o qual utiliza a metodologia de Jaffé, através da qual a creatinina reage com ácido pícrico em meio alcalino, formando complexos corados com um máximo de absorção em 510 nm; por fim, o kit para determinação de fosfato, da marca Doles, utiliza a metodologia de Gomori modificado, com reação do fósforo inorgânico com molibdato, formando um complexo fosfomolibdato de cor azul, realizando-se a leitura da absorbância das amostras a 660 nm. Os valores de absorbância de cada amostra analisada eram relacionados com uma curva de calibração previamente determinada a partir dos padrões de concentração conhecida fornecidos junto com os kits. A partir dos valores de concentração obtidos, a permeabilidade da membrana ao soluto era calculada, utilizando-se a Equação 2.9, definida no Capítulo 2. As curvas de calibração utilizadas são apresentadas no Anexo A2. A Tabela 3.4 descreve o conteúdo químico dos kits utilizados.

**Tabela 3.4:** Conteúdo químico dos kits para determinação dos solutos (ureia, creatinina e fosfato).

	Kit		
	Ureia	Creatinina	Fosfato
<b>Conteúdo químico</b>	Tampão estoque Reagente enzimático Reagente de cor- estoque Solução padrão (70 mg/dL)	Solução tampão Ácido pícrico Acidificante (ácido acético) Solução padrão (3,0 mg/dL)	Ácido ascórbico Reagente molibdato Solução alcalina Solução padrão (5 mg/dL)

b) Testes de ultrafiltração: para tais experimentos, foi utilizado o mesmo sistema de permeação apresentado na Figura 3.7. Porém, neste caso, o tanque de alimentação era preenchido com uma solução do soluto de interesse, nas concentrações apresentadas na Tabela 3.5, segundo a norma internacional (ISO 8637:2010) a ser seguido em testes com hemodiálise (para a lisozima, que não é soluto urêmico, utilizou-se como padrão a concentração de  $\beta_2$  – microglobulina).

**Tabela 3.5:** Concentração dos solutos utilizados nos testes de ultrafiltração e suas respectivas massas molares.

<b>Soluto</b>	<b>Concentração</b>	<b>Massa molar (kDa)</b>
<b>Vitamina B12 (mmol/L)</b>	0,04	1,4
<b>Lisozima (ppm)</b>	30	14,3
<b>Albumina bovina (g/L)</b>	35	66

A solução era então bombeada e circulava sobre a membrana, sob uma pressão de operação de 0,25 bar. Eram coletadas amostras da alimentação (reciclo) e permeado a cada 15 minutos até que as concentrações não mais se modificassem. Os experimentos duraram, em média, 1 hora.

As análises das amostras coletadas foram realizadas através da leitura da absorvância das mesmas, sem necessidade do uso de kits específicos, pois esses solutos apresentam um pico de absorção característico, identificado a partir da varredura do espectro de uma amostra contendo o soluto puro. Para a vitamina B12, tal pico era observado em 560 nm; para a lisozima, em 282 nm; e para a albumina, em 278 nm. Foram determinadas curvas de calibração para análise desses solutos (Anexo B) e, a partir dos dados de concentração da alimentação e concentração do permeado, calculavam-se os valores de rejeição utilizando a Equação 2.3, definida no Capítulo 2.

No teste com a vitamina B12, todas as linhas de tubulação foram cobertas com papel alumínio para não haver a degradação do soluto, que é sensível quando exposto à luz. Da mesma forma, o tanque de alimentação foi protegido e as amostras foram coletadas em vidraria âmbar. Todos os testes de ultrafiltração foram realizados à temperatura ambiente de aproximadamente 26 °C.

### 3.5.2.2. Fibras ocas

Para caracterização em relação às propriedades de transporte das fibras ocas, foram confeccionados módulos de permeação, os quais foram montados dispondo as fibras sintetizadas e secas longitudinalmente em tubos de CPVC da marca Tigre®, conforme apresentado na Figura 3.9. As fibras eram fixadas nas extremidades utilizando resina epóxi do tipo Araldite®. Após secagem ao ar ambiente por aproximadamente 4 horas, uma das extremidades era cortada com uso de estilete, formando a seção transversal conforme apresentado na Figura 3.10, na qual seria coletado o permeado. Os módulos foram montados contendo um feixe de dez fibras.



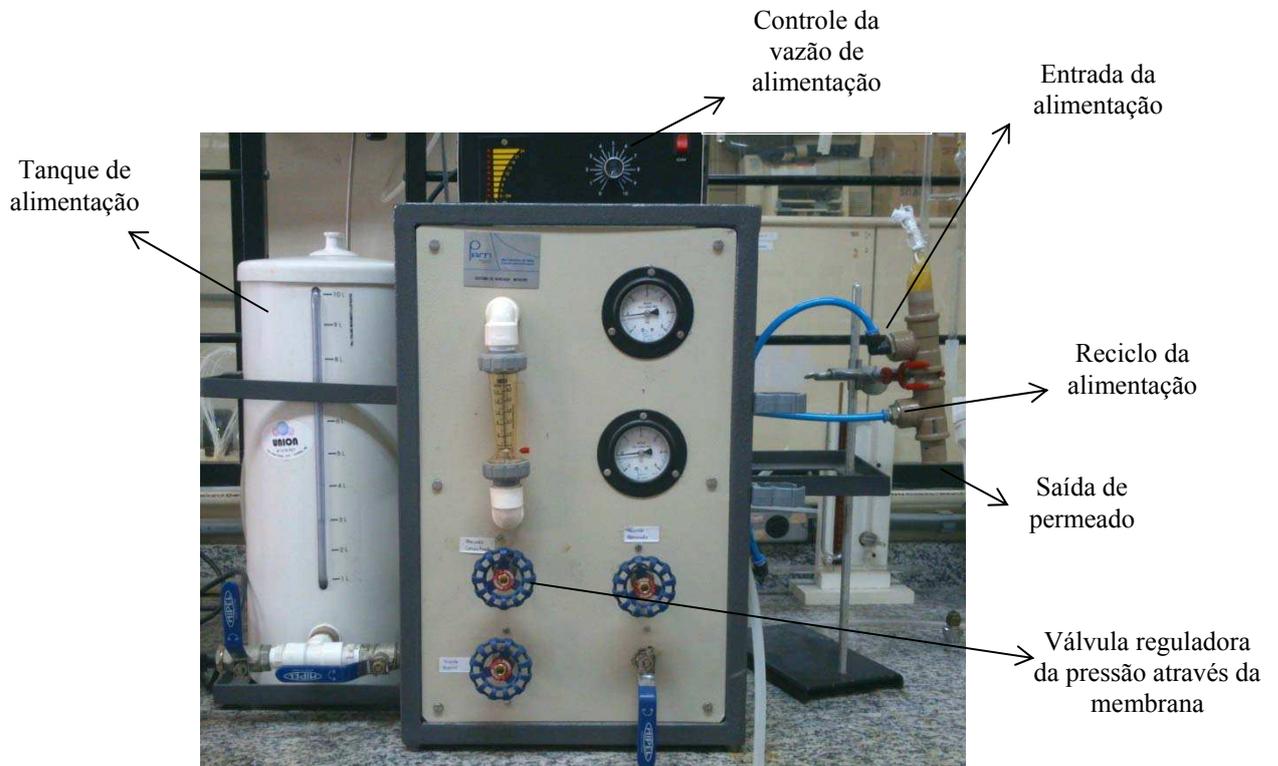
**Figura 3.9:** Detalhes do módulo de permeação confeccionados para medição das propriedades de transporte das fibras ocas: (a) Entrada da alimentação (b) Reciclo da alimentação (c) Saída de permeado.



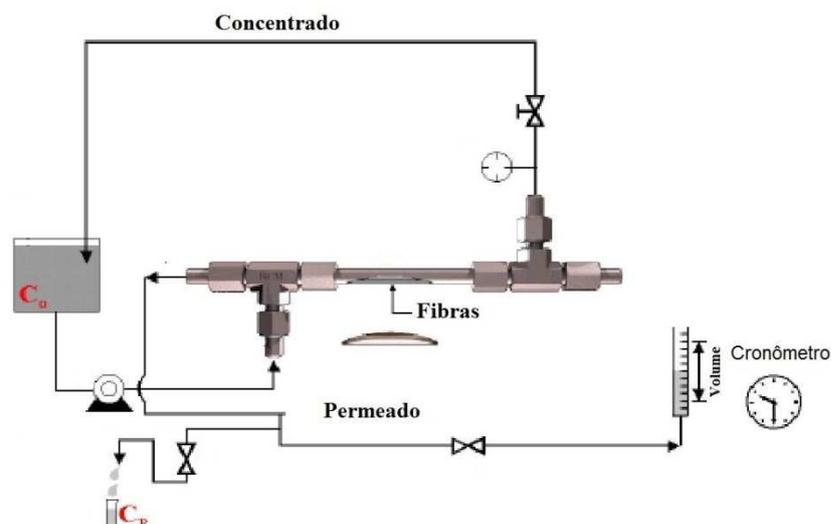
**Figura 3.10:** Detalhe da seção transversal cortada, mostrando as fibras ocas fixadas pela resina epóxi do tipo Araldite®.

Depois de confeccionados, os módulos eram conectados ao sistema de permeação, em um equipamento apresentado na Figura 3.11 e esquematizado na Figura 3.12. Assim, a alimentação era bombeada pela superfície externa das fibras, enquanto o permeado era recolhido pela extremidade cortada do módulo. O sistema era operado em

regime contínuo, com reciclo do concentrado, ajustando-se a diferença de pressão através da membrana utilizando uma válvula reguladora. A vazão do permeado era medida com o auxílio de uma proveta de 10 mL e a pressão de operação (alimentação) era menor ou igual a 2 bar. Os testes foram realizados à temperatura ambiente de 26°C.



**Figura 3.11:** Sistema de permeação para análise das propriedades de transporte das fibras ocas.



**Figura 3.12:** Esquema do sistema utilizado para determinação da permeabilidade hidráulica e rejeição a solutos das fibras ocas.

Para determinação da área útil de permeação, utilizou-se a Equação 3.1, sendo o comprimento útil da fibra ( $L$ ) medido conforme indicado na Figura 3.9.

$$A_{\text{útil}} = n\pi DL \quad (\text{Equação 3.1})$$

$n$  = número de fibras

$D$  = diâmetro de uma fibra

$L$  = comprimento útil de uma fibra

Para medição da permeabilidade hidráulica, inicialmente realizava-se a compactação das membranas a uma pressão de 2 bar e, em seguida, media-se o fluxo de permeado a diferentes pressões, obtendo-se a permeabilidade hidráulica através do gráfico Fluxo vs Pressão, conforme procedimento utilizado para as membranas planas. O tanque de alimentação era preenchido com água destilada, microfiltrada e desmineralizada.

Para análise do transporte dos solutos, o tanque de alimentação era preenchido com uma solução do soluto de interesse (ureia, creatinina, fosfato, vitamina B12, lisozima ou albumina), coletando-se alíquotas da alimentação e do permeado a cada 15 minutos durante o processo, até que as concentrações não mais variassem. Então, as concentrações dessas amostras eram medidas conforme metodologia descrita anteriormente, determinando-se a rejeição da membrana aos solutos. A pressão de operação, neste caso, era de 0,5 bar.

### **3.5.3. Caracterização das superfícies**

#### **3.5.3.1. Análise de espectroscopia de infravermelho (FT-IR)**

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho permite a avaliação de alterações nas amostras pela comparação das bandas de absorção, características de grupos funcionais específicos, em função do aparecimento, desaparecimento, aumento ou diminuição destas bandas, como consequência da imobilização da heparina na superfície da membrana. É uma técnica analítica que permite a identificação de compostos orgânicos, inorgânicos e poliméricos, por meio das absorções características de grupos funcionais específicos. Para análise qualitativa, a interpretação de um

espectro IR é feita com base na posição, formato da banda, comparação de espectros encontrados na literatura disponível e histórico da amostra (PANZARINI, 2003).

As membranas planas foram caracterizadas quanto à estrutura química, antes e depois da imobilização de heparina, por espectroscopia de infravermelho de refletância total atenuada (FT-IR/ATR), utilizando-se o espectrômetro da marca PerkinElmer, modelo Spectrum 100.

A região analisada foi entre 500 e 4000  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando 16 varreduras para cada amostra, que foram colocadas sob o cristal em apenas um lado.

### 3.5.3.2. Ângulo de contato

A tendência de um líquido em molhar uma superfície sólida é chamada molhabilidade e pode ser representada pelo ângulo entre o contorno da superfície da gota e a interface sólido/líquido, o qual é chamado ângulo de contato ( $\theta$ ). Este é medido através do balanço entre as tensões superficiais sólido-vapor, sólido-líquido e líquido-vapor, em condições de equilíbrio termodinâmico, segundo a equação de *Young-Duprè* (Equação 3.2), através da qual infere-se que se  $\theta \geq 90^\circ$ , o sistema é dito não-molhável, enquanto que se  $\theta \leq 90^\circ$ , o sistema é dito molhável.

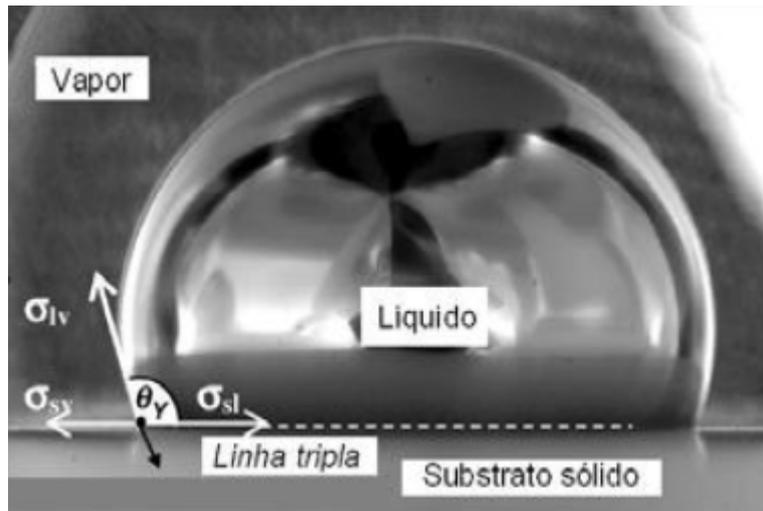
$$\sigma_{SV} - \sigma_{SL} = \sigma_{LV} \cos \theta \quad (\text{Equação 3.2})$$

$\sigma_{SV}$  = tensão superficial sólido-vapor

$\sigma_{SL}$  = tensão superficial sólido-líquido

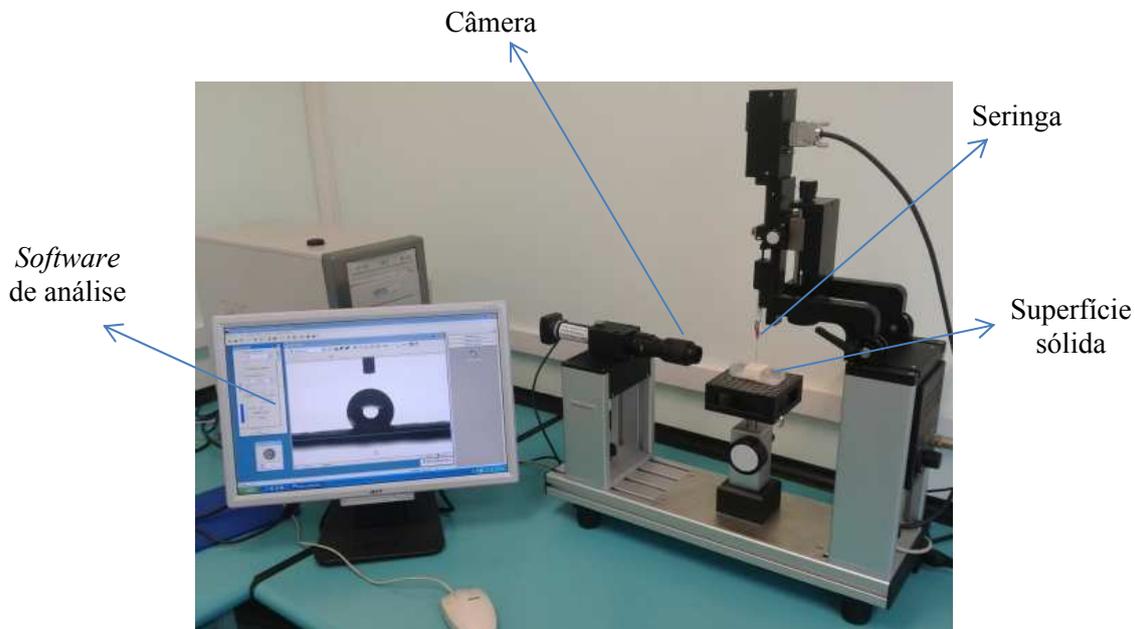
$\sigma_{LV}$  = tensão superficial líquido-vapor

O grau de molhabilidade em um sistema não reativo pode ser medido pelo ângulo de contato ( $\theta$ ) formado na linha tríplice, através da técnica de *sessile drop* (gota sésil ou gota de equilíbrio), conforme apresentado na Figura 3.13 (PEREIRA, 2012).



**Figura 3.13:** Ângulo de contato: gota sésil. Fonte: SOBCZAK (2005) citado por PEREIRA (2012).

Para a medição do ângulo de contato das membranas, foi utilizado o equipamento goniômetro OCA 15EC e programa SCA 20 (Figura 3.14), fornecidos pela *Dataphysics*, o qual, através de uma seringa, gera uma gota de água perpendicularmente à superfície das membranas analisadas, com o operador regulando a distância entre a gota e a superfície (a seringa permanece imóvel, o que se movimenta é a superfície). Uma fotografia é tirada no instante do contato entre a gota e a superfície e o programa a analisa, dando como resultado uma planilha com dados dos ângulos de contato direito e esquerdo e a média destes, o erro e o volume da gota (este deve ser ajustado de modo que o diâmetro da gota não ultrapasse 10  $\mu\text{L}$ , para que os efeitos da força de gravidade possam ser desprezados). É possível, também, fazer pequenos vídeos desde o instante de contato entre a gota e a superfície, mostrando o espalhamento que ocorre nas superfícies mais hidrofílicas.



**Figura 3.14:** Goniômetro OCA 15 EC, da *Dataphysics*.

### 3.5.3.3. Testes de adsorção de proteína

A adsorção de proteínas nas membranas de hemodiálise é um problema a ser evitado, pois o sangue não deve perder proteínas importantes, como a albumina, pois a hipoalbuminemia pode causar a morte dos pacientes em tratamento. Assim, foram realizados testes de adsorção de albumina bovina com as membranas sintetizadas, antes e após a funcionalização, e com duas membranas clinicamente utilizadas no processo de hemodiálise atualmente, para comparação (*Fresenius 7 HPS* e *Xenium HF 170*). O dialisador *Xenium* (da *Baxter*), é sintetizado a partir do polímero poli(éter sulfona), enquanto o dialisador *Fresenius*, a partir do polímero polisulfona.

As isotermas de adsorção de albumina foram obtidas pelo método estático: determinada massa de membrana (aproximadamente 10 mg) foi pesada e acondicionada em tubos de vidro. Então, foram preparadas soluções de albumina bovina de diferentes concentrações (5, 10, 25 e 50 g/L), sendo adicionados 5 mL de cada uma dessas soluções aos tubos com as membranas. A concentração de albumina foi determinada inicialmente a partir da leitura das absorvâncias e correlação com a curva de calibração pré-determinada. Os tubos de vidro contendo a membrana e a solução de albumina foram levados a agitação em uma placa agitada a 130 rpm durante 6 horas (tempo previamente determinado como suficiente para se atingir o equilíbrio) a 30°C, realizando-se novamente a leitura da absorvância das soluções de albumina após o

contato com a membrana. Então, as isotermas de adsorção de albumina nas fases membrana e líquida foram obtidas através do gráfico da quantidade de albumina adsorvida por massa de membrana (g/g) *versus* a concentração de albumina em equilíbrio.

#### 3.5.3.4 Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA)

O tempo de tromboplastina parcial ativado, também conhecido como tempo de cefalina, é utilizado para avaliar o tempo de coagulação sanguínea. Corresponde ao tempo gasto para ocorrer a coagulação do plasma recalcificado em presença de cefalina (LABTEST, 2009), um fator de contato que ativa as reações da via intrínseca da coagulação.

O TTPA consiste na determinação do tempo de coagulação do plasma pobre em plaquetas (PPP) citratado, após a adição de um ativador da fase de contato da coagulação e de um reagente, a cefalina, que substitui o fosfolípido da membrana plaquetária (F<sub>3</sub>P), uma vez que se trabalha com o PPP. O último reagente a ser adicionado é o cálcio, que reverte a ação do citrato (LABTEST, 2009).

A medição do tempo de tromboplastina parcial ativada foi realizada no Laboratório de Engenharia de Cultivos Celulares (LECC/PEQ/COPPE), seguindo o procedimento operacional padrão do mesmo, de acordo com as boas práticas de laboratório. Para tanto, foi utilizado o coagulômetro, modelo BFT II, da *Dade Behring*, o qual permite a determinação do tempo de coagulação de duas amostras simultaneamente. Para este teste, inicialmente foram pesados aproximadamente 7,5 mg das membranas (antes e pós-funcionalização e membrana clínica de polisulfona), cortadas em pequenos pedaços, os quais foram colocados em cubetas específicas do teste, adicionando-se às mesmas 40 µL de água mili-Q. Após 5 minutos de contato, a água foi transferida para outra cubeta contendo um agitador magnético, adicionando-se 40 µL de plasma *unicalibrator* contendo todos os fatores de coagulação e 40 µL de cefalina. Essa mistura, então, foi incubada durante 120 s a 37 °C no coagulômetro e, em seguida, foram adicionados 40 µL de cloreto de cálcio, iniciando-se a contagem do tempo de coagulação. Quando o agitador magnético para a agitação indica-se que houve

formação de coágulo e o equipamento indica o tempo decorrido para tal. Todos os testes foram realizados em duplicata.

Todos os reagentes (cefalina, cloreto de cálcio e plasma *unicalibrator*) devem ser mantidos à temperatura de 37°C, sendo colocados no equipamento após a estabilização dessa temperatura no mesmo (a temperatura do coagulômetro sobe para 37°C automaticamente após ligá-lo e mantém-se neste valor após 15 minutos de estabilização). O coagulômetro utilizado é apresentado na Figura 3.15.



**Figura 3.15:** Coagulômetro BF II, *Dade Behring*.

#### 3.5.3.5. Adesão de plaquetas

Plaquetas sanguíneas (também chamadas trombócitos) são elementos do sangue não-nucleados, com formato de disco e com uma membrana muito frágil, presentes numa concentração média de 250.000 plaquetas/mm<sup>3</sup> de sangue. São produzidas por um hormônio, trombopoietina, e por linfócitos regulatórios agindo no nível de células-tronco.

A função das plaquetas está relacionada à coagulação do sangue e sua adesão a uma superfície exposta a um fluxo sanguíneo é a primeira e crítica reação de formação de trombo *in vivo*.

Assim, como membranas de hemodiálise entram em contato direto com o sangue, deseja-se que haja mínima adesão de plaquetas para evitar o início do processo

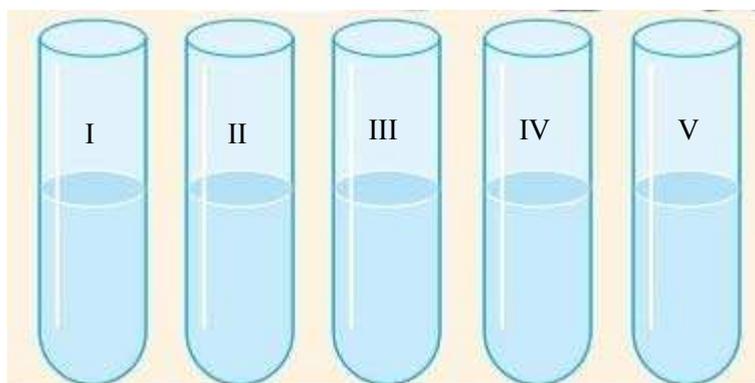
de coagulação do sangue. Para este teste, foi utilizado sangue obtido em abatedouro de frango local, coletado com solução de EDTA 5% na proporção de 1 gota dessa solução para cada 5 mL de sangue. Então, o sangue foi centrifugado por 10 min a 1000 rpm, duas vezes, utilizando a centrífuga Nova Técnica, modelo NT 810, do Núcleo de Catálise (NUCAT), separando o plasma rico em plaqueta (PRP) do plasma pobre em plaqueta (PPP). As amostras de membranas de massa conhecida (antes e pós-funcionalização com heparina e clínica de polisulfona) foram inicialmente lavadas com solução tampão fosfato salino (PBS), pH 7,4, antes de serem colocadas em contato com 10 gotas de PRP, cobrindo sua superfície, sendo assim mantidas durante 1 hora a 37 °C. Após este tempo de incubação, as amostras de membranas foram lavadas duas vezes com tampão PBS para remover plaquetas não aderidas. Uma solução 2,5% de glutaraldeído foi adicionada por 18h para fixar as plaquetas adsorvidas e, então, as amostras foram desidratadas com uma solução etanol/água a 50%, 75%, 85%, 95% e 100% por 10 minutos, em sequência. A adesão de plaquetas na superfície das membranas foi observada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) após congelamento em nitrogênio líquido, seguindo a metodologia de GAO *et al* (2014).

#### 3.5.3.6. Teste de hemólise sanguínea

A hemólise é a ruptura das hemácias, com liberação de hemoglobinas por ruptura da membrana plasmática. Pode ocorrer quando o sangue entra em contato com soluções hipotônicas, como a água, pois esta, tendo maior atividade na solução externa, difunde-se pelo interior da hemácia, provocando inchamento até a ruptura da mesma. Também é possível que ocorra hemólise quando o sangue é estocado em condições extremas de temperatura (muito altas ou muito baixas) e nos casos de coleta inadequada do sangue, pois determinados anticorpos reagem de formas diversas de acordo com a variação de temperatura.

Assim, para avaliar a ocorrência de hemólise quando em contato com as membranas sintetizadas, amostras das membranas antes e pós-funcionalização e da membrana clínica de polisulfona foram inicialmente lavadas com água deionizada por 10 minutos e com solução NaCl 0,9% por mais 10 minutos, em sequência. Para avaliação destas três membranas, foram adicionados 4 mL da solução de NaCl 0,9% a três tubos do tipo *falcon*, transferindo-se para cada um dos tubos as diferentes

membranas previamente lavadas. Os tubos foram colocados em banho de água a 37 °C durante 30 minutos. Como referência positiva, foi utilizada água ultrapura e como referência negativa, solução de NaCl 0,9%, sendo cada referência também colocada em tubos *falcon*, conforme apresentado na Figura 3.16.



**Figura 3.16:** Representação esquemática do teste de hemólise (I) Referência positiva (água) (II) Referência negativa (NaCl 0.9%) (III) Solução NaCl 0,9% + amostra membrana antes da funcionalização (IV) Solução NaCl 0,9% + amostra membrana após a funcionalização (V) Solução NaCl 0,9% + amostra membrana clínica de polisulfona.

Em seguida, foram adicionados 500  $\mu$ L de sangue a cada um dos cinco tubos, mantendo-os no banho de água a 37 °C por 1 hora. Então, as amostras foram levadas à centrifugação durante 10 minutos a 1500 rpm, (centrífuga da marca Cientec, modelo CT 4000), realizando-se a leitura da absorbância do líquido sobrenadante a 545 nm, no espectrofotômetro de UV (Jenway). O valor da absorbância dos sobrenadantes dos tubos com membranas foram comparados com os valores obtidos para os sobrenadantes das referências positiva e negativa, observando-se a ocorrência ou não de hemólise.

# CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

*Neste capítulo serão apresentados os resultados e discussões referentes à síntese e caracterização de membranas planas e do tipo fibras ocas, em relação à morfologia e propriedades de transporte (permeabilidade hidráulica e permeabilidade e rejeição a solutos). Além disso, serão apresentados os resultados da imobilização química de heparina na superfície das membranas planas, avaliando-se a eficácia desta funcionalização através da caracterização das superfícies das mesmas.*

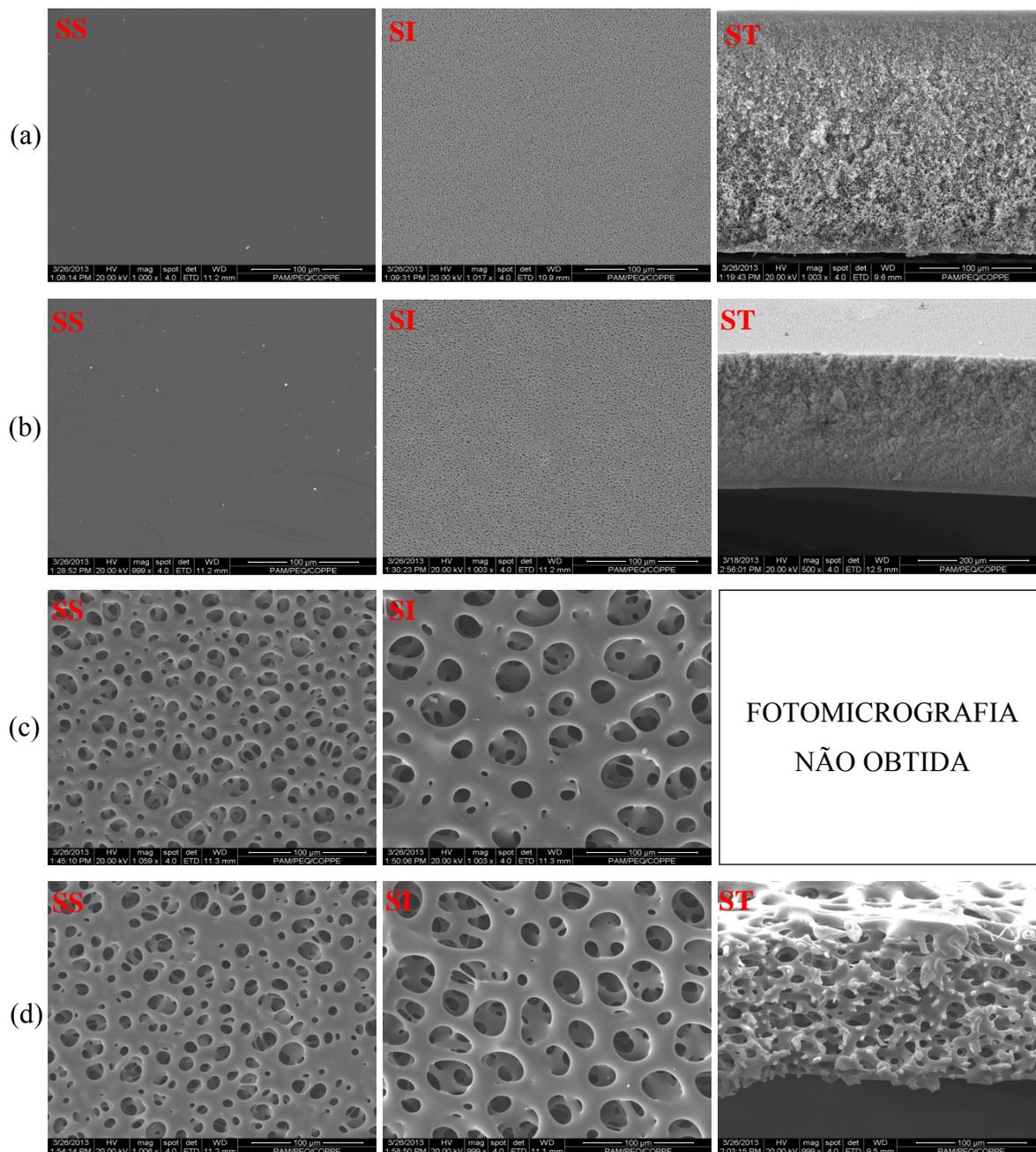
## 4.1. ANÁLISE MORFOLÓGICA

As membranas sintetizadas foram caracterizadas em relação à morfologia, através de microscopia eletrônica de varredura, observando as superfícies superiores (SS), as superfícies inferiores (SI) e as seções transversais (ST) das membranas planas, e as seções transversais (ST), o centro das seções transversais (CST) e as superfícies externas (SE) das fibras ocas.

### 4.1.1. Membranas Planas

As membranas planas foram inicialmente sintetizadas para se avaliar o efeito das condições de síntese sobre suas propriedades morfológicas e de transporte. Foram analisadas quatro quantidades diferentes de PVP (0, 3, 5 e 10%) na solução polimérica base com 15% de PEI e NMP e quatro tempos de exposição ao ar (0, 1, 10 e 30 minutos) antes da imersão em banho coagulante.

Inicialmente, será discutido o efeito do tempo de exposição ao ar sobre a morfologia das membranas planas sintetizadas, utilizando como base as membranas sintetizadas a partir da solução polimérica PEI/PVP/NMP (15%/10%/75%*m/m*). As fotomicrografias obtidas são apresentadas na Figura 4.1.



**Figura 4.1:** Fotomicrografias das membranas planas sintetizadas a partir da solução PEI/PVP/NMP (15/10/75%*m/m*) em diferentes tempos de exposição, (a) 0 s; (b) 1 min; (c) 10 min e (d) 30 min.

Nas fotomicrografias da Figura 4.1, podemos observar um aumento no tamanho e quantidade dos poros com o aumento do tempo de exposição ao ar, pois o NMP é um solvente pouco volátil e higroscópico, e permite a absorção de água do ambiente. Segundo MULDER (1991), esta composição da solução polimérica está próxima da instabilidade termodinâmica, sendo o equilíbrio prematuramente perturbado, mesmo antes da imersão no banho de precipitação. Então, a camada superficial entra na região

metaestável de solubilidade, observando-se nucleação da fase pobre em polímero, que cresce simultaneamente com a quantidade de água absorvida. Este mecanismo é explicado através de um diagrama ternário, conforme apresentado no Capítulo 2.

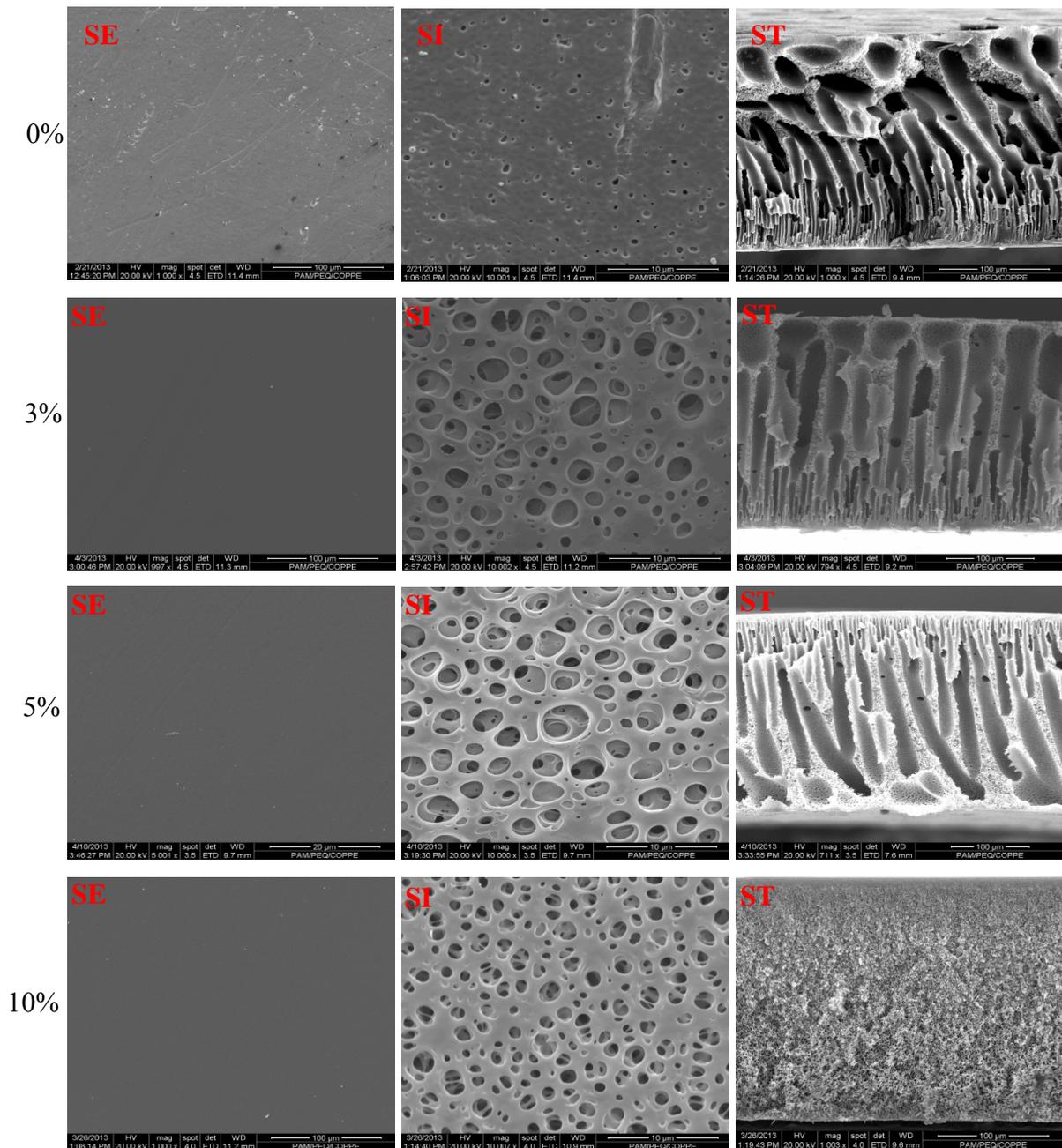
Quando da imersão imediata da solução dentro do banho, a superfície densa observada na região superior é devida à saída brusca do solvente para o banho de precipitação. Como essa região é altamente concentrada em polímero, acaba por ser mais fechada em relação às demais membranas, com tempos de exposição superiores. Nestas condições de precipitação, a formação de macrovazios é favorecida, porém estes não foram observados em função da baixa miscibilidade do sistema (BENTES, 2005). Foi observada, também, alta interconectividade de poros, que pode estar relacionada à presença de PVP na solução polimérica.

Observa-se também uma similaridade entre as morfologias com tempos de exposição de 1 minuto e sem tempo de exposição, que deram origem a membranas isotrópicas densas. Da mesma forma, com 10 minutos e com 30 minutos de tempo de exposição, as morfologias também são similares, produzindo membranas porosas, mostrando que após 10 minutos o tempo de exposição não tem mais efeito significativo sobre a morfologia da membrana. Pode haver uma diferença de tamanho de poros na superfície, entre as regiões espalhadas no início e no final, pois a primeira região tende a ficar exposta ao ambiente por mais tempo, devido ao procedimento de espalhamento.

O efeito da composição da solução polimérica em relação à quantidade do aditivo PVP pode ser observado na Figura 4.2, em que todas as fotomicrografias referem-se a membranas sintetizadas com tempo de exposição zero.

Observam-se nas fotomicrografias da Figura 4.2, que a adição de PVP favoreceu a formação de poros, pois estes foram observados em maior quantidade e tamanho nas superfícies inferiores das membranas sintetizadas a partir de soluções poliméricas contendo este aditivo. Além disso, a adição de maior quantidade de PVP levou a formação de poros mais interconectados e a morfologias com menor quantidade de macrovazios. A formação de macrovazios, nestes casos, é favorecida pela elevada taxa de transferência de massa nos instantes iniciais da imersão, conforme mencionado anteriormente. O PVP atua de forma a promover uma aproximação dos sistemas da

região onde ocorre a separação de fases, reduzindo a resistência oferecida pela interface filme/banho para a precipitação das subcamadas, explicando o menor número de macrovazios formados na membrana formada a partir da solução polimérica contendo 10% de PVP, mesmo com a brusca saída de solvente para o banho de não solvente. Com tempos de exposição mais elevados (10 minutos), nenhuma das membranas sintetizadas com PVP apresentou macrovazios.



**Figura 4.2:** Fotomicrografias das membranas planas sintetizadas a partir de soluções poliméricas com diferentes concentrações em relação ao aditivo PVP.

#### 4.1.2. Fibras ocas

As fibras ocas foram sintetizadas porque a hemodiálise clínica utiliza módulos nesta configuração. Foram avaliados os efeitos da composição de solução polimérica em relação à quantidade do polímero PEI e do aditivo PVP e da composição do líquido interno nas características morfológicas das fibras ocas sintetizadas. Foram realizadas quatro condições de fiação, mantendo-se fixos a vazão de solução polimérica e o banho externo de precipitação, com variação mínima do tempo de exposição ao ar, definido pela distância extrusora-banho (DEB) e pela velocidade de fiação.

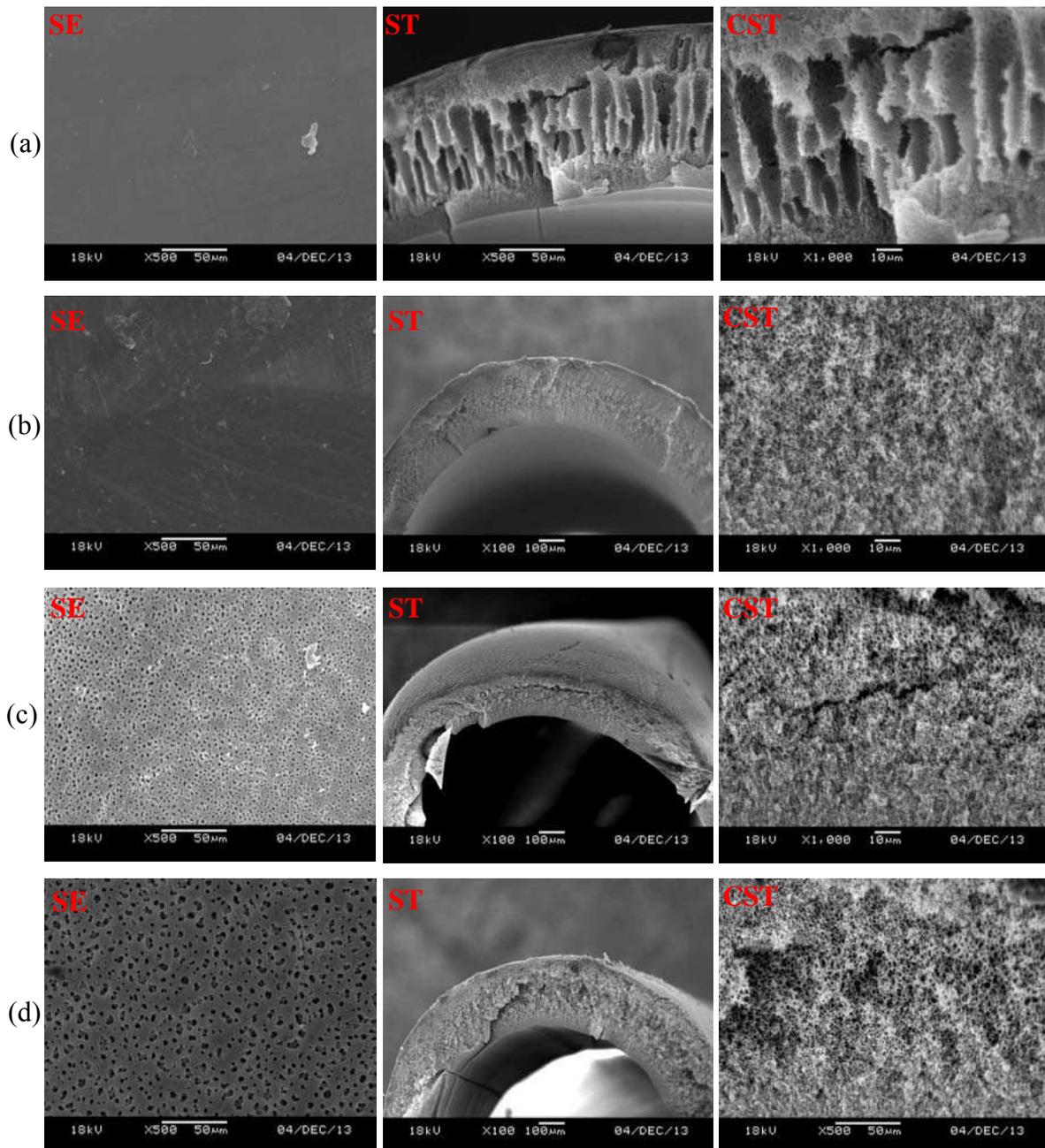
As diferentes condições de síntese das fibras ocas, bem como a nomenclatura adotada para cada condição são apresentadas na Tabela 4.1.

**Tabela 4.1:** Nomenclatura dada para as fibras ocas sintetizadas e respectivas variáveis de síntese.

Nomenclatura	PEI (%)	PVP (%)	Líquido interno
F1505	15	5	Água
F1510	15	10	Água
F1210A	12	10	Água
F1210AN	12	10	Água/NMP (4:1)

A Figura 4.3 apresenta as fotomicrografias das fibras ocas sintetizadas, após secagem através do procedimento de troca de não solventes.

Inicialmente, será discutido o efeito da quantidade de PVP na solução polimérica que deu origem à fibra. A análise das Figuras 4.3 (a) e (b) mostra que o principal efeito morfológico do aumento da quantidade de PVP é a inibição da formação de macrovazios. O mesmo efeito foi observado no trabalho de Bentes (2005) e pode ser explicado pela diminuição da região de miscibilidade do sistema em função do aumento da concentração do PVP. A fibra extrusada torna-se mais sensível a perturbações proporcionadas pela entrada de água, impedindo o crescimento dos núcleos da fase diluída em polímero e, como consequência, há o desfavorecimento da formação de macrovazios.



**Figura 4.3:** Fotomicrografias das membranas do tipo fibras ocas em diferentes condições de síntese: (a) F1505; (b) F1510; (c) F1210A; (d) F1210AN.

Em relação à concentração de polímero na solução polimérica de síntese, observa-se pelas Figuras 4.3 (b) e (c) que a diminuição da quantidade de PEI favorece a formação de poros na superfície externa das fibras e a formação de uma fina pele densa na superfície interna. De fato, a redução da concentração de polímero na solução polimérica resulta em uma menor concentração de polímero na interface filme/banho de precipitação. Isto implica que a fração volumétrica de polímero diminui e, como consequência, obtém-se uma maior porosidade (MULDER, 1991), pois se diminuem as

resistências ao transporte difusivo de solvente e de não solvente entre as fases envolvidas no processo.

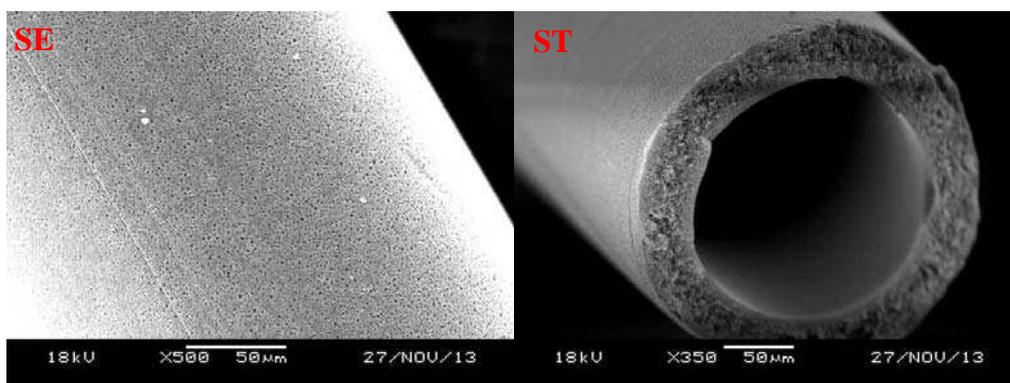
A composição do líquido interno também influencia a morfologia da superfície interna, da seção transversal, e até mesmo da superfície externa das fibras ocas, atuando similarmente ao banho de coagulação utilizado na síntese de membranas planas. Nas Figuras 4.3 (c) e (d), pode-se observar que a morfologia das membranas não foi significativamente modificada pela mudança do líquido interno de água pura para uma mistura de água e do solvente NMP, a uma proporção de 4:1 (v/v), respectivamente. As fibras preparadas a partir da solução polimérica PEI/PVP/NMP (12/10/78%*m/m*) utilizando água microfiltrada como líquido interno apresentaram uma superfície interna composta por uma pele densa e superfície externa porosa, indicando uma estrutura anisotrópica. Segundo Bentes (2005), quando a fibra entra em contato com o líquido interno na saída da extrusora, o solvente é perdido rapidamente, devido à diferença de potencial químico entre os dois meios extrusados simultaneamente, que é máxima, pois no líquido interno apenas o não solvente está presente. Devido ao rápido processo de transferência de massa, a precipitação do lado interno do filme inicia-se instantaneamente, formando uma camada interfacial concentrada em polímero. Morfologia similar pode ser observada nas membranas planas sintetizadas a partir da solução polimérica composta de PEI/PVP/NMP com tempos de exposição curtos, conforme foi observado nas Figuras 4.2 (b), (c) e (d).

Mesmo com menores taxas de precipitação no líquido interno, quando da adição do não solvente NMP, continua a ter formação de pele interna densa e superfície externa porosa, em função da chegada de NMP na superfície externa do filme durante o tempo de exposição, resultando na similaridade de morfologia obtida.

Conforme mencionado anteriormente, não foi observada formação de macrovazios em nenhuma das fibras sintetizadas com 10% de PVP na solução polimérica, mesmo com a tendência para isto devido à resistência adicional à difusão do solvente e do não solvente nas camadas mais externas do filme, em consequência da rápida precipitação na interface do líquido interno e do filme, pois o sistema possui baixa miscibilidade. Em função disto e das altas taxas de transferência de massa, a frente de precipitação interna atinge o lado exterior do filme antes de haver a imersão no

banho externo de precipitação, levando à obtenção da superfície externa porosa, devido à chegada de não solvente nas camadas externas do filme, mantendo baixa a concentração de polímero nessa região.

É interessante salientar que a morfologia apresentada pelas fibras ocas F1210A e F1210AN são similares às morfologias das membranas comerciais de hemodiálise, conforme pode ser observado na Figura 4.4, que apresenta a morfologia da membrana do dialisador *Xenium* HF 170.



**Figura 4.4:** Fotomicrografias da membrana clínica de poli(éter sulfona).

## 4.2. PROPRIEDADES DE TRANSPORTE

### 4.2.1. Membranas Planas

Foram determinadas as permeabilidades hidráulicas das membranas planas sintetizadas sem tempo de exposição ao ar e a partir das soluções poliméricas de diferentes composições em relação à quantidade do aditivo PVP. A análise foi realizada no equipamento descrito da Figura 3.7.

Após a medição da permeabilidade hidráulica, foi selecionada uma membrana, dentre as sintetizadas, para realizar as demais caracterizações: permeabilidade e rejeições de determinados solutos e caracterizações superficiais.

#### 4.2.1.1. Permeabilidade hidráulica

As membranas mais fechadas, como aquela sintetizada sem a presença de PVP não apresentaram fluxo de permeado mesmo após muito tempo de operação e, desta forma, foram descartadas. Já as membranas com grande quantidade de PVP (10%) apresentaram uma permeabilidade elevada ( $> 150 \text{ L/h.m}^2\text{bar}$ ), em todos os tempos de exposição, devido à sua porosidade elevada, com poros bastante interconectados, conforme verificado na Figura 4.1.

A medição da permeabilidade hidráulica propriamente dita foi realizada para as membranas sintetizadas a partir das soluções poliméricas compostas por 3% e 5% de PVP, sem tempo de exposição ao ar, sendo determinados os valores  $34,72 \text{ L/h.m}^2\text{bar}$  e  $44,31 \text{ L/h.m}^2\text{bar}$ , respectivamente, a  $26^\circ\text{C}$ .

FICHEUX *et al* (2010) determinaram os coeficientes de ultrafiltração (parâmetro comparável com a permeabilidade hidráulica, no caso da hemodiálise) de dialisadores de alto fluxo e observaram valores variando de 44 a 47 mL/h.mmHg (ou seja, de 33 a 35 L/h.bar) para as membranas analisadas. Coeficientes de ultrafiltração de membranas comerciais da *Fresenius*, de alto fluxo, apresentam-se na faixa de 30 – 55 mL/h.mmHg (22,56 – 41,35 L/h.bar).

Membranas com maiores permeabilidades hidráulicas também são encontradas em dialisadores mais recentes, como a DIAPES<sup>®</sup> HF800, feita do polímero poli(éter sulfona), que possui coeficiente de ultrafiltração de 80 mL/h.mmHg (60,15 L/h.bar) e, mais recentemente, a XEVONTA HI 2.3, feita do polímero polisulfona, cujo coeficiente de ultrafiltração chega a 124 mL/h.mmHg (93,23 L/h.bar).

Observa-se que o coeficiente de ultrafiltração ( $K_{uf}$ ), conforme definido no Capítulo 2, é um parâmetro que independe da área da membrana, enquanto as permeabilidades hidráulicas dependem da área da membrana. Entretanto, a comparação entre estes dois parâmetros é possível, conforme observado no trabalho de KEE e IDRIS (2010), que avaliaram o coeficiente de ultrafiltração de membranas de acetato de celulose, glutamato monossódico e ácido fórmico, obtendo membranas de com coeficientes de filtração na faixa de  $0,09 \pm 0,02 \text{ L/h.m}^2\text{bar}$  a  $44,86 \pm 2,14 \text{ L/h.m}^2\text{bar}$ ,

sendo estas últimas classificadas como membranas de alto fluxo, segundo a classificação de KEEN *et al* (1995) citado por KEE E IDRIS (2010). Segundo esta classificação, membranas de baixo fluxo são aquelas com coeficientes de ultrafiltração menores que 5,3 L/h.bar, enquanto membranas de alto fluxo são aquelas com coeficientes de ultrafiltração maiores que 11,3 L/h.bar.

Da mesma forma, as membranas sintetizadas neste trabalho, segundo a classificação de KEEN *et al* (1995) citada acima, são consideradas de alto fluxo.

#### 4.2.1.2. Permeabilidade difusiva dos solutos

A determinação da permeabilidade a solutos de baixa massa molar (ureia, creatinina e fosfato) foi realizada numa célula de diálise, conforme visto na Figura 3.8. Os experimentos foram realizados durante 3 horas, a 26°C, e a área de membrana utilizada foi de 28,27 cm<sup>2</sup>, coletando-se amostras de ambos os compartimentos para verificação de sua concentração ao longo do tempo. A permeabilidade aos solutos foi calculada com base na Equação 2.9 e os valores encontrados são apresentados na Tabela 4.2.

**Tabela 4.2:** Permeabilidades aos solutos de baixa massa molecular para as membranas sintetizadas a partir das soluções poliméricas compostas por 3 e 5% de PVP.

Solute	Permeabilidade (cm/s) x 10 <sup>4</sup>	
	Membrana 3% PVP	Membrana 5% PVP
Ureia	1,59	2,46
Creatinina	0,93	1,60
Fosfato	1,37	1,45

Observa-se que os valores encontrados de permeabilidade, para as membranas compostas por 5% PVP diminuem com o aumento da massa molecular do soluto, enquanto as membranas compostas por 3% de PVP apresentam uma diferença apenas para a creatinina, com permeabilidade menor que a de fosfato. Também é possível observar que, em geral, há uma pequena diferença entre as membranas, sendo aquela com mais PVP a que possui maiores valores de permeabilidade aos solutos.

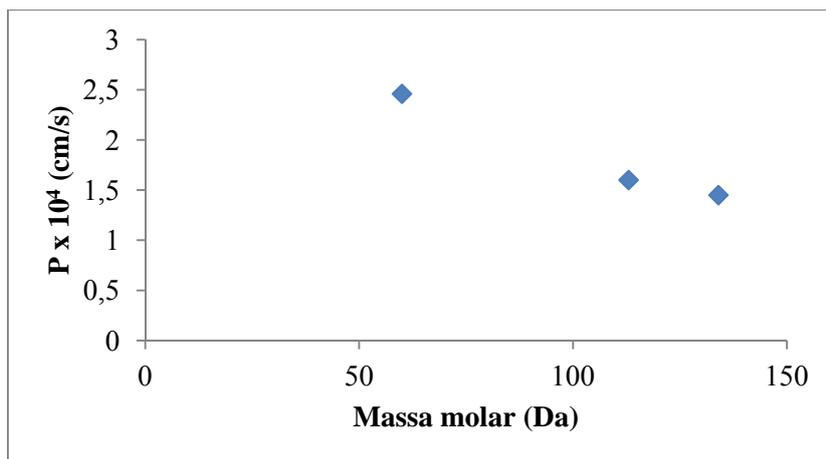
Através da morfologia dessas membranas, era possível prever que haveria transporte dos solutos, devido à porosidade apresentada pelas mesmas. Sendo pequena a diferença entre as morfologias, esperava-se, também, que as diferenças de permeabilidades aos solutos fossem pequenas, assim como foi para a permeabilidade hidráulica.

KEE e IDRIS (2010) sintetizaram membranas a partir de soluções contendo acetato de celulose, glutamato monossódico (GMS) e ácido fórmico, visando à sua utilização em hemodiálise, e dentre as análises por eles realizadas, eles calcularam as permeabilidades de ureia e creatinina nas membranas. Eles observaram que as permeabilidades de ureia e de creatinina cresceram quando a concentração de GMS aumentou, mas a partir de uma determinada concentração de GMS, seu aumento não alterava significativamente a permeabilidade difusiva. Os melhores valores de permeabilidade difusiva obtidos para a ureia  $156,67 \pm 12,55 \times 10^{-4}$  cm/min ( $2,61 \pm 0,21$  cm/s) e  $84,15 \pm 5,67 \times 10^{-4}$  cm/min ( $1,40 \pm 0,09 \times 10^{-4}$  cm/s) para a creatinina são comparáveis aos obtidos nesta dissertação.

SEITA *et al* (1997), por sua vez, avaliaram condições de síntese de membranas de *nylon* segmentado de poli(óxido de propileno) e poli(óxido de tetrametileno), para uso em hemodiálise, e obtiveram uma permeabilidade difusiva de ureia máxima de  $7 \times 10^{-5}$  cm/s, valor ligeiramente inferior ao obtido nesta dissertação. Como comparação, eles calcularam o valor da permeabilidade difusiva a ureia de membranas de celulose regenerada, obtendo-se  $1,67 \times 10^{-4}$  cm/s, comparável ao obtido neste trabalho.

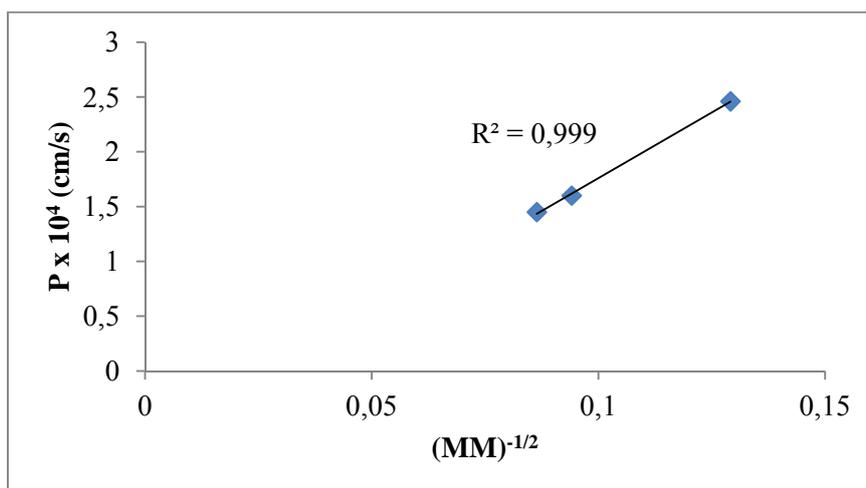
SANTOS (1988) sintetizou membranas de acetato de celulose, avaliando suas propriedades de transporte, para aplicação das mesmas em rim artificial. A autora obteve membranas com permeabilidades difusivas à ureia de  $1,5$  a  $3,0 \times 10^{-4}$  cm/s. Também foi realizada uma correlação entre a permeabilidade difusiva e a massa molar dos solutos, observando uma dependência não linear, chegando-se a anular a permeabilidade para a massa molar de 69.000 Da.

Realizando esta correlação para os dados dessa dissertação, observamos através da Figura 4.5, comportamento similar ao encontrado no trabalho acima citado na faixa dos solutos de baixa massa molar.



**Figura 4.5:** Correlação entre a permeabilidade difusiva e a massa molar dos solutos, para a membrana sintetizada com 5% de PVP.

Outra correlação interessante verificada no trabalho de Santos (1988) foi a realizada entre a permeabilidade difusiva dos solutos e o inverso da raiz quadrada da massa molar dos mesmos. No trabalho de SANTOS (1988), foi obtida uma boa correlação linear e este comportamento está relacionado a um mecanismo de transporte em poros, por analogia a difusão de gases em microporos (CRAIG, 1996 citado por SANTOS, 1988). Realizando esta correlação para os dados dessa dissertação, observamos um comportamento similar aos obtidos nos trabalhos acima citados, conforme apresentado na Figura 4.6.



**Figura 4.6:** Correlação entre a permeabilidade difusiva e a raiz quadrada do inverso da massa molar ( $MM^{-1/2}$ ), em daltos (Da), para a membrana sintetizada com 5% de PVP.

#### 4.2.1.3. Coeficiente de rejeição aos solutos

Para avaliar o potencial desempenho das membranas em relação às espécies de massa molar média (faixa entre 500 e 15.000 Da), foram determinados os coeficientes de rejeição aos solutos representativos desta faixa de tamanho molar, a 26°C. Os testes de rejeição aos solutos em condições de ultrafiltração foram realizados com as membranas sintetizadas a partir da solução polimérica PEI/PVP/NMP (15/5/80% m/m), sem tempo de exposição ao ar. Os resultados obtidos para vitamina B12, lisozima (modelo para a  $\beta_2$ -microglobulina, pois possuem massas moleculares similares) e albumina são apresentados na Tabela 4.3.

**Tabela 4.3:** Rejeição aos solutos de média e alta massa molar (26°C; 0,25 bar).

Soluto	Coeficiente de rejeição (%)	Massa Molar (kDa)
<b>Vitamina B12</b>	5,9	1,4
<b>Lisozima</b>	89,0	14,3
<b>Albumina</b>	99,0	66,0

Observa-se, como esperado, um aumento do coeficiente de rejeição com o aumento da massa molar do soluto, e a membrana parecer ter um limite de exclusão menor que 10 kDa. Ou seja, moléculas de massas moleculares maiores que este valor, como a lisozima, não permeiam.

GAO *et al* (2014) produziu membranas de poli(ácido láctico) (PLA) com superfície modificada com heparina, visando seu uso em hemodiálise. Os autores testaram as membranas em relação à rejeição de lisozima e de albumina e obtiveram rejeições de 86,3% da membrana sem modificação e 81,5% da membrana com heparina em sua superfície e de 93,7% e 90,8% de rejeição de albumina para as membranas sem modificação e com modificação, respectivamente, observando-se valores ainda altos de rejeição, comparáveis com os obtidos nesta dissertação.

No trabalho de SANTOS (1988) com acetato de celulose, também foram realizados testes de rejeição a ureia, dextrina (massa molar de 10.300 Da) e albumina, verificando-se que a rejeição para ureia foi nula, para a dextrina foi 71% e para a albumina, 98%. Comparando com uma membrana comercial também de acetato de

celulose, os autores observaram resultados similares, com rejeição nula para ureia, de 80% para dextrina e de 98% para albumina.

O balanço entre a rejeição de moléculas de massa molar média e a perda de albumina continua a ser um desafio, tanto para a membrana de PEI aqui sintetizada, como para boa parte das membranas comerciais, conforme foi verificado por AHRENHOLZ *et al* (2004), que, em seu trabalho, analisou diversas membranas de dialisadores de alto fluxo quanto à rejeição de  $\beta_2$ -microglobulina e à perda de albumina e verificou que apenas dois tipos de membranas alcançaram o balanço desejado para estes dois solutos.

#### **4.2.2. Fibras ocas**

Foram medidas as permeabilidades hidráulicas e as rejeições aos solutos dos principais solutos envolvidos no processo de hemodiálise, verificando o efeito da variação da concentração de polímero e de aditivo na solução polimérica e da composição do líquido interno utilizado nos resultados obtidos.

##### **4.2.2.1. Permeabilidade hidráulica**

A permeabilidade hidráulica das membranas foi medida a 26°C, utilizando água microfiltrada e o sistema mostrado na Figura 3.11. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.4, na qual foram adicionados resultados de membranas comerciais (Xenium HF 170 e Fresenius 7 HPS) e mais uma membrana, similar à F1210AN, porém que foi seca não através do processo de troca de não-solventes, mas pela imersão em solução de glicerol em água (1:10), denominada de F1210ANG.

**Tabela 4.4:** Permeabilidades hidráulicas das fibras ocas sintetizadas e de fibras comerciais de hemodiálise para comparação, a 26°C.

<b>Membrana</b>	<b>Permeabilidade hidráulica (L/h.m<sup>2</sup>bar)</b>
F1505	1,72 ± 0,23
F1510	1,66 ± 0,08
F1210A	3,5
F1210AN	2,21
F1210ANG	9,54
Clínica de Polisulfona	8,78
Clínica de Poli(éter sulfona)	62,43

Da observação dos dados da Tabela 4.4, podemos verificar que o aumento na quantidade de PVP na solução polimérica não resultou em mudança significativa nos valores de permeabilidade hidráulica, havendo prevalência da resistência ao transporte oferecida pelas camadas internas densificadas. A diminuição da quantidade de poli(éter imida) na solução polimérica, por sua vez, levou ao aumento da permeabilidade hidráulica, o que está em conformidade com a morfologia das mesmas, que tornou-se mais porosa.

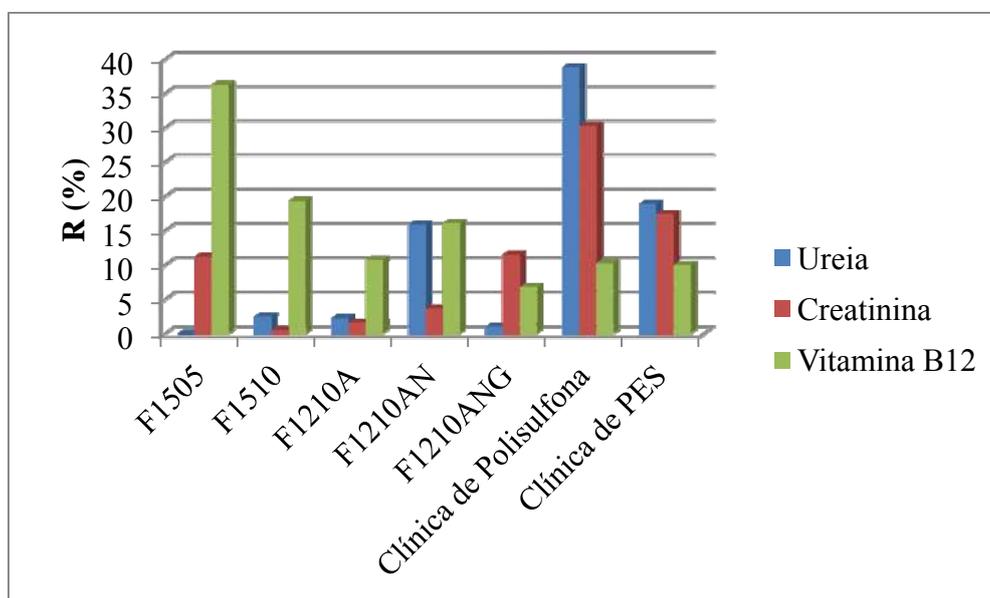
Conforme visto anteriormente, a morfologia das membranas pouco modificou com a composição do líquido interno. A permeabilidade hidráulica, por sua vez, apresentou uma ligeira diminuição quando o líquido interno possuía em sua composição o solvente NMP. Entretanto, de modo geral, todas as membranas sintetizadas apresentaram baixos valores de permeabilidade hidráulica, o que pode ter sido causado pelas altas concentrações de PVP na solução polimérica, que pode fazer com que haja retenção desse polímero na matriz polimérica da fibra formada. Neste caso, na presença de água, o PVP residual levaria a um inchamento da fibra e conseqüente redução da interconectividade dos poros da mesma, aumentando a resistência ao transporte (ROESINK, 1989; BORGES, 1993; DI LUCCIO, 1997 citados por CARVALHO, 2005). O único caso que difere é da fibra que foi seca após sua imersão em solução de glicerol, pois mesmo após a secagem, este permanece na matriz polimérica, dificultando a contração capilar dos poros menores.

Todas as fibras analisadas, mesmo a que apresentou maior permeabilidade hidráulica, estariam classificadas como membranas de hemodiálise de baixo fluxo, com valores comparáveis com o da membrana clínica de polisulfona.

#### 4.2.2.2. Rejeição a solutos

O teste de rejeição a solutos foi realizado para verificar a adequabilidade das fibras ao processo de hemodiálise, em relação à passagem de ureia, creatinina, vitamina B12, lisozima e albumina através das mesmas. Serão discutidos inicialmente os resultados obtidos para os três solutos de menor massa molecular (ureia, creatinina e vitamina B12), seguindo-se os resultados para aqueles considerados de maior massa molecular (lisozima e albumina), que configuram uma das limitações no processo de hemodiálise. Os testes foram realizados à temperatura ambiente (26°C).

Na Figura 4.7, são apresentadas as rejeições das fibras sintetizadas observadas para os solutos de menor massa molecular. Nela, também são mostradas as rejeições obtidas para membranas clínicas de polisulfona e de poli(éter sulfona) (PES).

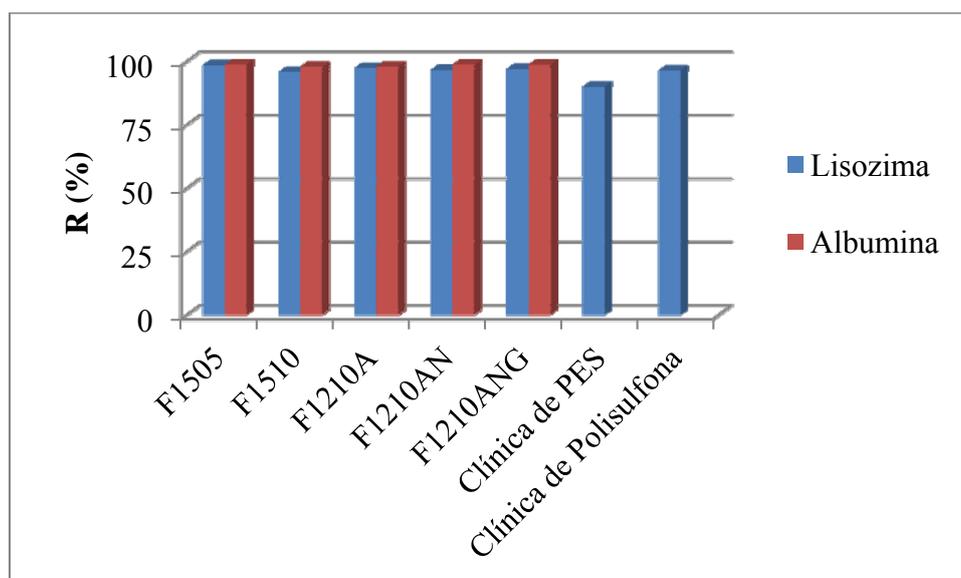


**Figura 4.7:** Rejeição das fibras aos solutos de menor massa molar, a 26°C.

Observa-se da Figura 4.7 que foi possível obter uma gama interessante de propriedades de transporte e que permite projetar membranas para determinados desempenhos. As rejeições obtidas são relativamente baixas e pode-se dizer que

coerentes em relação à massa molar de cada soluto, que aumenta na sequência ureia < creatinina < vitamina B12. Neste caso, esperar-se-ia que a rejeição à ureia fosse a menor, o que foi observado exceto para a membrana F1210AN e para as comerciais. Isso pode indicar que está ocorrendo precipitação da ureia na superfície das membranas, o que já foi observado previamente em outras pesquisas realizadas no Laboratório de Processos com Membranas (PAM). Nota-se que as fibras sintetizadas, apesar dos baixos valores de permeabilidade hidráulica encontrados, possuem rejeições a solutos de baixa massa molar comparáveis com as membranas comerciais, inclusive membranas de alto fluxo, como é o caso da membrana clínica de poli(éter sulfona).

No caso das moléculas de média e alta massa molar, os resultados obtidos são apresentados na Figura 4.8. Observa-se que todas as membranas sintetizadas apresentam alta rejeição tanto de lisozima (massa molar próxima a da  $\beta_2$  – microglobulina) quanto de albumina, não sendo identificada uma membrana, dentre as sintetizadas, com baixa rejeição de lisozima e alta rejeição de albumina, como desejado, pois evitaria perdas de importantes proteínas do sangue durante a hemodiálise. Os valores de rejeição foram comparáveis com os valores obtidos para membranas comerciais de baixo fluxo (polisulfona), em relação à lisozima. A membrana comercial de alto fluxo testada (PES) apresenta rejeição um pouco menor de lisozima, porém ainda elevada para a hemodiálise (90%).



**Figura 4.8:** Rejeição aos solutos de média e alta massa molar, a 26°C.

AHRENHOLZ *et al* (2004) investigaram diversos dialisadores considerados de alto fluxo, os quais utilizavam membranas de diferentes permeabilidades, com o objetivo de comparar a capacidade dos mesmos em eliminar solutos urêmicos maiores, utilizando a  $\beta_2$  – microglobulina como representante dos solutos de média massa molar, sem causar perdas significativas de importantes proteínas do sangue, como a albumina. Os autores observaram uma redução de até 50% de albumina nos primeiros 30 minutos do tratamento por diálise e a perda de albumina aumentou exponencialmente com o aumento das taxas de ultrafiltração e da pressão através da membrana. Em relação à remoção de  $\beta_2$  – microglobulina, os dialisadores analisados foram classificados em baixos, médios e altos removedores de moléculas de média massa molar, caso as taxas de remoção fossem menores que 50%, entre 50% e 70% ou maiores que 70%, respectivamente. A maioria das membranas analisadas mostrou baixa perda de albumina combinada à baixa remoção de  $\beta_2$  – microglobulina, ou alta remoção de  $\beta_2$  – microglobulina, porém perdas de albumina relativamente altas, observando apenas dois dialisadores que foram completamente eficazes em manter o balanço desejado de remoção de moléculas de média massa molecular e perda de importantes proteínas do sangue.

#### 4.3. IMOBILIZAÇÃO DE HEPARINA

A imobilização de heparina foi realizada na superfície das membranas planas de poli(éter imida), sintetizadas a partir da solução polimérica composta por PEI/PVP/NMP (15/5/80% m/m) e avaliada em função da quantidade de heparina na solução inicial de imobilização (tampão citrato + EDC + heparina). Não foi realizada heparinização das fibras ocas.

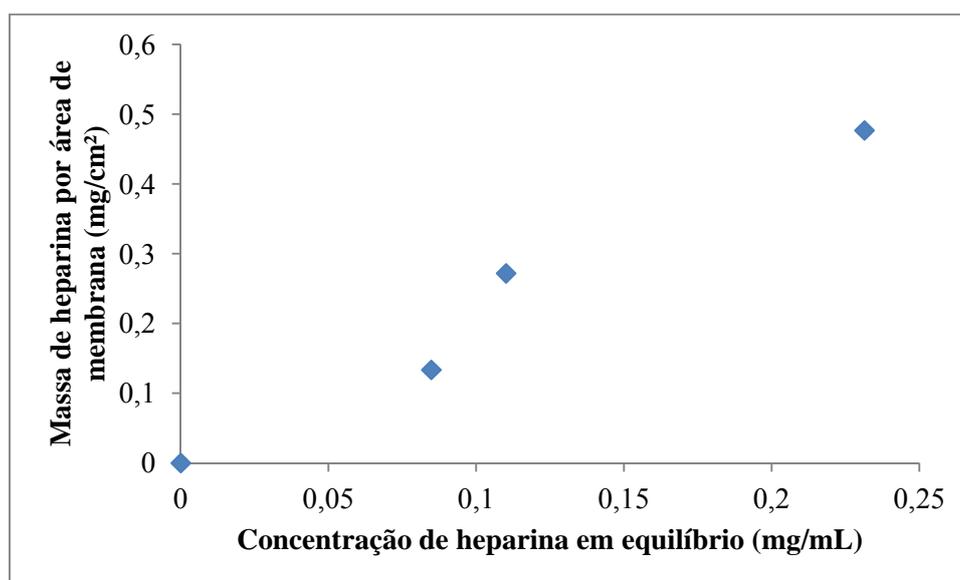
Os resultados obtidos em relação à quantidade de heparina imobilizada, para as diferentes concentrações da solução inicial de imobilização, são apresentados na Tabela 4.5.

**Tabela 4.5:** Imobilização de heparina na superfície das membranas.

Heparina na solução inicial (mg)	Heparina imobilizada na membrana (mg/cm <sup>2</sup> )
5,0	0,134 ± 0,005
7,5	0,272
10,0	0,477

\*Erro calculado apenas para este ponto, a partir do desvio padrão da média de três experimentos.

A partir destes dados, foi possível obter a isoterma de adsorção da heparina (a 4°C) na membrana (Figura 4.9), a qual mostra o aumento da quantidade de heparina imobilizada na superfície da membrana com o aumento da concentração da solução inicial de imobilização.



**Figura 4.9:** Isoterma de adsorção da reação de imobilização de heparina em PEI a 4°C.

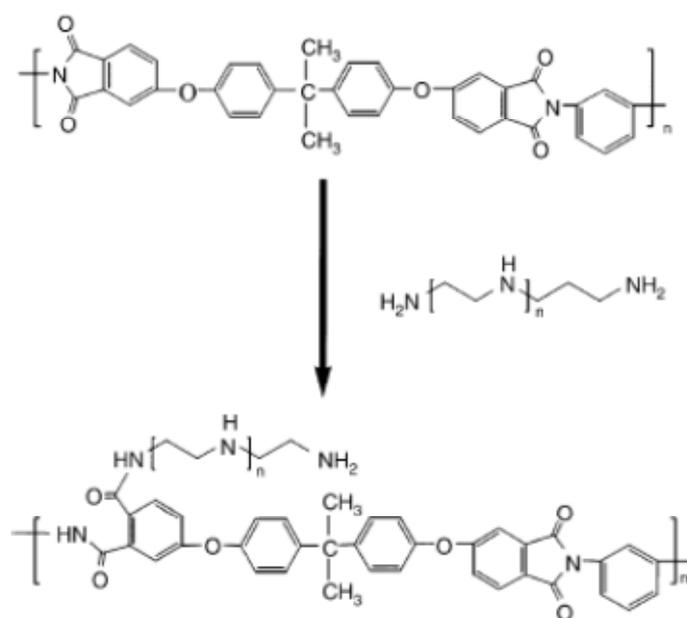
Diversos trabalhos têm sido realizados no sentido de imobilizar heparina na superfície de materiais. Um dos primeiros sucessos na área foi de um oxigenador sanguíneo, que recebeu a aprovação da *Food and Drug Administration* (FDA) em 1997. MARCONI *et al* (1997) imobilizaram covalentemente heparina em copolímeros de etileno-vinil-álcool (EVAL) comerciais, analisando a quantidade de heparina imobilizada em função da concentração de heparina nas soluções utilizadas. Os autores observaram que a quantidade de heparina imobilizada aumentava com a quantidade de heparina na solução inicial, conforme verificado nesta dissertação, porém a quantidade

máxima de heparina imobilizada obtida foi de  $0,05 \pm 0,011$  mg/cm<sup>2</sup> para a solução inicial de heparina de concentração 1% m/m, quantidade inferior aos valores obtidos nesta dissertação. Como justificativa para a diferença nos resultados, salienta-se que a metodologia aplicada para a funcionalização foi bastante diferente, a começar pela solução de imobilização, que nesta dissertação era composta de tampão citrato, EDC e heparina, enquanto no trabalho de MARCONI *et al* (1997), utilizou-se uma solução aquosa de heparina com concentrações de 0,1% ou 1%. Além disso, o material heparinizado é diferente, bem como os reagentes utilizados na ligação da heparina (polietilenoimina nesta dissertação e no trabalho citado, cloreto de adipóila ou diisocianato de hexametileno).

HUANG *et al* (2010), por sua vez, desenvolveram um método versátil para ligar covalentemente heparina na superfície de filmes de polisulfona, através da ativação das superfícies por meio de sucessivos tratamentos dos mesmos com clorodimetil éter e etilenodiamina. Os autores obtiveram uma imobilização de  $0,86$  µg/cm<sup>2</sup>. Outras quantidades de heparina imobilizadas em superfícies reportadas na literatura são de CHEN *et al* (2005), que realizaram imobilização covalente em superfícies de silicone, obtendo  $0,68$  µg/cm<sup>2</sup>; KANG *et al* (2001), que reportaram uma densidade de heparina de  $1,1 - 1,3$  µg/cm<sup>2</sup> em superfícies de poliuretano; MICHANETZIZ *et al* (2003), que realizaram a imobilização de heparina na superfície de biomateriais disponíveis comercialmente, obtendo quantidades imobilizadas variando de  $0,56$  µg/cm<sup>2</sup> a  $9,76$  µg/cm<sup>2</sup>. Valores mais elevados de quantidade de heparina imobilizada foram obtidos por SAILYNOJA *et al* (1999), que obtiveram  $98$  µg/cm<sup>2</sup> em superfícies de poli(ácido láctico) modificadas com poli(acrilamida).

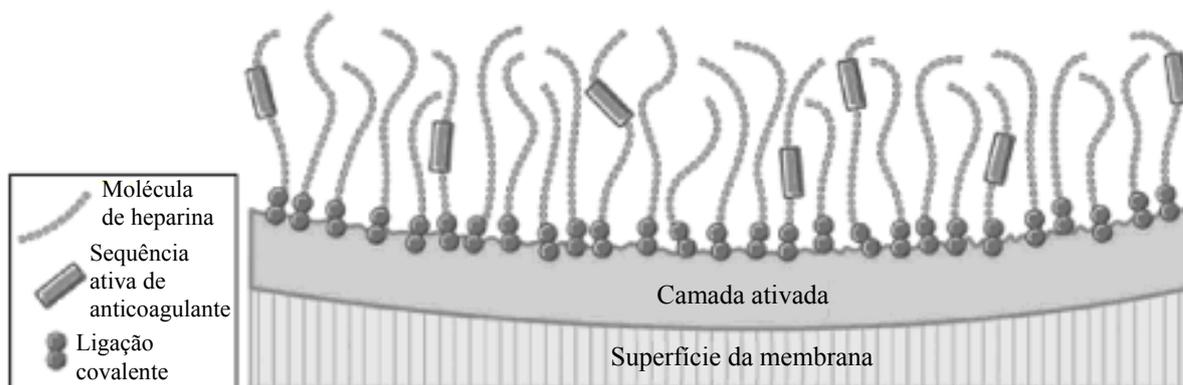
As diferenças obtidas entre as quantidades de heparina imobilizada reportadas na literatura e as obtidas nesse trabalho podem ser devidas à área da membrana considerada, a qual pode ser bem maior que o valor calculado através da superfície visível, devido ao fato da membrana ser bastante porosa, conforme verificado na Figura 4.2 (c). A porosidade aumenta consideravelmente a área de superfície da membrana e, desta forma, a quantidade de heparina imobilizada por área seria bem menor que os valores expressos na Tabela 4.5. Esta eventual superestimação não ocorre com os trabalhos reportados, pois as superfícies estudadas são densas, logo não apresentam poros que elevem sua área superficial.

Em relação às reações envolvidas nas etapas de imobilização, ALBRETCH *et al* (2006) sugerem uma possível explicação para a primeira etapa do processo, a reação entre a polietilenoimina (Pei) e a poli(éter imida) (PEI). Segundo afirmação dos autores, modificadores de alto peso molecular, como a Pei, podem, sob certas condições, preencher os poros de membranas de PEI, por um caminho preferencialmente assimétrico. A ligação covalente da camada de Pei com a membrana de PEI ocorre através dos grupos imida do material da membrana, que reagem com o grupo amina nucleofílico da polietilenoimina, levando à formação de dois grupos amida: uma que faz ligação com a cadeia macromolecular principal da PEI formada, e outra conectando a poli(éter imida) macromolecular formada e a Pei, a qual possui grupos amina disponíveis para reações seguintes. A Figura 4.10 apresenta um esquema da reação acima descrita.



**Figura 4.10:** Esquema da reação da poli(éter imida) com poliaminas. Fonte: ALBRECHT *et al* (2006).

A heparina possui diversos grupos funcionais ativos, como amina, hidroxila e carboxila, que podem ser usados como opções disponíveis de ligação com outros grupos na modificação de superfícies. No caso desta dissertação, a heparina liga-se aos grupos amina disponíveis após a reação esquematizada na Figura 4.10, formando uma estrutura similar à apresentada na Figura 4.11.



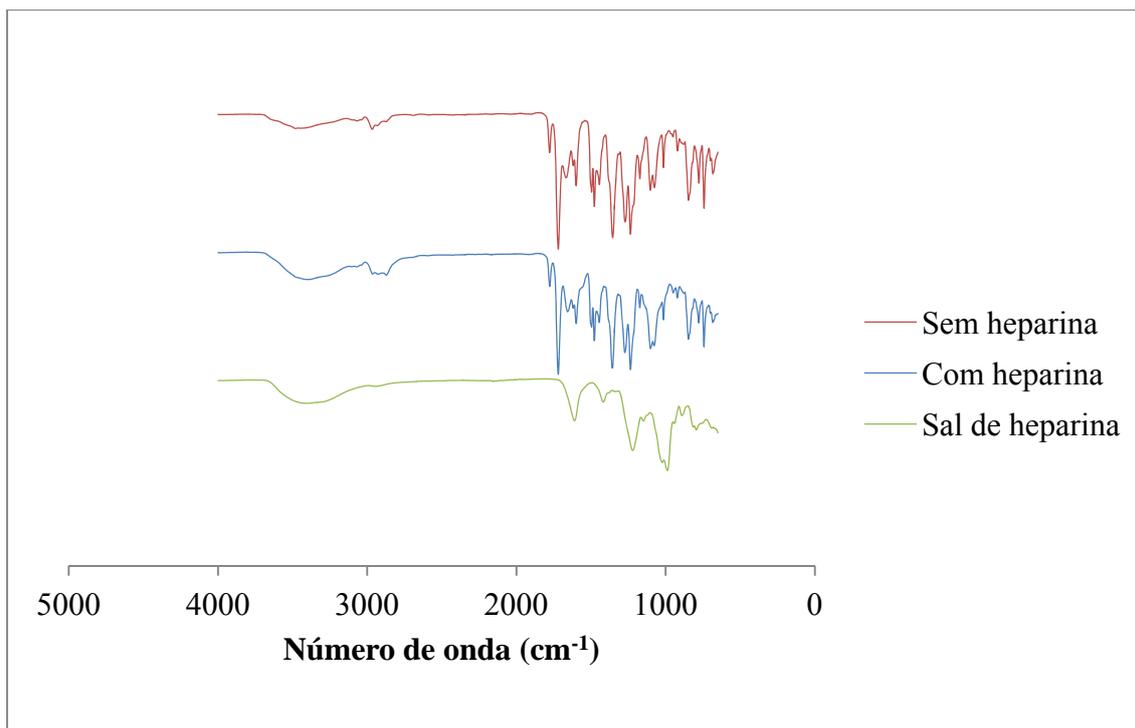
**Figura 4.11:** Modelo de superfície com imobilização de heparina. Fonte: Adaptado de ZHANG (2011).

#### 4.4. CARACTERIZAÇÃO DAS SUPERFÍCIES

##### 4.4.1. Espectroscopia por infravermelho (FT-IR)

A análise por espectroscopia por infravermelho foi realizada com o objetivo de detectar qualquer mudança de grupos funcionais na superfície da membrana de poli(éter imida), antes e depois da funcionalização com heparina, como forma de confirmar a imobilização de heparina. Assim, foram realizadas análises das membranas antes e depois da funcionalização, utilizando como amostra aquela funcionalizada a partir da solução inicial contendo 7,5 mg de heparina e, para comparação, também realizou-se a análise da heparina utilizada.

A Figura 4.12 apresenta os espectros obtidos para as membranas de PEI antes e depois da funcionalização com heparina, bem como do sal de heparina utilizado no procedimento de funcionalização.



**Figura 4.12:** Comparação entre os espectros realizados nas amostras de membranas antes e após a funcionalização com heparina.

No espectro da amostra de membrana antes da funcionalização, podemos destacar a ocorrência dos picos em  $1720\text{ cm}^{-1}$  correspondente aos grupos carbonila presentes no grupamento imida; a banda em  $1660\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao estiramento da carbonila do grupo imida; a banda em  $1360\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento do C-N(C-N-C); e a banda em  $1240\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento assimétrico da ligação C-O-C (PASSADOR E PESSAN, 2013).

No caso da amostra de membrana após a funcionalização, o principal pico que podemos identificar é o do grupo  $\text{SO}_3^-$ , característico da heparina, na banda em  $1100\text{ cm}^{-1}$ . Todos os picos acima mencionados nas amostras de membrana sem funcionalização também apareceram nas amostras de membranas após a funcionalização com heparina, apresentando apenas um ligeiro deslocamento.

A observação do espectro do sal de heparina permite confirmar a presença dessa substância na membrana funcionalizada, a qual apresenta o pico característico da heparina, devido à presença do grupo  $\text{SO}_3^-$ , apenas deslocado, pois na membrana ele encontra-se ligado a outros grupos.

Na literatura, são encontrados trabalhos que realizaram a modificação da superfície de membranas com heparina e que analisaram os compostos das superfícies antes e após a funcionalização utilizando a espectroscopia de infravermelho. Nesse sentido, LI *et al* (2011) modificou com heparina a superfície de membranas de polisulfona, utilizando plasma em gás amônia, realizando a caracterização por ATR-FTIR (*Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectra*).

As bandas de absorção observadas por LI *et al* (2011) para as membranas funcionalizadas com heparina foram similares às bandas observadas neste trabalho para as membranas antes da imobilização, pois muitos dos grupos funcionais presentes na poli(éter imida) coincidem com os da heparina.

HUANG *et al* (2010) também imobilizaram heparina na superfície de membranas de polisulfona, caracterizando a superfície dos filmes através de ATR-FTIR para confirmar a imobilização da heparina. Os autores observaram que em  $1050\text{ cm}^{-1}$  o espectro da membrana de polisulfona com heparina apresentava um ressaltado, atribuído ao estiramento simétrico do grupo  $-\text{SO}_3^-$  da heparina imobilizada, como também foi observado no espectro da membrana de poli(éter imida) dessa dissertação.

#### 4.4.2. Ângulo de contato

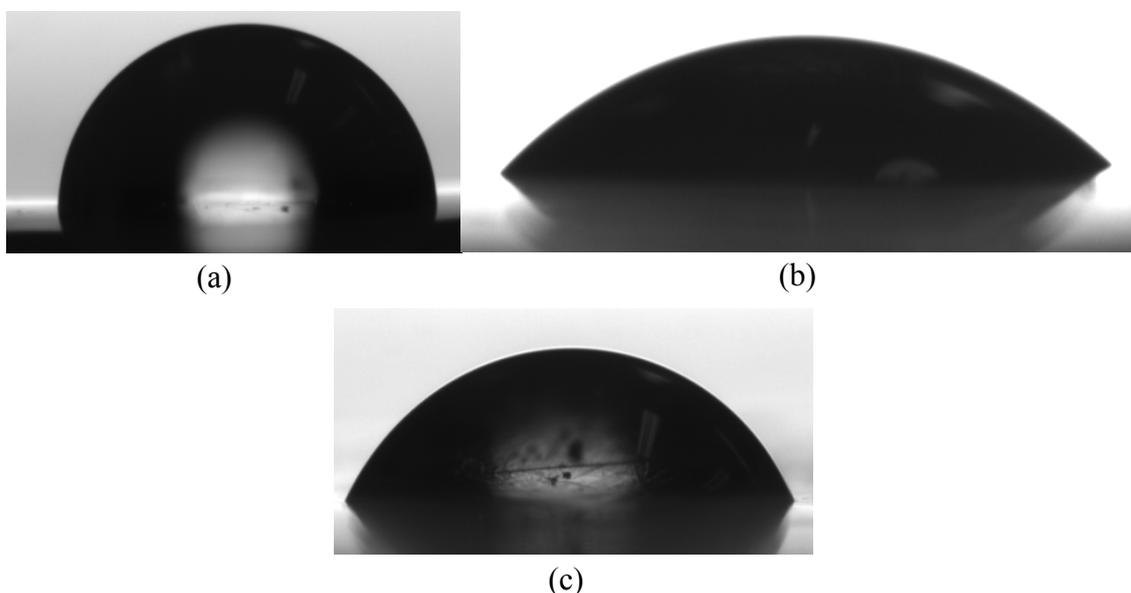
Foram medidos os ângulos de contato das membranas antes da funcionalização, da membrana ativada através da introdução de grupos imina e da membrana após a imobilização de heparina. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.6.

**Tabela 4.6:** Ângulo de contato das membranas de PEI.

Membrana	Ângulo de contato
Antes da funcionalização	$88,94^\circ \pm 1,79^\circ$
Ativada com grupos imina	$37,83^\circ \pm 2,20^\circ$
Após a funcionalização	$65,87^\circ \pm 3,59^\circ$

Observa-se que antes da funcionalização, as membranas podem ser classificadas como hidrofóbicas, pois o ângulo de contato é de aproximadamente  $90^\circ$ . As demais são

classificadas como hidrofílicas. Na Figura 4.13 são apresentadas imagens das diferentes gotas de água formadas no instante do seu contato com a superfície analisada.



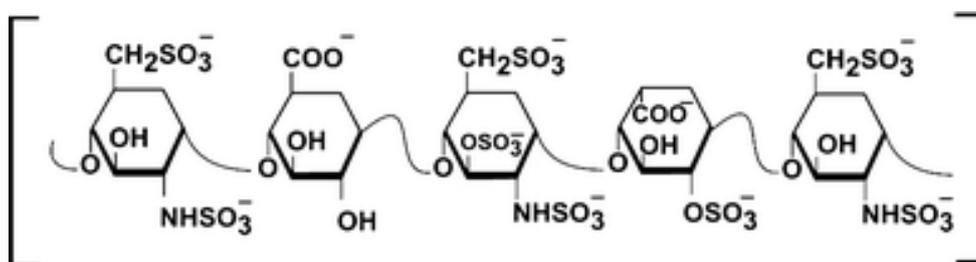
**Figura 4.13:** Gota em contato com as superfícies das membranas: (a) Sem modificação (b) Ativada com grupos imina (c) Com heparina imobilizada.

Interessante observar que as membranas com grupos imina são ainda mais hidrofílicas que as membranas com heparina imobilizada em sua superfície. Segundo ANANTH *et al* (2012), sendo a etileno imina uma imina alifática (Figura 4.14), ela promove a capacidade de aumentar a ligação de hidrogênio nas membranas, que por sua vez, interagem de maneira efetiva com as moléculas de água. Além disso, se houver diferença na rugosidade dessas membranas, o ângulo de contato pode ser influenciado, de modo que as membranas com maior rugosidade apresentam maior hidrofobicidade que aquelas com menor rugosidade, como observado no trabalho de GARCIA (1995), no qual filmes de poliuretano modificados com heparina apresentaram menor ângulo de contato quando previamente tratados com poli(óxido de etileno) que aqueles tratadas com polietilenoimina, os quais apresentavam diferenças em suas rugosidades.



**Figura 4.14:** Estrutura da polietilenoimina.

No trabalho de GARCIA (1995), os filmes de poliuretano com imobilização de heparina cuja superfície foi tratada inicialmente com polietilenoimina apresentaram ângulos de contato um pouco menores que os filmes antes da modificação (padrão), passando de 86° para 78°. Quando a heparina foi introduzida na superfície, houve uma ligeira diminuição do ângulo, que chegou a 74°. Os resultados foram mais significativos com tratamento inicial com poli(óxido de etileno), quando o ângulo de contato atingiu 37° sem heparina e 36° com heparina. GAO *et al* (2014), por sua vez, modificou a superfície de membranas de poli(ácido lático) com heparina, através da ligação dessa substância com a polidopamina previamente inserida na superfície da membrana. Os autores observaram uma diminuição do ângulo de contato das membranas de 84° das membranas de PLA sem tratamento para 73° com a polidopamina (devido ao grupo hidrofílico hidroxila benzeno) e para 41° com a imobilização de heparina, devido à presença de grupos hidrofílicos como hidroxila, carboxila e ácido sulfúrico, conforme observa-se em sua estrutura, apresentada na Figura 4.15.



**Figura 4.15:** Estrutura da heparina.

JEE *et al* (2004) também imobilizaram heparina na superfície de membranas de poli(ácido lático) (PLA), mas de forma direta e observaram uma diminuição no ângulo de contato de  $84^\circ \pm 0,5^\circ$  para  $70,3^\circ \pm 0,4^\circ$  da membrana antes e após a imobilização, respectivamente. Assim, os resultados obtidos encontram-se de acordo com a literatura, de que a inserção da heparina faz com que haja um aumento na hidrofiliabilidade da membrana, e a intensidade desse aumento depende do material da membrana e do método utilizado para realizar tal procedimento.

O aumento da hidrofiliabilidade das membranas é um resultado importante, pois implica na alteração de outros parâmetros, como a adsorção de proteínas e de plaquetas, conforme veremos em seguida.

#### 4.4.3. Adsorção de proteínas (albumina)

Os testes de adsorção de proteínas foram realizados a fim de verificar a ocorrência de tal evento nas membranas sintetizadas, pois a perda de proteínas (albumina, no caso) não deve ocorrer em grande quantidade durante a hemodiálise e, visando a seu uso em tal processo, é um fator a ser controlado. Em geral, esse controle é realizado apenas através da medição da concentração de albumina permeada para o dialisato, porém se a membrana tende a adsorver proteínas, a perda real é maior que a medida.

Foram analisadas as membranas planas, antes e após a funcionalização com heparina, e duas membranas clínicas, a de polisulfona e a de poli(éter sulfona), para comparação. Foram construídas isotermas de adsorção a 30°C, definidas como relações de equilíbrio entre a concentração da espécie na fase fluida e na fase sólida (adsorvida nas partículas) a uma dada temperatura. Essas curvas indicam como o adsorvente efetivamente adsorve o soluto e dão uma estimativa da quantidade máxima de soluto que o adsorvente pode adsorver (PORPINO, 2009).

A Figura 4.16 apresenta as isotermas de adsorção de albumina nestas membranas.

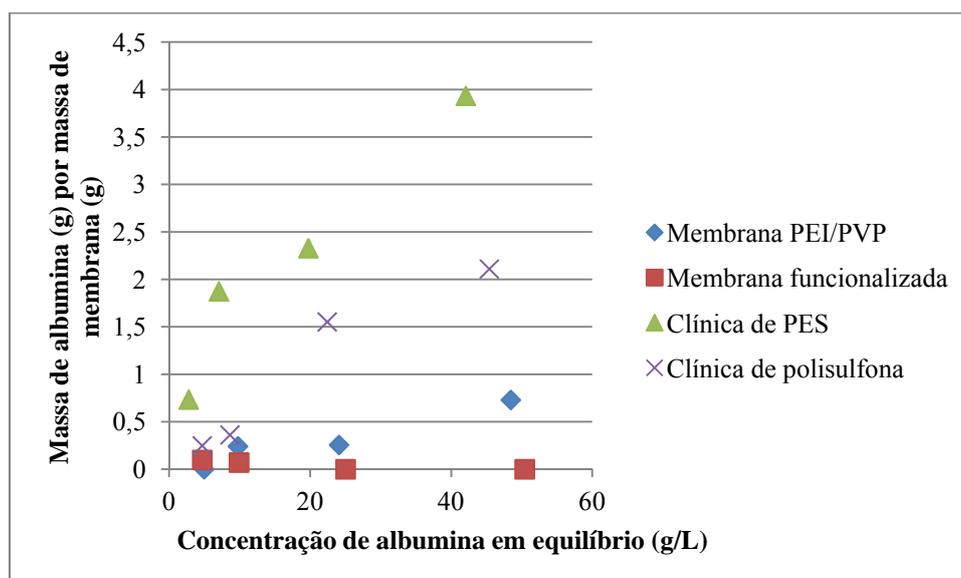
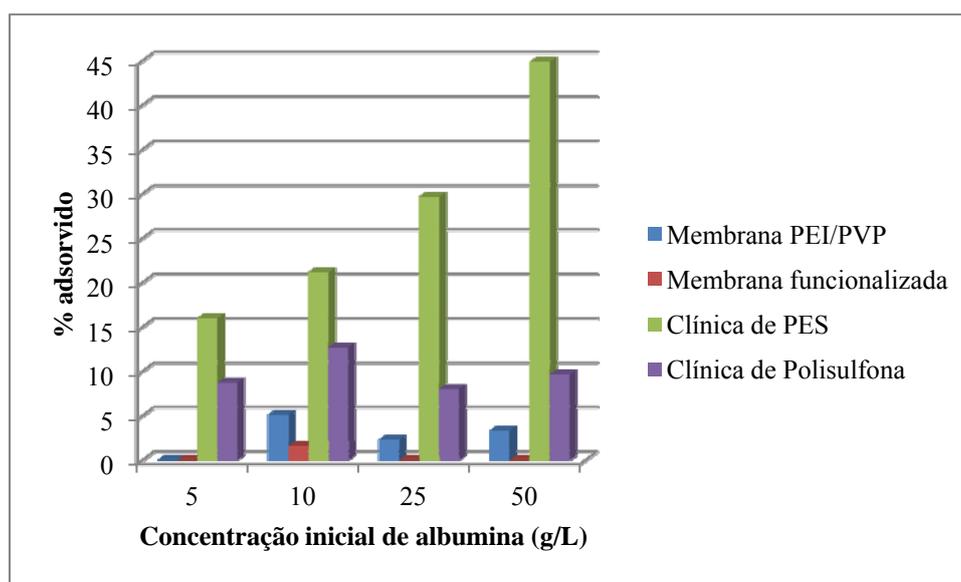


Figura 4.16: Isotermas de adsorção de albumina a 30°C.

As isotermas de adsorção da Figura 4.16 assemelham-se a isotermas do tipo II, de acordo com as recomendações da IUPAC, as quais apresentam um ponto de inflexão correspondente à formação da primeira camada adsorvida que recobre toda a superfície do material (PORPINO, 2009). Assim, observa-se um maior ponto de inflexão para as membranas comerciais, indicando que estas apresentam maior adsorção de albumina em comparação com as membranas de poli(éter imida) sintetizadas e antes da funcionalização. Após a funcionalização com heparina, a adsorção de albumina torna-se praticamente nula.

A Figura 4.17 apresenta a adsorção de albumina em valores percentuais, mostrando, de outra maneira, a alta adsorção que ocorre nas membranas comerciais, que atinge cerca de 45% de adsorção, em comparação com as membranas de poli(éter imida), que chegam no máximo a 15%.



**Figura 4.17:** Percentual de albumina adsorvido nas membranas.

Além da perda de importantes proteínas do sangue, como a albumina, que pode levar à hipoalbuminemia, causa de morte em pacientes de hemodiálise, a adsorção de proteínas pode causar a queda de fluxo, devido à deposição das mesmas na superfície e nos poros da membrana, e afetar a biocompatibilidade, pois pode ser seguida da ativação de diferentes sistemas de defesa no sangue, como coagulação, complemento e fibrinólise, bem como de adesão e ativação de células sanguíneas (SUN *et al*, 2003).

Vários fatores podem afetar a adsorção de proteínas, como a composição das membranas, sua morfologia, hidrofiliicidade e as condições de operação. Para as membranas aqui testadas, adianta-se a hipótese de que a adsorção praticamente nula de albumina nas membranas funcionalizadas se deve à sua maior hidrofiliicidade, conforme discutido no item 4.3.2.

A modificação da superfície das membranas pode ser efetiva na redução da quantidade de proteína adsorvida, podendo ser realizada através da introdução de grupos negativamente carregados e do aumento da hidrofiliicidade, por exemplo (SUN *et al*, 2003). Aqui, a superfície foi modificada pela introdução da heparina, que possui densidade de carga altamente negativa, contribuindo para o aumento da hidrofiliicidade da membrana. Confirmam-se também os resultados de MATTHIASSEN (1983), que estudou a adsorção de albumina sérica bovina em diferentes membranas, de acetato de celulose, polisulfona e poliamida, e observou a correlação entre a adsorção e a natureza hidrofílica/hidrofóbica do polímero.

#### 4.4.4. Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA)

O tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) é utilizado para avaliar a via intrínseca de coagulação, medindo a função dos fatores XII, XI, IX e VIII. Nesse sentido, foram analisadas as membranas antes da funcionalização, as imobilizadas com heparina e a membrana clínica de polisulfona para comparação. As membranas imobilizadas com heparina apresentaram o mesmo resultado e, por isso, foram identificadas como uma só na Tabela 4.7, que apresenta os resultados obtidos.

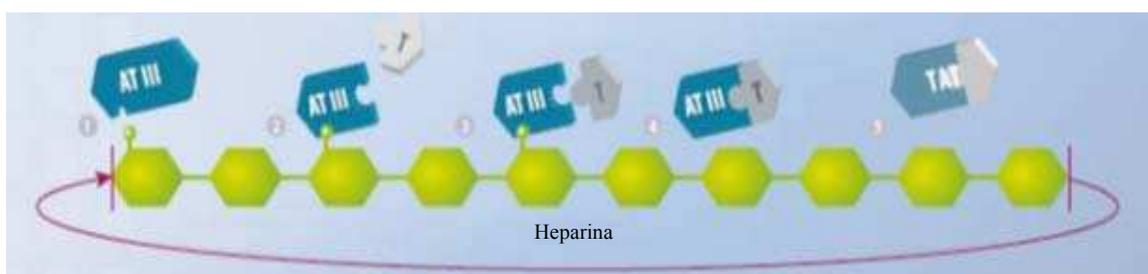
**Tabela 4.7:** Resultados de TTPA.

<b>Membrana</b>	<b>Tempo (s)</b>
<b>Referência (água mili-Q)</b>	35,25 ± 0,25
<b>Clínica de Polisulfona</b>	39,68 ± 4,07
<b>PEI, antes da funcionalização</b>	38,78 ± 3,15
<b>PEI, após a funcionalização</b>	> 500

Pelos resultados obtidos, observa-se que a membrana comercial e a membrana antes da funcionalização não diferem significativamente quando se compara o TTPA,

ou seja, a coagulação do sangue na presença dessas membranas não é muito diferente. Por sua vez, as membranas funcionalizadas com heparina aumentam consideravelmente o TTPA, indicando um alto poder anticoagulante das mesmas. Segundo HUANG *et al* (2011), a heparina age como um catalisador, promovendo a inibição da trombina, a enzima de coagulação, e proteases similares, como os fatores Xa, IXa, XIa e XIIa pela antitrombina III (AT III). A heparina catalisa a inibição de proteínas do plasma envolvidas na cascata de coagulação intrínseca e extrínseca, em particular com AT III. Com a imobilização de heparina na superfície de membranas, a trombina no plasma humano é inativada devido à formação do complexo trombina/antitrombina (TAT), justificando a atividade anticoagulante das membranas funcionalizadas.

A Figura 4.18 apresenta um esquema que mostra como se dá a atuação da heparina imobilizada resultando num aumento do tempo de tromboplastina parcial ativada, e que se encontra em conformidade com a explicação de HUANG *et al* (2011) acima. Segundo este esquema, inicialmente a heparina imobilizada adsorve a antitrombina III (AT III), cofator para inibição da coagulação. Em seguida, a conformação da AT III é modificada, permitindo uma ligação estável e mais eficiente com a trombina (T), fator de coagulação, a qual é neutralizada pela AT III, formando o complexo (TAT), que é liberado na corrente sanguínea, permitindo que uma nova molécula de AT III seja adsorvida na heparina.



**Figura 4.18:** Esquema da ação anticoagulante da heparina. Fonte: GAMBRO – EVODIAL®.

No trabalho de JEE *et al* (2004), a imobilização de heparina na superfície de membranas de PLA resultou no prolongamento do tempo de TTPA de  $31,8 \pm 0,2$  s para  $49,9 \pm 0,8$  s, o que indica que a heparina conjugada pode inibir os fatores de coagulação intrínseca, levando à supressão da atividade da trombina. O aumento do TTPA obtido

pelos autores sugere a ocorrência do mecanismo acima descrito, o que tornou possível a neutralização da atividade dos fatores de coagulação gerados na interface sangue-material.

YANG E LIN (2002) modificaram membranas de poliacrilonitrila com quitooligossacarídeos (oligômero de quitosana), seguidos da imobilização de heparina. Os autores observaram que o TTPA aumentou de  $38 \pm 3$  s para  $172 \pm 7$  s. Observa-se que os aumentos do TTPA na presença das membranas imobilizadas com heparina verificados na literatura são menores que aqueles identificados nas membranas sintetizadas nessa dissertação. Isso pode ser explicado pela diferença de metodologia aplicada para a medição deste parâmetro. Nos dois trabalhos citados, a análise foi realizada pelo contato das membranas com 100  $\mu$ L de cada um dos reagentes necessários ao teste. No caso dessa dissertação, a quantidade de reagentes do teste foi de 40  $\mu$ L; assim sendo, o tempo de coagulação é prolongado, pois há maior densidade de heparina para agir na inativação dos fatores de coagulação.

#### **4.4.5. Adesão de plaquetas**

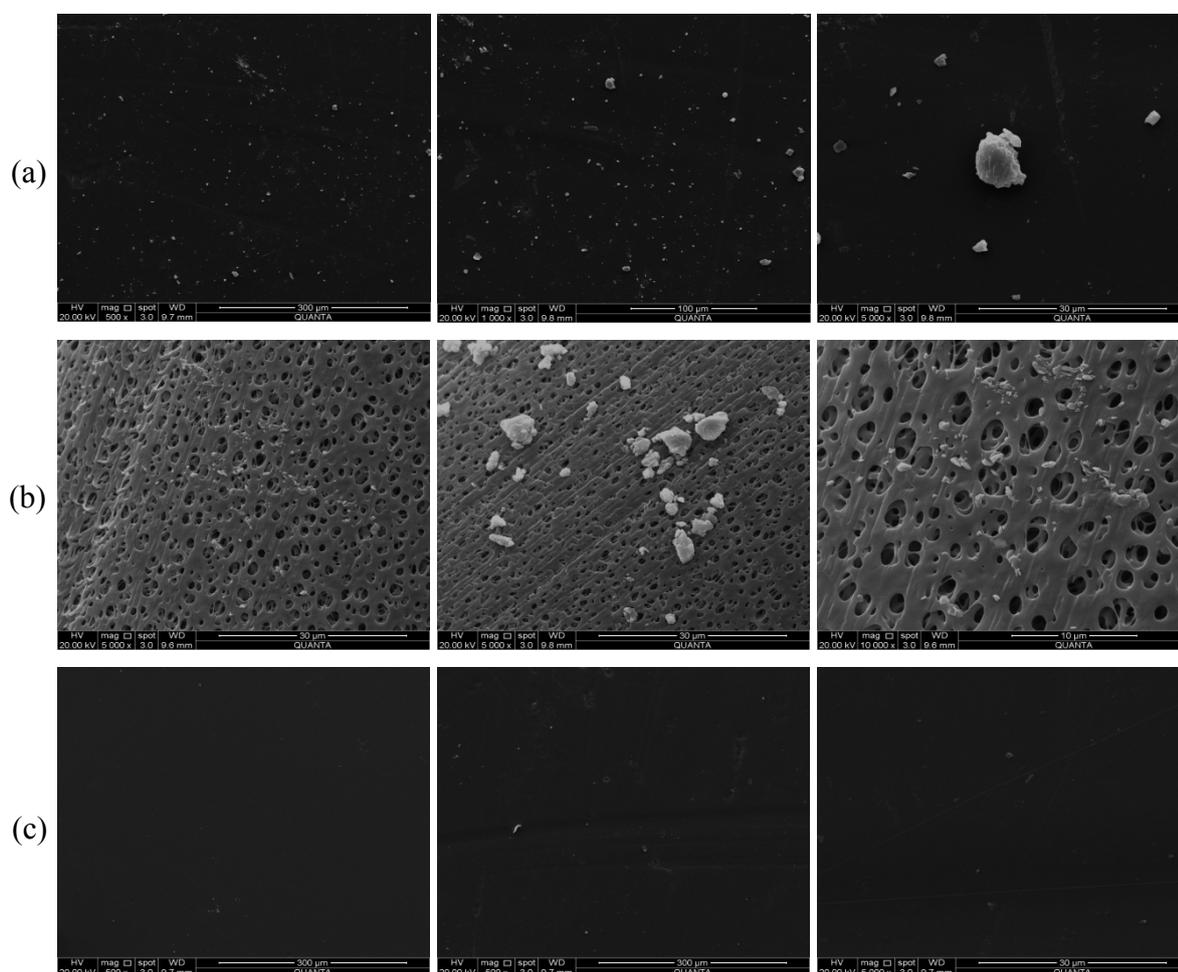
As plaquetas, ou trombócitos, são fragmentos de célula da medula óssea, com formato de disco sob condições fisiológicas normais, que podem sofrer transformações espaciais quando ativadas por estímulos fisiológicos ou externos (GARCIA, 1995). A adesão de plaquetas a uma superfície estranha é o estágio inicial na formação de trombo. Neste processo, as plaquetas difundem para a superfície e ligam-se a ela, continuando a adesão até que a saturação da mesma com as plaquetas seja atingida (ALLEN, 1976), sendo um importante teste para avaliar a compatibilidade sanguínea de um material.

Os resultados obtidos para o teste de adesão de plaquetas na superfície das membranas antes e após a funcionalização com heparina e para a membrana clínica de polisulfona foram avaliados por microscopia eletrônica e são apresentados na Figura 4.20.

Observa-se da Figura 4.19 que a membrana de PEI antes da funcionalização com heparina e a membrana clínica, Figura 4.19 (a) e Figura 4.19 (b) tendem a aderir

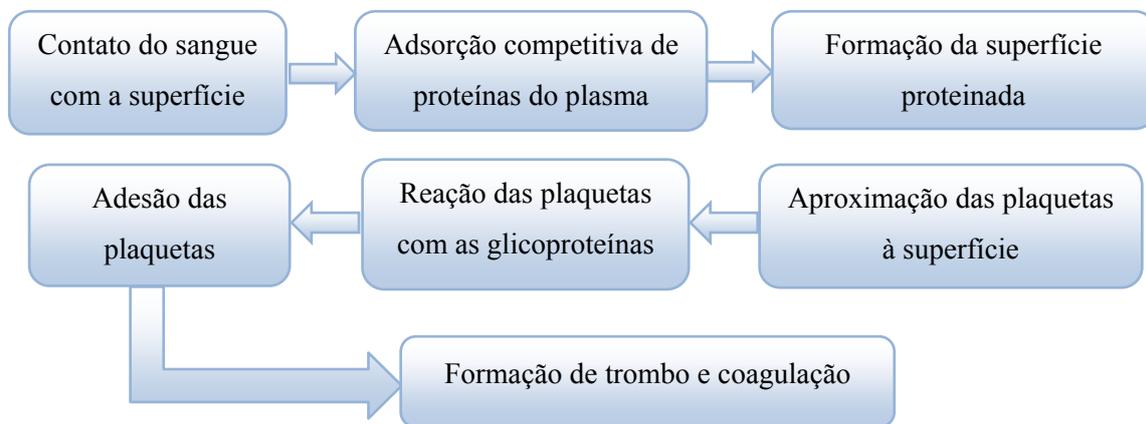
plaquetas em sua superfície, sugerindo-se neste último caso, maior agregação das plaquetas aderidas. Nas membranas com heparina imobilizada, Figura 4.19 (c), observam-se poucas plaquetas aderidas, indicando que houve uma significativa redução deste fenômeno, o que pode ser atribuído ao aumento da hidrofilicidade da membrana e à atividade anticoagulante da heparina, corroborando o discutido nos itens 4.4.2 e 4.4.4, respectivamente.

Resultados similares foram obtidos por diversos autores, como GAO *et al* (2014), JEE *et al* (2004), LIN *et al* (2004), YANG *et al* (2003) e MICHANETZIZ *et al* (2002), que imobilizaram heparina na superfície de materiais diversos, obtendo como resultado a redução/supressão da adesão de plaquetas em todos os casos.



**Figura 4.19:** Fotomicrografias da adesão de plaquetas na superfície de amostras da membranas (a) Membrana de PEI antes da funcionalização (b) Membrana clínica de polisulfona (c) Membrana de PEI após a imobilização de heparina.

É interessante citar que a adesão de plaquetas é precedida da adsorção de proteínas do plasma na superfície, as quais podem ser reconhecidas pelos receptores de adesão de plaquetas, resultando na adesão, espalhamento e ativação das plaquetas. Conforme visto anteriormente no item 4.4.3, as membranas funcionalizadas com heparina não apresentaram significativa adsorção de albumina, justificando ainda mais o fato dessa superfície não ter apresentado plaquetas aderidas. A Figura 4.20 apresenta, esquematicamente, os eventos iniciais para formação de trombo, relacionados à adsorção de proteínas com posterior adesão de plaquetas, segundo KIM *et al* (1974).



**Figura 4.20:** Esquema dos eventos iniciais para formação de trombo e coagulação.

A adesão de plaquetas depende, também, da distribuição de cargas e da estrutura da superfície analisada. As plaquetas possuem uma carga líquida negativa e a repulsão eletrostática influencia a adesão, bem como a atração eletrodinâmica devido às forças de van der Waals (ALLEN, 1976). Assim, como a heparina possui uma carga altamente negativa (ver Figura 4.16), a repulsão de cargas também pode ter influenciado para a diminuição da adesão de plaquetas observada nas superfícies com esta substância imobilizada.

#### 4.4.6. Teste de hemólise sanguínea

O teste de hemólise sanguínea objetivou verificar se as membranas de alguma forma influenciavam a ocorrência de hemólise quando do seu contato com o sangue. Em geral, este teste é utilizado para detectar danos aos eritrócitos causados pelos materiais. Na Tabela 4.8 são apresentados os resultados observados de absorvância, a partir dos quais se infere a ocorrência da hemólise.

**Tabela 4.8:** Valores de absorvância para verificação da ocorrência de hemólise.

<b>Amostra</b>	<b>Absorbância (a 545 nm)</b>
Referência positiva (água)	2,412
Referência negativa (solução NaCl 0,9%)	0,123
Membrana antes da funcionalização	0,127
Membrana após a funcionalização	0,083
Membrana clínica de polisulfona	0,078

Água foi utilizada como referência positiva porque, quando entra em contato com o sangue, leva à ocorrência de hemólise. Por ser uma solução hipotônica, a água difunde na hemácia por osmose, resultando em seu inchamento e rompimento. Já a referência negativa foi uma solução de cloreto de sódio a 0,9% porque o conteúdo da hemácia é isotônico em relação a esta solução, não havendo transporte de água.

Observa-se pelos dados da Tabela 4.8 que nenhuma das membranas leva a ocorrência de hemólise, quando há uma comparação com as referências utilizadas. Os valores obtidos são muito próximos aos valores da referência negativa e muito menores que o valor da referência positiva, levando-nos a afirmar que os materiais não ocasionam danos aos eritrócitos. Entretanto, é necessário salientar que o tempo decorrido entre a coleta do sangue e a realização do teste foi muito elevado. Dessa forma, é possível que o mesmo já tenha sido utilizado com algum grau de hemólise.

Resultados similares foram obtidos por GAO *et al* (2014), que não observaram ocorrência de hemólise quando suas membranas, de poli(ácido láctico) funcionalizadas com heparina, foram colocadas em contato com o sangue.

#### 4.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos indicam a potencialidade da utilização da poli(éter imida) como novo material para hemodiálise, pois foram sintetizadas membranas com rejeições de solutos comparáveis com aquelas clinicamente utilizadas no processo, a partir da solução polimérica composta por PEI/PVP/NMP, sendo obtidas membranas de alto fluxo na configuração plana e de baixo fluxo nas fibras ocas. A modificação da superfície da membrana também levou ao resultado esperado, havendo considerável

diminuição da hidrofiliçidade da membrana, que era hidrofóbica antes da imobilização de heparina. A redução da hidrofiliçidade resultou, então, na diminuição significativa da adsorção de proteínas na superfície da membrana e da adesão de plaquetas, eventos que devem ser evitados durante a hemodiálise e que foram observados em membranas de uso clínico testadas para comparação. Além disso, na presença das membranas funcionalizadas, houve aumento do tempo de coagulação do plasma, medido por meio do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) e nenhuma das membranas causaram hemólise, apresentando-se seguras neste sentido.

# CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

## 5.1. CONCLUSÕES

Neste trabalho, membranas planas e na forma de fibras ocas foram sintetizadas a partir do polímero poli(éter imida) (PEI), empregando-se o aditivo macromolecular poli(vinil pirrolidona) (PVP) visando a aumentar a hidrofiliabilidade das membranas. O PVP também contribuiu para o aumento da porosidade das membranas, com conseqüente aumento da sua permeabilidade hidráulica. A formação de macrovazios também foi suprimida na presença do PVP.

Em relação às propriedades de transporte, foram obtidas membranas com características comparáveis às membranas clinicamente utilizadas em hemodiálise. A permeabilidade hidráulica das membranas planas variou entre 34 a 44 L/h.m<sup>2</sup>bar, a 26°C, sendo classificadas como de alto fluxo, enquanto as fibras ocas sintetizadas apresentaram permeabilidades na faixa de 2 a 10 L/h.m<sup>2</sup>bar, também a 26°C, classificadas como de baixo fluxo. Os melhores desempenhos foram observados para as fibras ocas sintetizadas com 12% de PEI e 10% de PVP, secas após sua imersão em solução de glicerol, visto que este permanece na matriz polimérica, dificultando a contração capilar dos poros menores. Nestas condições, a permeabilidade obtida foi de 10 L/h.m<sup>2</sup>bar, bastante similar aos valores verificados na literatura e aos observados nos dialisadores clínicos de baixo fluxo, verificando uma viabilidade do uso desta nova membrana no processo. A rejeição aos solutos de média e alta massa molecular a 26°C aumentou com o aumento da massa molecular do soluto, chegando a 99% para a albumina, que possui 66.000 Da. A rejeição à lisozima (modelo para  $\beta_2$ -microglobulina nos testes de solutos de média massa molecular) foi considerada elevada, similarmente ao que ocorre com boa parte das membranas clínicas de hemodiálise.

A imobilização de heparina na superfície da membrana, confirmada através da presença da banda de absorção típica do grupo  $-\text{SO}_3$  (característico da estrutura desta substância), resultou em uma diminuição do ângulo de contato (de 89° para 66°) e,

consequentemente, no aumento da hidrofiliçidade da membrana. Este aumento de hidrofiliçidade, aliado à carga negativa da heparina, resultaram em um efeito benéfico já que as membranas apresentaram adsorção reduzida de proteína e menor adesão de plaquetas, comparando-se com as membranas de PEI antes da funcionalização e da membrana clínica de polisulfona avaliada. Membranas clínicas apresentaram adsorção de proteínas superior a 40%, enquanto que nas sintetizadas neste trabalho a adsorção foi inferior a 5%.

A análise do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) demonstrou o caráter anticoagulante das membranas funcionalizadas, pois não foi verificada coagulação do plasma após 500s de teste. Quando em contato com a membrana antes da funcionalização e com a membrana clínica de polisulfona, houve coagulação do plasma em um tempo muito próximo ao tempo da referência, indicando que a coagulação do sangue na presença destas membranas não foi afetada.

Em resumo, as membranas sintetizadas apresentaram importantes sucessos nas caracterizações realizadas com um polímero alternativo para uso em hemodiálise, a poli(éter imida). As permeabilidades dos solutos de baixa massa molecular e rejeições aos solutos de média e alta massa molecular foram comparáveis com as membranas clinicamente utilizadas no processo e a imobilização de heparina na superfície dessas membranas melhorou suas propriedades de superfície, levando ao aumento da hidrofiliçidade, redução da adsorção de proteínas e da adesão de plaquetas, de forma que em relação aos dois últimos parâmetros, apresentam-se superiores às membranas clínicas atualmente utilizadas no tratamento. Além disso, em contato com sangue, as membranas não causaram hemólise, e a presença de heparina na superfície retardou o tempo de tromboplastina parcial ativada, indicando a existência de propriedades anti-trombogênicas nas membranas, as quais são desejadas na hemodiálise.

## 5.2. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Explorar novas condições de síntese para obter membranas mais eficientes, através da variação da concentração e/ou a composição da solução polimérica em termos do polímero base e do aditivo.

- Modificar a metodologia de imobilização de heparina para o caso das fibras ocas, pois o método utilizado levaria a uma utilização de uma grande quantidade de heparina quando da configuração de um módulo de hemodiálise.
  
- Otimizar a quantidade de heparina imobilizada.
  
- Configurar módulos de maior área para realização dos testes na máquina de hemodiálise, em termos de *clearance* e coeficiente de ultrafiltração;
  
- Realizar testes de caracterização *in vivo*.

## CAPÍTULO 6 - BIBLIOGRAFIA

ABEL, J. J.; ROWNTREE, L. G.; TURNER, B. B. “On the Removal of Diffusible Substances from the Circulating Blood of Living Animals by Dialysis”. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 5, pp. 275-316, 1914.

ALBRECHT, W.; SCHAUER, J. WEIGEL, T. H.; LENDLEIN, A. “Preparation of Novel Composite Membranes: Reactive Coating on Microporous Poly(ether imide) Support Membranes”. **Journal of Membrane Science**, v. 269, pp. 49-59, 2006.

ALLEN, D. J. **Transport Phenomena and Blood Platelet**. Ph.D. Thesis, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada, 1976.

ALTANKOV, G.; ALBRECHT, W.; RICHAU, K.; GROTH, TH.; LENDLEIN, A. “On the Tissue Compatibility of Poly(ether imide) Membranes: an *in vitro* Study on their Interaction with Human Dermal Fibroblasts and Keratinocytes”. **Journal of Biomaterials Science – Polymer Edition**, v. 16, pp. 23-42, 2005.

AHRENHOLZ, P. G.; WINKLER, R. E.; MICHELSEN, A.; LANG, D. A.; BOWRY, S. K. “Dialysis Membrane-Dependent Removal of Middle-Molecules during Hemodiafiltration: the Beta2-Microglobulin/Albumin Relationship”. **Clinical Nephrology**, v. 62, n. 1, pp. 21-28, 2004.

ANANTH, A.; ARTHANAREESWARAN, G.; WANG, H. “The Influence of Tetraethylorthosilicate and Polyethyleneimine on the Performance of Polyethersulfone Membranes”. **Desalination**, v. 287, pp. 61-70, 2012.

BAKER, R. W. **Membrane Technology and Applications**. 2<sup>a</sup> ed., England, John Wiley & Sons, pp. 465-490, 2004.

- BASTOS, M. G.; BREGMAN, R.; KIRSZTAJN, G. M. “Doença Renal Crônica: Frequentemente Grave, mas também Prevenível e Tratável”. **Revista Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 2, pp. 248-253, 2010.
- BLEZER, R.; CAHALAN, P.; CAHALAN, L.; FOUACHE, B.; HENDRIKS, M.; LINDHOUT, T.; VERHOEVEN, M. **Method for Making Improved Heparinized Biomaterials**. *Patent WO 1998008552 A1*, 1998.
- BOURÉ, T.; VANHOLDER, R. “Which Dialysis Membrane to Choose?”. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 19, n. 2, pp. 293-296, 2004.
- CATAPANO, G.; VIENKEN, J. “Biomedical Applications of Membranes”. In: Li, N. N.; Fane, A. G.; Ho, W. S. W.; Matsuura, T. (eds), **Advanced Membrane Technology and Applications**, cap. 18, New Jersey, John Wiley & Sons, pp. 489-517, 2008.
- CARVALHO, R. B. de. **Fibras Ocas Compostas para Nanofiltração e Osmose Inversa Preparadas pela Técnica de Precipitação por Imersão de Duas Soluções Poliméricas Extrudadas Simultaneamente**. Tese de D.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2005.
- CHE, A. F.; NIE, F. Q.; HUANG, X. D.; XU, Z. K.; YAO, K. “Acrylonitrile-based Copolymer Membranes Containing Reactive Groups: Surface Modification by the Immobilization of Biomacromolecules”. **Polymer**, v. 46, pp. 11060-11065, 2005.
- CHEN, H.; CHEN, Y.; SHEARDOWN, H.; BROOK, M. A. “Immobilization of Heparin on a Silicon Surface through a Heterobifunctional PEG Spacer”. **Biomaterials**, v. 26, pp. 7418-7424, 2005.
- CHINPA, W.; QUÉMENERB, D.; BÈCHEC, E.; JIRARATANANOND, R.; DERATANI, A. “Preparation of Poly(ether imide) based Ultrafiltration Membrane with Low Fouling Property by Surface Modification with Poly(ethylene glycol)”. **Journal of Membrane Science**, v. 365, pp. 89-97, 2010.

CLARK, W. R.; GAO, D. “Properties of Membranes Used for Hemodialysis Therapy”. **Seminars in Dialysis**, n. 1, v. 15, pp. 191 – 195, 2002.

CLARK, W. R.; HAMBURGUER, R. J.; LYSAGHT, R. J. “Effect of Membrane Composition and Structure on Solute Removal and Biocompatibility in Hemodialysis”. **Kidney International**, v. 56, pp. 2005-2015, 1999.

COLLINS, A. J.; FOLEY, R. N.; GILBERTSON, D. T.; CHEN, S. C. “The State of Chronic Disease, ESRD, Morbidity and Mortality in the First Year of Dialysis”. **Clinical Journal of the American Society and Nephrology**, 4: S5 – S11, 2009. ISSN: 1555-9041/401–0005.

CUNHA, F. C. **Preparo de Membranas Compostas na Forma de Fibra Oca por Precipitação Simultânea de Soluções Poliméricas**. Dissertação de M.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2013.

DAUGIRDAS, J. T.; ING, D. S. **Manual de Diálise**. 2ª ed., Rio de Janeiro, RJ, Brasil, Medsi Editora Médica e Científica Ltda., 1996.

EATON, D. C.; POOLER, J. P. **Fisiologia Renal de Vander**. 6ª ed., Porto Alegre, RS, Brasil, Editora Arthmed, pp. 11-36, 2006.

FANG, B.; LING, Q.; ZHAO, W.; MA, Y.; BAI, P.; WEI, Q.; LI, H.; ZHAO, C. “Modification of Polyethersulfone Membrane by Grafting Bovine Serum Albumin on the Surface of Polyethersulfone/Polyacrylonitrile-co-Acrylic Acid) Blended Membrane”. **Journal of Membrane Science**, v. 329, pp. 46-55, 2009.

FARNDAL, R. W.; BUTTLE, D. J.; BARRETT, A. J. “Improved Quantitation and Discrimination of Sulphated Glycosaminoglycans by Use of Dimethylmethylene Blue”. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 883, pp. 173-177, 1986.

FICHEUX, A.; KERR, P. G.; BRUNET, P.; ARGILÉS, A. “The Ultrafiltration Coefficient of a Dialyser (KUF) is not a Fixed Value, and it Follows a Parabolic

Function: the New Concept of KUF Max”. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 26, n. 2, pp. 636-640, set. 2010.

FRESENIUS MEDICAL CARE. **Dialysis Compact: The Invention, Development and the Success of the Artificial Kidney**. 2004. Disponível em: <[http://www.fresenius.com/documents/Dialysis\\_Compact\\_HD\\_e.pdf](http://www.fresenius.com/documents/Dialysis_Compact_HD_e.pdf)> Acesso em: 02 nov. 2013.

MARKET SURVEY. **ESRD Patients in 2012: A Global Perspective**. 2013. Fresenius Medical Care. Disponível em: <[http://www.vision-fmc.com/files/pdf\\_2/ESRD\\_Patients\\_2012.pdf](http://www.vision-fmc.com/files/pdf_2/ESRD_Patients_2012.pdf)> Acesso em: 10 nov. 2013.

FUKUDA, M.; MIYAZAKI, M.; HIYOSHI, T.; IWATA, M.; HONGOU, T. “Newly Developed Biocompatible Membrane and Effects on its Smoother Surface on Antithrombogenicity”. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 72, n. 10, pp. 1249 – 1256, 1999.

GAMBRO – EVODIAL®. **The First Anti-Thrombogenic Dialyzer**. 2010.

GAO, A.; LIU, F.; XUE, L. “Preparation and Evaluation of Heparina-Immobilized Poly(Lactic Acid) (PLA) Membrane for Hemodialysis”. **Journal of Membrane Science**, n 452, pp. 390 – 399, 2014.

GARCIA, I. L. **Tratamento Químico de Superfícies de Poliuretano de Grau Médico para Imobilização de Componentes não Trombogênicos**. Dissertação de M.Sc., Faculdade de Engenharia Química/UNICAMP, Campinas, SP, Brasil, 1995.

HOENICH, N. A. “Update on the Biocompatibility of Hemodialysis Membranes”. **Hong Kong Journal of Nephrology**, v. 6, n. 2, p. 74 – 78, 2004.

HOME DIALYSIS CENTRAL. **Dialysis Machine Museum**. 2013. Disponível em: <<http://homedialysis.org/home-dialysis-basics/machines-and-supplies/dialysis-museum>> Acesso em: 02 nov. 2013.

- HÖRL, W. H.; KOCH, K. -M.; LINDSAY, R. M.; RONCO, C.; WINCHESTER, J. F. **Replacement of Renal Function by Dialysis**. 5<sup>a</sup> ed., Holanda, Kluwer Academic Publishers, 2004.
- HOSSAIN, M. M.; GAO, W. “How is the Surface Treatments Influence on the Roughness of Biocompatibility?” **Trends Biomaterials Artificial Organs**, n. 3, v. 22, pp. 144 – 157, 2008.
- HUANG, X. -J.; GUDURU, D.; XU, Z. -K.; VIENKEN, J.; GROTH, T. “Blood Compatibility and Permeability of Heparin-Modified Polysulfone as Potential Membrane for Simultaneous Hemodialysis and LDL Removal”. **Macromolecular Bioscience**, vol. 11, pp. 131-140, 2011.
- HUANG, X. -J.; GUDURU, D.; XU, Z. -K.; VIENKEN, J.; GROTH, T. “Immobilization of Heparin on Polysulfone Surface for Selective Adsorption of Low-Density Lipoprotein (LDL)”. **Acta Biomaterialia**, vol. 6, pp. 1099-1106, 2010.
- ITURRY-YAMAMOTO, G. R.; PORTINHO, C. P. “Sistema Complemento: Ativação, Regulação e Deficiências Congênitas Adquiridas”. **Revista da Associação Médica Brasileira**, n. 47, v. 1, pp. 41 – 51, 2001.
- JEE, S. K.; PARK, H. D.; PARK, K. D.; KIM, Y. H.; SHIN, J. H. “Heparin-Conjugated Polylactide as a Blood Compatible Material”. **Biomacromolecules**, v. 5, pp. 1877-1881, 2004.
- KANG, I. K.; SEO, E. J.; HUH, M. W.; KIM, K. H. “Interaction of Blood Components with Heparin Immobilized Polyurethanes Prepared by Plasma Glow Discharge”. **Journal of Biomaterials Science**, v. 12, n. 10, pp. 1091-1108, 2001.
- KEE, C. M.; IDRIS, A. “Permeability Performance of Different Molecular Weight Cellulose Acetate Hemodialysis Membrane”. **Separation and Purification Technology**, n. 75, pp. 102 – 113, 2010.

- KIM, S. W.; LEE, R. G.; OSTER, H.; COLEMAN, D.; ANDRADE, J. D.; LENTZ, D. J.; OLSEN, D. "Platelet Adhesion to Polymer Surfaces". **Transactions – American Society for Artificial Internal Organs**, v. 20, pp. 449-455, 1974.
- KOLFF, W. J.; BERK, H. TH. J.; ter WELLE, M.; van der LEY, A. J. W.; van DIJK E. C.; van NOORDWIJK J. "The Artificial Kidney: a Dialyser with a Great Area". **Acta Medica Scandinavica**, n. CXVII, pp. 121 – 134, 1944.
- LABTEST. **Guia Técnico: Coagulação**. 2009. Disponível em: <<http://www.labtest.com.br/publicacoes/publicacoeslabtest>> Acesso em: 09 jan. 2014.
- LEYPOLDT, J. K.; CHEUNG, A. K.; CARROLL, C. E.; STANNARD, D. C. PEREIRA, B. J. G.; AGODOA, L. Y.; PORT, F. K. "Effect of Dialysis Membranes and Middle Molecule Removal on Chronic Hemodialysis Patient Survival". **American Journal of Kidney Diseases**, v. 33, n. 2, pp. 349-355, 1999.
- LI, D.; WANG, R.; CHUNG, T. S. "Fabrication of Lab-Scale Hollow Fiber Membrane Modules with High Packing Density". **Separation and Purification Technology**, v. 40, pp. 15-30, 2004.
- LI, J.; HUANG, X-J.; JI, J.; LAN, P.; VIENKEN, J.; GROTH, T.; XU, Z-K. "Covalent Heparin Modification of a Polysulfone Flat Sheet Membrane for Selective Removal of Low-Density Lipoproteins: A Simple and Versatile Method". **Macromolecular Bioscience**, vol. 11, pp. 1218-1226, 2011.
- LI, L.; CHENG, C.; XIANG, T.; TANG, M.; ZHAO, W.; SUN, S.; ZHAO, C. "Modification of Polyethersulfone Hemodialysis Membrane by Blending Citric Acid Grafted Polyurethane and its Anticoagulation Activity". **Journal of Membrane Science**, v. 405-406, pp. 261-274, 2012.
- LIN, W. –C.; LIU, T. –Y.; YANG, M. –C. "Hemocompatibility of Polyacrylonitrile Dialysis Membrane Immobilized with Chitosan and Heparin Conjugate". **Biomaterials**, v. 25, pp. 1947-1957, 2004.

- LOGAREZZI, A. J. M. **Síntese e Caracterização de Membranas de Acetato de Celulose para Aplicação no Rim Artificial**. Dissertação de M.Sc., Instituto de Macromoléculas/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 1984.
- LONGHI, F.; LAKS, D.; KALIL, N. G. N. “Trombocitopenia Induzida por Heparina”. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 23, n. 2, mai.-ag., 2001.
- LOPES, A. C. **Diagnóstico e Tratamento**. 1ª ed., v. 3, Barueri, SP, Brasil, Editora Manole Ltda., 2007.
- MAO, C.; QIU, Y.; SANG, H.; MEI, H.; ZHU, A.; SHEN, J.; LIN, S. “Various Approaches to Modify Biomaterial Surfaces for Improving Hemocompatibility”. **Advances in Colloid and Interface Science**, n. 110, pp. 5-17, 2004.
- MARCONI, W.; BENVENUTI, F.; PIOZI, A. “Covalent Bonding of Heparin to a Vinyl Copolymer for Biomedical Applications”. **Biomaterials**, v. 18, pp. 885-890, 1997.
- MATTHIASON, E. “The Rule of Macromolecular Adsorption in Fouling of Ultrafiltration Membranes”. **Journal of Membrane Science**, v. 16, pp. 23-36, 1983.
- MERMIER, N. R. J. D. **Sistemas para Preparo de Fibras Ocas Compostas Acoplando Inversão de Fases e Polimerização Interfacial Simultâneas**. Dissertação M.Sc., COOPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2012.
- MICHANETZIS, G. P. A.; KATSALA, N.; MISSIRLIS, Y. F. “Comparison of Haemocompatibility Improvement of Four Polymeric Biomaterials by Two Heparinization Techniques”. **Biomaterials**, v. 24, pp. 677-688, 2003.
- MILLER, G. **Artificial Organs**. 1ª ed., Estados Unidos da América, Morgan and Claypool Publishers, 2006.
- MULDER, M. **Basic Principles of Membrane Technology**. 2ª ed., Kluwer Academic Publishers, 1996.

- MURUGESAN, S.; XIE, J.; LINHARDT, R. J. “Immobilization of Heparin: Approaches and Applications”. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, n. 8, pp. 80-100, 2008.
- NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. **A Clinical Update on Dialyzer Membranes: State-of-the-Art Considerations for Optimal Care in Hemodialysis**. 2013. Disponível em: <[http://www.kidney.org/professionals/tools/pdf/02-10-6050\\_FBD\\_Clinical\\_bulletin.pdf](http://www.kidney.org/professionals/tools/pdf/02-10-6050_FBD_Clinical_bulletin.pdf)> Acesso em: 05 out. 2013.
- NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. **Peritoneal Dialysis: What You Need to Know**. 2014. Disponível em: <<http://www.kidney.org/atoz/content/peritoneal.cfm>> Acesso em: 22 de janeiro de 2014.
- NETO, M. C.; SANTOS, B. F. C. “Revisão/Atualização em Insuficiência Renal Aguda: Biocompatibilidade de Membranas na Insuficiência Renal Aguda”. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 18, n. 4, pp. 415-423, 1996.
- OFSTHUN, N. J.; JENSON, J. C.; KRAY, M. “Effect of high Hematocrit and High Blood Flow Rates on Transmembrane Pressure and Ultrafiltration Rate in Hemodialysis”. **Blood Purification**, v. 9, n. 3, pp. 169-176, 1991.
- OFSTHUN, N. J.; KAROOR, S.; SUZUKI, M. “Hemodialysis Membranes”. In: Li, N. N.; Fane, A. G.; Ho, W. S. W.; Matsuura, T. (eds), **Advanced Membrane Technology and Applications**, cap. 19, New Jersey, John Wiley & Sons, pp. 489-517, 2008.
- OLIVEIRA, D. R. de. **Síntese e Caracterização de Membranas de Poliuretano Modificadas por Reticulação e por Incorporação de Nanopartículas de Sílica**. Tese de D.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2011.
- PANZARINI, L. C. G. A. **Estudo da Enxertia e Heparinização Simultâneas do Poli(cloreto de vinila), via Radiação Gama**. Tese de D.Sc., IPEN/USP, São Paulo, SP, Brasil, 2003.

- PASSADOR, F. R.; PESSAN, L. A. “Desenvolvimento de Nanocompósitos de Poli(éter imida) e Nanotubos de carbono para Armazenamento de Hidrogênio”. **12º Congresso Brasileiro de Polímeros**, Florianópolis, SC, Brasil, 2013.
- PEREIRA, J. C. L. B. S. **Estudo da Molhabilidade de Ligas de Adição à Base de Prata sobre Insertos Cerâmicos para Aplicação em Brocas Perfuração de Poços de Petróleo**. Tese de D.Sc., PPGCEM/UFRN, Natal, RN, Brasil, 2012.
- PORPINO, K. K. P. **Biossorção de Ferro (II) por Casca de Caranguejo *Ucides cordatus***. Dissertação de M.Sc., PPGQ/UFPB, João Pessoa, PB, Brasil, 2009.
- RENAL CLASS. **História da Diálise**. 2010. Disponível em: < <http://hemodialise-renalclass.blogspot.com.br/2010/08/historia-da-dialise-parte-4-de-1960-aos.html>> Acesso em: 23 de novembro de 2013.
- RODRIGUES, C. I. “Combinação de Fármacos: Anti-Hipertensivos na Doença Renal Crônica”. **Revista Fatores de Risco**, n. 22, pp. 56-62, jul. – set. 2011.
- SÄILYNOJA, E.; KOSKINEN, M.; SALONEN, J.; HOLMLUND, P.; SÖDERGARD, A.; KOSKINEN, M. “Immobilization of a Biological Active Coating on a Hydrophobic L-Lactide-ε-Caprolactone Copolymer”. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 10, p. 703-705, 1999.
- SAITO, A. “Biocompatible Characteristics of High-Performance Membranes”. In: Saito, A., Kawanishi H., Yamashita A. C., Mineshima M. (eds), **High Performance Membrane Dialyzers**, Contributions to Nephrology, Basel, Karger, v. 173, pp. 23-29, 2011.
- SANTOS, B. R. **Tuberculose e Doença Renal Crônica: Aspectos Epidemiológicos e Clínicos da Convergência de Duas Epidemias**. Dissertação de M.Sc., Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas/UFES, Vitória, ES, Brasil, 2012.

SANTOS, L. M. C. **Síntese e Caracterização de Membranas de Acetato de Celulose para Diálise e Ultrafiltração Sanguínea**. Dissertação de M.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 1988.

SEIFERT, B.; MIHANETZIS, G.; GROTH, T.; ALBRECHT, W.; RICHAU, K.; MISSIRLIS, Y.; PAUL, D.; VON SENGBUSCH, G. "Polyetherimide: a New Membrane-Forming Polymer for Biomedical Applications". **Artificial Organs**, v. 26, n. 2, pp. 189-199, 2002.

SEITA, Y.; MOCHIZUKI, A.; NAKAGAWA, M.; TAKANASHI, K.; YAMASHITA, S. "Polyether-Segmented Nylon Hemodialysis Membranes. I. Preparation and Permeability Characteristic of Polyether-Segmented Nylon 610 Hemodialysis Membranes". **Journal of Applied Polymer Science**, v. 65, n. 9, pp. 1703-1711, 1997.

SENTHILKUMAR, S.; RAJESH, S.; JAYALAKSHMI, A.; AISHWARYA, G.; MOHAN, D. R. "Preparation and Performance Evaluation of Poly (ether-imide) Incorporated Polysulfone Hemodialysis Membranes". **Journal of Polymer Research**, 19:9867, 2012.

SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. **Relatório de Gestão 2012**. 2013. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/rel\\_gestao2012\\_II.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/rel_gestao2012_II.pdf)> Acesso em: 10 nov. 2013.

SESSO, R. C. C.; LOPES, A. A.; THOMÉ, F. S.; LUGON, J. R.; WATANABE, Y.; SANTOS, D. R. dos. "Diálise Crônica no Brasil - Relatório do Censo Brasileiro de Diálise, 2011". **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 34, n. 3, pp. 272-277, jul.-set., 2012.

SILVA, D. E. S. L. da. **Síntese e Caracterização de Membranas Condutoras Híbridas baseadas em Poli(éter imida) para Uso em Célula a Combustível**. Tese de D.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2011.

SILVA, J. R. R. F. da. **Transferência de Massa em Diálise: Estudo do Efeito da Hidrodinâmica do Escoamento**. Dissertação de M.Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 1991.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **Censo Brasileiro de Diálise, 2012**. 2013. Disponível em: < <http://www.sbn.org.br/pdf/publico2012.pdf>> Acesso em: 02 nov. 2013.

SUN, S.; YUE, Y.; HUANG, X.; MENG, D. “Protein Adsorption on Blood-Contact Membranes”. **Journal of Membrane Science**, v. 222, pp. 3-18, 2003.

TANG, M.; XUE, J.; YAN, K.; XIANG, T.; SUN, S.; ZHAO, C. “Heparin-Like Surface Modification of Polyethersulfone Membrane and its Biocompatibility”. **Journal of Colloid and Interface Science**, v 386, pp. 428-440, 2012.

THANGAMUTHU, R.; SUBRAMANIAN, P.; LAKSHMI, M.; BHATTACHARYA, S.; VARMA, I. K. “Effect of Sulfonation on Thermal Properties of Poly (ether imide)”. **High Performance Polymers**, v. 18, pp. 115-126, 2006.

TSUNODA, N.; KOKUBO, K.; SAKAI, K.; FUKUDA, M.; MIYAZAKI, M.; HIYOSHI, T. “Surface Roughness of Cellulose Hollow Fiber Dialysis Membrane and Platelet Adhesion”. **ASAIO Journal**, v. 45, n. 5, pp. 418 – 423, 1999.

TURNER, N.; FARRELL, E. **Haemodialysis was first used successfully in 1945**. 2009. Disponível em: <<http://historyofnephrology.blogspot.com.br/2009/06/haemodialysis-was-first-used.html>> Acesso em: 22 de março de 2014.

TURNER, N. “The Korean War 1950-3: Acute Dialysis Finds its Place”. History of Nephrology, 2011.

TZONEVA, R.; SEIFERT, B.; ALBRECHT, W.; RICHAU, K.; GROTH, T.; LENDLEIN, A. “Hemocompatibility of Poly(ether imide) Membranes

Functionalized with Carboxylic Groups”. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 19, pp. 3203-3210, 2008.

TWARDOWSKI, Z. J. “History of Hemodialyzers’ Designs”. **Hemodialysis International**, n. 12, pp. 173 – 220, 2008.

VENKATRAMAN, S.; YUN, X.; YINGYING, H.; MONDAL, D.; LIN, L. K. “Bioactive Coating for Implanted Devices”. In: Zhang, S. (ed), **Biological and biomedical coatings handbook: applications**, cap. 10, Taylor and Francis Group, Estados Unidos da América, 2011.

YANG, M. C.; LIN, W. C. “Protein Adsorption and Platelet Adhesion of Polysulfone Membrane Immobilized with Chitosan and Heparin Conjugate”. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 14, pp. 103-113, 2003.

YARD, D. H. “Why Use of Home-Bases Dialysis Lags”. *Renal and Urology News*, 2009.

WILLIAMS, D. “Revisiting the Definition of Biocompatibility”. **Medical Device Technology**, v. 14, n. 8, pp. 10 – 3, 2003.

# ANEXOS

## A1. CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE SÍNTESE DAS FIBRAS OCAS

<b>Fiação 1</b>	
Sistema polimérico	PEI/PVP/NMP (15%/5%/80%)
Composição do líquido interno	Água
Pressão da solução polimérica	1 bar
Vazão de líquido interno	7,8 mL/min
Vazão da solução polimérica	4,7 g/min

Condição	DEB (cm)	Velocidade de fiação (cm/s)	Tempo de exposição (s)
1	10	6,77	1,48

<b>Fiação 2</b>	
Sistema polimérico	PEI/PVP/NMP (15%/10%/75%)
Composição do líquido interno	Água
Pressão da solução polimérica	5 bar
Vazão de líquido interno	5,6 mL/min
Vazão da solução polimérica	4,4 g/min

Condição	DEB (cm)	Velocidade de fiação (cm/s)	Tempo de exposição (s)
1	20	3,52	5,68

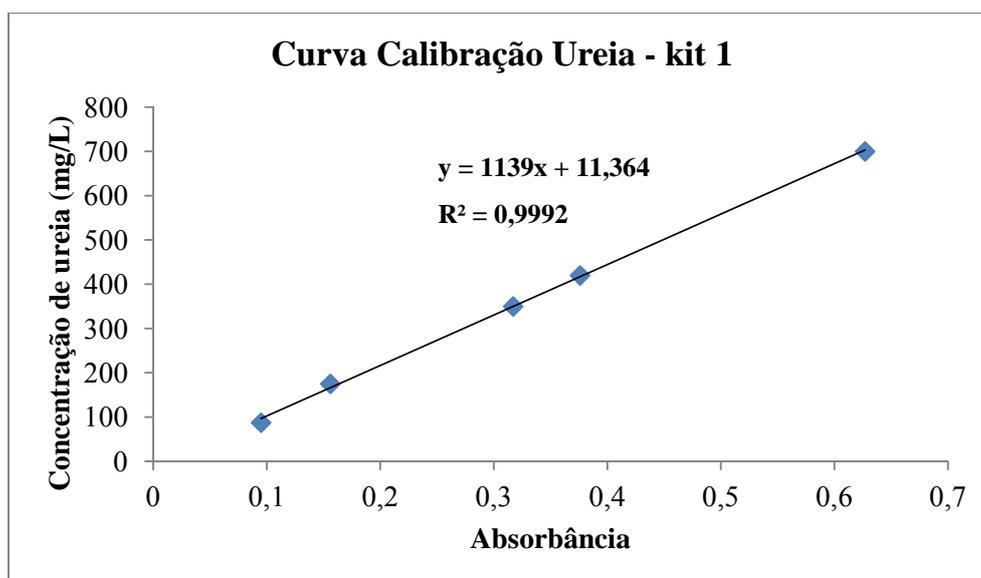
<b>Fiação 3</b>	
Sistema polimérico	PEI/PVP/NMP (12%/10%/78%)
Composição do líquido interno	Água
	Água:NMP (4:1)
Pressão da solução polimérica	2 bar
Vazão de líquido interno	5,4 mL/min
	3,7 mL/min
Vazão da solução polimérica	4,6 g/min

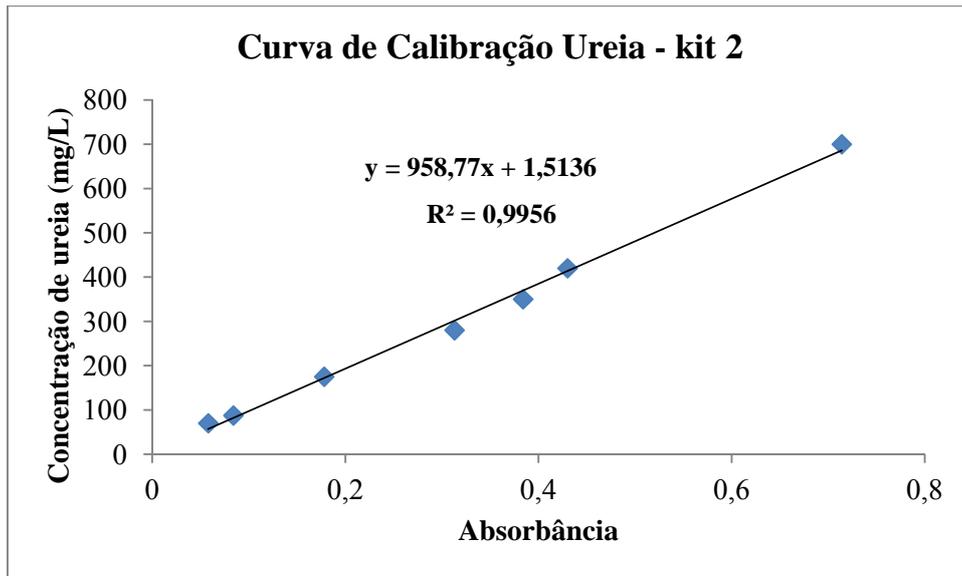
Condição	DEB (cm)	Velocidade de fiação (cm/s)	Tempo de exposição (s)
1	20	3,65	5,48
2	20	3,42	5,85

## A2. CURVAS DE CALIBRAÇÃO UTILIZADAS NAS CARACTERIZAÇÕES DAS MEMBRANAS PLANAS E FIBRAS OCAS

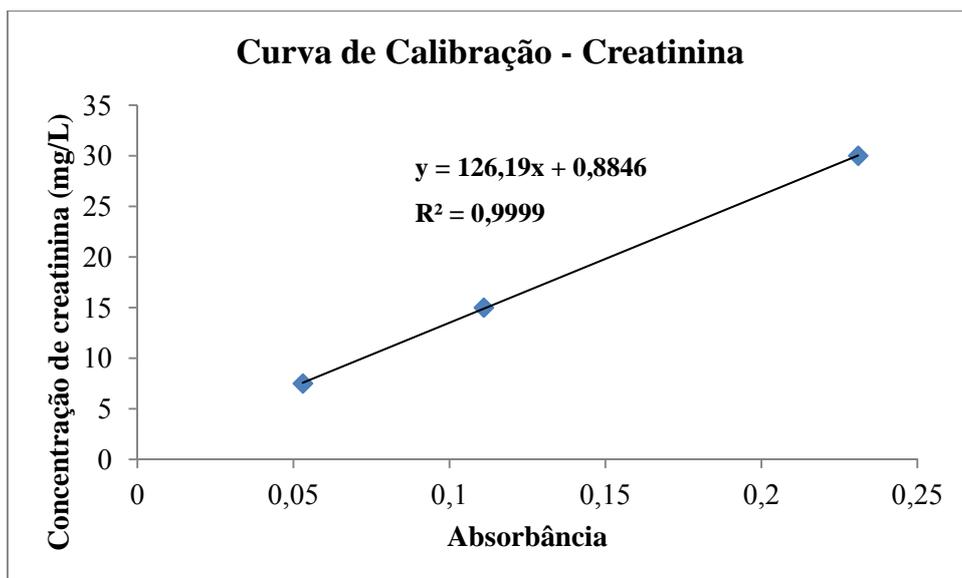
### A2.1. Curva de calibração da ureia

Para cada kit utilizado, foi determinada uma curva de calibração.

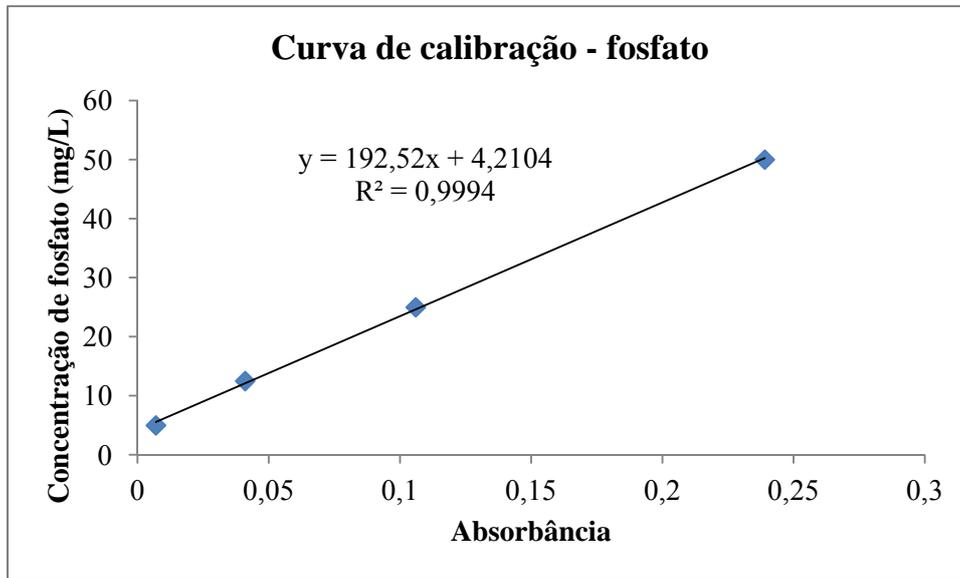




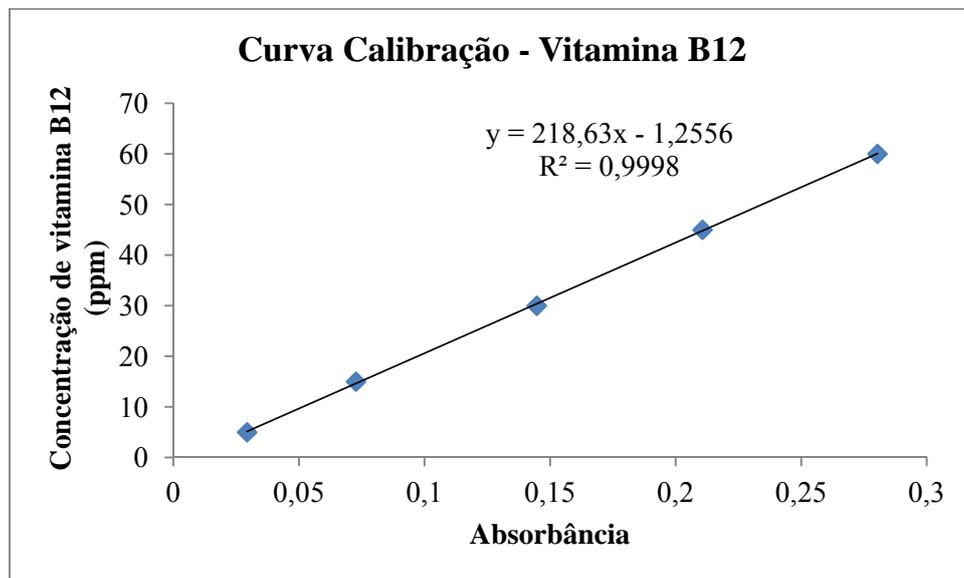
#### A2.2. Curva de calibração da creatinina



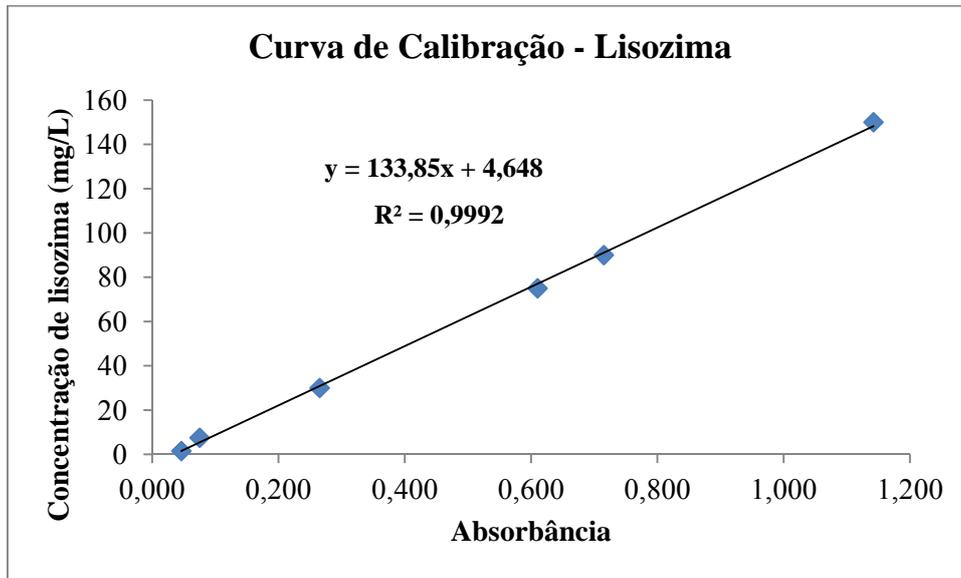
### A2.3. Curva de calibração do fosfato



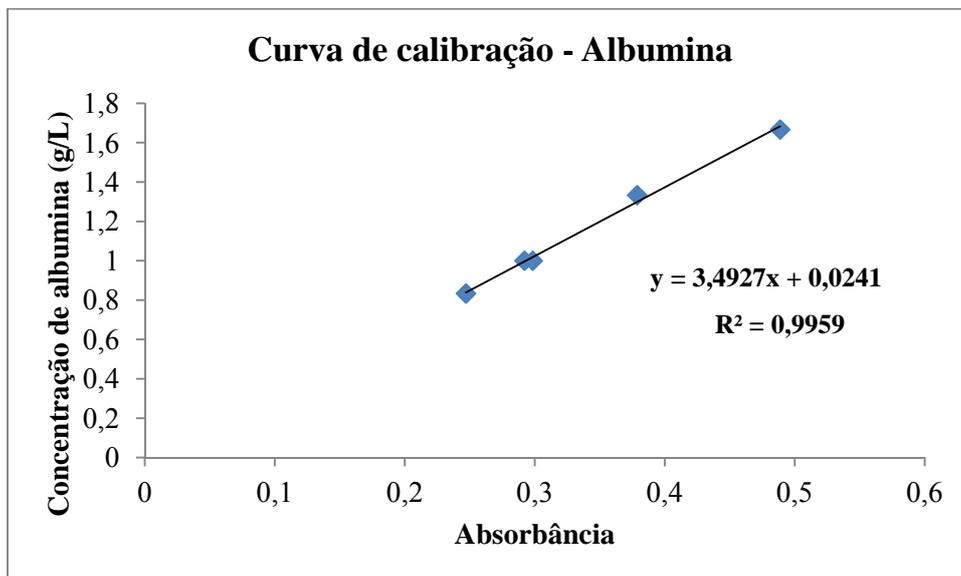
### A2.4. Curva de calibração da vitamina B12



### A2.5. Curva de calibração da lisozima



### A2.6. Curva de calibração da albumina



## A2.7. Curva de calibração da heparina

