

Universidade do Porto

FEUP Faculdade de
Engenharia

DESENVOLVIMENTO DE ELÉCTRODOS DE
ELECTROREGENERAÇÃO NERVOSA COM BASE EM POLÍMEROS
CONDUTORES

TESE DE MESTRADO

Mestrado Integrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais

Orientador:

Professor Doutor José Carlos Fonseca

Trabalho realizado por:

Luís Miguel Sá Martins

Data de entrega: Setembro de 2010

<i>CANDIDATO</i>	Luís Miguel Sá Martins	<i>Código</i> 040508008
<i>TÍTULO</i>	Desenvolvimento de Eléctrodos para Electroestimulação Nervosa com base em Polímeros Condutores	
<i>DATA</i>	6 de Outubro de 2010	
<i>LOCAL</i>	Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto – Sala F103 – 10:00 horas	
<i>JÚRI</i>	Presidente - Professora Maria da Ascensão Lopes	DEMM/FEUP
	Arguente - Professor Luís Augusto Rocha	DEM/EEUM
	Orientador - Professor José Carlos Fonseca	DEMM/FEUP

É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se à derrota, do que formar fila com os pobres de espírito que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota.

T. Roosevelt

AGRADECIMENTOS

Agradecer é admitir que houve um momento em que se precisou de alguém, é reconhecer que jamais o homem poderá atingir o dom de ser auto-suficiente. Ninguém e nada cresce sozinho, é sempre necessário um olhar de apoio, uma palavra de incentivo, um gesto de compreensão.

Como tal, dedico este espaço a todos aqueles que directa ou indirectamente contribuíram para a realização desta tese de temática tão inovadora, ambiciosa e de certa forma sonhadora.

O tema do projecto elaborado, foi acordado e definido somente pelo meu orientador e por mim, revelando-se por isso um pouco “egoísta” no que diz respeito aos intervenientes, estando o projecto essencialmente dependente da minha pessoa.

No entanto, em especial, agradeço ao Dr. Carlos Fonseca que me guiou de forma sábia, empenhada e muitas vezes paciente tratando o meu projecto como se de um projecto seu se tratasse, mostrando diariamente interesse pelos desenvolvimentos do mesmo, conseguindo, face aos problemas ocorridos ao longo do projecto, instruir-me e orientar-me de forma a conseguir atingir os objectivos aos quais me propunha.

Assinalo também o meu grande apreço pela minha família e amigos que pela sua proximidade ajudaram-me e apoiaram-me, muitas vezes inconscientemente, fazendo com que “este barco chegasse a bom porto”.

Faço também notar a minha enorme estima pelo Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da FEUP, donde tenho vindo a receber uma sólida formação. Reconheço também a importância do CEMUP e INEB que, pela tecnologia disponibilizada, ajudaram-me a conseguir o máximo de proveito deste projecto.

A todos agradeço, profundamente, e dedico o resultado do trabalho.

RESUMO

Este trabalho teve como objectivo o desenvolvimento de eléctrodos de ouro revestidos com um filme de polímero condutor. O alvo do projecto são os doentes que têm a medula espinhal danificada, facto que os impede de moverem-se livremente. Para tal problema não existe ainda solução. A medula espinhal é como uma “auto-estrada” de informação partilhada entre o cérebro e todas as zonas do corpo, que permite a este receber e dar ordens no sentido de se executar movimentos, reagir, entre outras acções. Uma vez lesada, existe um corte na via de comunicação entre o cérebro e o resto do corpo. Estudos por todo o mundo têm vindo a ser feitos apontando soluções várias para minimizar tal problema. Se fosse possível fazer crescer os axónios na zona lesada conseguiríamos estabelecer uma “ponte” no local da lesão conectando novamente o sistema. Um dos métodos sugeridos aponta para a electroestimulação. Esta poderia ser conseguida através de dois eléctrodos, um em cada lado da lesão, e através da aplicação de uma diferença de potencial promover-se-ia o crescimento dos axónios. Para isto, fez-se a síntese de PPy (polypyrrole) e PEDOT (poly(3,4-ethylenedioxythiophene)) sobre um fio de ouro. Elaboraram-se sínteses à temperatura de $-20 \pm 2^\circ\text{C}$, $0 \pm 2^\circ\text{C}$ e $25 \pm 2^\circ\text{C}$, utilizando-se três espécies de aniões dopantes, provenientes do KNO_3 , o KCl e o SDS (sodium dodecyl sulfate). De modo a verificar as propriedades eléctricas de cada eléctrodo produzido, para as diferentes situações de síntese foram elaborados testes electroquímicos de voltametria cíclica (VC) e de espectroscopia de impedância (EIS). Verificou-se que quanto menor é a temperatura de síntese melhor será o desempenho eléctrico do eléctrodo. Foram também obtidos espectros FTIR e captadas imagens SEM. A situação de síntese do PPy/ KNO_3 a -20°C foi aquela que produziu o eléctrodo com melhores características eléctricas. O PPy/ KCl a -20°C obteve também resultados muito positivos neste campo. Tendo isso em consideração, estas duas condições foram escolhidas para revestirmos estes dois eléctrodos regenerativos com um hidrogel de alginato a 0.75%, verificando-se que as propriedades eléctricas para a situação PPy/ KNO_3 a -20°C , diminuem cerca de 25% na presença do hidrogel, contudo, a biocompatibilidade dos eléctrodos com o organismo melhora. Os mesmos tipos de ensaios foram feitos para o PEDOT contudo conduziram a resultados inferiores e pouco reprodutíveis.

Palavras chave: PPy, PEDOT, polímeros, medicina, neurologia, biomateriais, condução, electroestimulação, regeneração, espinhal, voltametria, eléctrodos, compósitos, SNC

ABSTRACT

We focus on developing gold electrodes coated with a conductive polymer film. The aim of the project are patients who have spinal cord damage, which prevents them from moving freely. For this problem there is still no solution since the regeneration of central nervous system, where you insert the spinal cord has not yet been achieved. The spinal cord is like a "highway" of information shared between the brain and all areas of the body, allowing it to move, react to stimuli among other actions. Once injured, there is a cut in the communication pathway between the brain and the body. Studies around the world have been made pointing several solutions to minimize this problem. If it were possible to grow axons in the injured area we could establish a "bridge" in the injured reconnecting the system. One method suggested points to the electro-stimulation. For this, it would use two electrodes, one on each side of the lesion and by applying a potential, it would promote the growth of axons. For this, he became the synthesis of PPy (polypyrrole) and PEDOT (poly (3,4-ethylenedioxythiophene) on a gold wire. Were prepared summaries at $-20 \pm 2^\circ\text{C}$, $0 \pm 2^\circ\text{C}$ and $25 \pm 2^\circ\text{C}$ using three different species of anions dopants in particular KNO_3 , KCl and SDS (sodium dodecyl sulfate) . In order to verify the electrical properties of each electrode formed, for different situations synthesis tests were elaborated electrochemical cyclic voltammetry (CV) and impedance spectroscopy (EIS). It was found that the smaller the synthesis temperature the better the electrical performance of the electrode. We also obtained FTIR spectra and SEM images were captured. The situation of synthesis of PPy/ KNO_3 at -20°C was the one that produced the electrode with better electrical characteristics. The PPy/ KCl at -20°C also obtained very positive results in this field. Therefore, these two conditions were chosen to clothe the electrode consists of gold and PPy with alginate, verifying that the electrical properties of the situation PPy/ KNO_3 at -20°C , do not have diminished in the presence of hydrogel, is also significantly improving its biocompatibility with the body. The same types of tests were made for the PEDOT yet led to lower and less reproducible results.

Keywords: PPy, PEDOT, polymers, neurology, biomaterials, conducting, electro-stimulation, regeneration, spinal, voltammetry, electrodes, composites, CNS

LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

PCs - Polímeros Condutores

PEDOT - Poly(3,4-ethylenedioxythiophene)

PPy - Polypyrrole

Py - Pirrole (C_4H_5N)

SNC - Sistema Nervoso Central

SNP - Sistema Nervoso Periférico

ME - Medula Espinhal

PANI - Polianilina

PT - Politiofeno

PMMA - Polimetil-metacrilato

PVC - Policloreto de Vinila

PA - Poliacetileno

FTIR - Fourier Transform Infrared Spectroscopy

SEM - Scanning Electron Microscope

OFET - Organic Field-effect Transistor

XPS - X-ray Photoelectron Spectroscopy

EDS - Energy Dispersive X-ray Spectroscopy

SIMS - Secondary Ion Mass Spectrometry

SDS - Sodium Dodecyl Sulfate ($C_{12}H_{25}NaO_4S$)

EIS - Electrochemical Impedance Spectroscopy

VC - Voltametria Cíclica

Índice

Resumo	i
Abstract.....	ii
Lista de símbolos e abreviaturas.....	iii
1. Motivação e enquadramento do projecto.....	1
2. Objectivos.....	2
3. Introdução teórica	3
3.1. O sistema nervoso	3
3.2. Lesões típicas do SNC.....	6
3.3. Estratégias usadas para tratamento e regeneração de lesões do SNC.....	8
3.4. Utilização de eléctrodos na regeneração de nervos na ME	11
3.5. Polímeros Condutores como Biomateriais	13
3.5.1. Generalidades	13
3.5.2. A importância da interface bioelectrónica	15
3.5.3. Estrutura molecular e condutividade	16
3.5.4. Métodos de síntese.....	19
3.5.5. Métodos de caracterização.....	20
3.5.6. Polímeros condutores em aplicações biomédicas.....	21
3.5.7. Estratégias de funcionalização para aplicações biomédicas	22
3.6. Vantagens da utilização de PCs em eléctrodos de regeneração nervosa.....	25
4. Metodologia experimental	27
4.1. Síntese	27
4.2. Ensaio electroquímico	29
4.3. Obtenção de imagens SEM e espectros FTIR	31
4.4. Revestimento do eléctrodo com hidrogel	32
5. Resultados experimentais e discussão.....	33
5.1. PPy – Resultados electroquímicos.....	33
5.2. PPy – Resultados SEM/EDS e FTIR	47
5.3. PEDOT – Resultados electroquímicos	53
5.4. PEDOT – Resultados SEM/EDS.....	55
6. Conclusões	57
7. Sugestões e perspectivas futuras	57
8. Referências bibliográficas.....	58

1. Motivação e enquadramento do projecto

Este trabalho surgiu após a realização de uma monografia para a disciplina de seminário do quinto ano do curso do Mestrado Integrado em Engenharia Metalúrgica e Materiais, monografia essa que se intitulava “Polímeros Condutores em Aplicações Biomédicas”, surgindo a oportunidade de realizar num dos laboratórios do departamento do curso um trabalho prático referente ao tema.

O tema surgiu por proposta do orientador, à qual respondi imediatamente que sim por me parecer um tema de propósito muito actual, bem como, tal projecto viria a constituir mais um pequeno passo no “sonho” de encontrar uma solução para todos aqueles que sofrem de lesão na ME, lesão essa que até ao momento não tem cura. Tal enfermidade altera completamente a vida das pessoas, principalmente quando a lesão é causada por acidente traumático ou quando ocorre em pessoas muito jovens, pois, a partir do momento da lesão a vida delas estará sempre dependente de outras pessoas, fazendo com que os estilos de vida e hábitos venham de um momento para o outro a ser alterados. Como tal, esta doença acarreta consigo muitos custos sociais e económicos.

A paraplegia, é normalmente o resultado de mais de 60% das lesões na ME. Tal patologia pode classificar-se de completa ou incompleta dependendo do facto de existir ou não controlo e sensibilidade periféricos abaixo do nível da lesão da pessoa em questão. Numa pessoa paraplégica normalmente isto traduz-se na perda de controlo e sensibilidade nos membros inferiores.

Por tudo isto e muito mais, este estudo revela-se gratificante e até mesmo emocionante por saber que estarei a ajudar na busca de uma solução que poderá um dia fazer sorrir mais de três milhões de pessoas em todo o mundo.

O projecto desenvolvido baseou-se sobretudo no conceito de electroestimulação nervosa. Na comunidade científica, tal conceito é cada vez mais reportado em artigos científicos e livros, que referem possíveis soluções de reparação do SNC no qual se insere a ME. Alguns artigos afirmam que é possível regenerar nervos da ME implantando nos limites da zona lesionada eléctrodos que por aplicação de potencial proporcionariam o crescimento neuronal. Deste modo, este projecto procura contribuir para tal desafio, concessionando um eléctrodo revestido com um PC e envolvido com um hidrogel, eléctrodo esse que deverá ter boas características eléctricas, tais como carga e capacidade específica de forma a cumprir tal objectivo. O trabalho prático do projecto foi levado a cabo de Março a Agosto de 2010.

2. Objectivos

Procura-se com este trabalho demonstrar a viabilidade dos PCs no universo das aplicações biomédicas, em especial na área da regeneração nervosa. Focalizou-se o trabalho no desenvolvimento de eléctrodos baseados em PCs. O alvo do projecto são as pessoas paraplégicas que têm lesões nervosas na ME, o que faz com que não se consigam mover livremente. Neste contexto, este projecto procurou desenvolver uma nova geração de eléctrodos de electroestimulação baseados em PCs, nomeadamente o PPy e o PEDOT.

O PPy e o PEDOT formaram-se sobre o ouro, sob alteração de dois parâmetros de síntese: a temperatura e o tipo de anião dopante. Um dos objectivos do projecto é o estudar o efeito dessas diferentes situações de síntese sobre as propriedades eléctricas finais dos eléctrodos, correlacionando os parâmetros temperatura e tipo de anião dopante usado de forma a encontrar a melhor situação de síntese para a concepção do eléctrodo com o melhor desempenho. Procura-se também estudar o efeito do envelhecimento¹ nas propriedades eléctricas dos eléctrodos, em especial, compara-las com as propriedades antes do envelhecimento.

Outro objectivo era seleccionar dois dos eléctrodos com melhores propriedades eléctricas obtidas nos ensaios electroquímicos e revesti-los com alginato a 0.75% de forma a melhorar a biocompatibilidade do eléctrodo vendo também o efeito de tal hidrogel nas suas propriedades eléctricas. A morfologia dos eléctrodos constituiu também uma meta a cumprir.

O eléctrodo de electroestimulação a conceber deverá, em conjunto com um segundo eléctrodo, ser capaz de gerar um campo eléctrico suficiente para estimular electricamente o crescimento neuronal das células colocadas entre eles, uma vez implantados. No caso específico deste projecto tais eléctrodos têm como objectivo a promoção do crescimento dos axónios, responsáveis pela transmissão de informação no SNC. Este campo é conseguido através da passagem de uma corrente eléctrica entre os dois eléctrodos, obtida através da aplicação de uma diferença de potencial². Os axónios tendem a crescer em direcção ao cátodo. O eléctrodo para estimulação nervosa deverá cumprir os seguintes requisitos:

- Ser capaz de gerar a corrente eléctrica necessária à obtenção do campo eléctrico, mantendo contudo o potencial dentro da zona de estabilidade da água;
- O potencial de interface não deve dar origem a espécies tóxicas para o organismo;

¹ Considera-se envelhecimento como a perda das propriedades eléctricas devido ao uso em serviço do eléctrodo

² A relação entre o campo eléctrico, a condutividade da solução e a corrente eléctrica é : $E = \frac{\text{corrente}}{\text{condutividade}}$

- Apresentar propriedades mecânicas semelhantes às dos tecidos de modo a diminuir a reacção inflamatória bem como ser estável do ponto de vista químico e eléctrico.

3. Introdução teórica

3.1 Aspecto geral do sistema nervoso

O SN é o sistema responsável por receber e enviar sinais entre o cérebro e o corpo. Consegue-se assim munir os seres humanos e alguns animais com a capacidade de coordenação de movimentos. Como é visível na figura 1, tal sistema é constituído pelo cérebro, ME e nervos periféricos que juntos contêm milhões de neurónios [1].

A sua função combina três etapas sequenciais: na primeira, o SN recolhe informações de carácter diverso sobre o estado do organismo, as quais são provenientes tanto do interior como do seu exterior; numa segunda etapa, as informações captadas são conduzidas e transmitidas ao cérebro, onde serão analisadas e processadas; finalmente, do cérebro partem impulsos nervosos que providenciarão uma resposta motora adequada às necessidades do

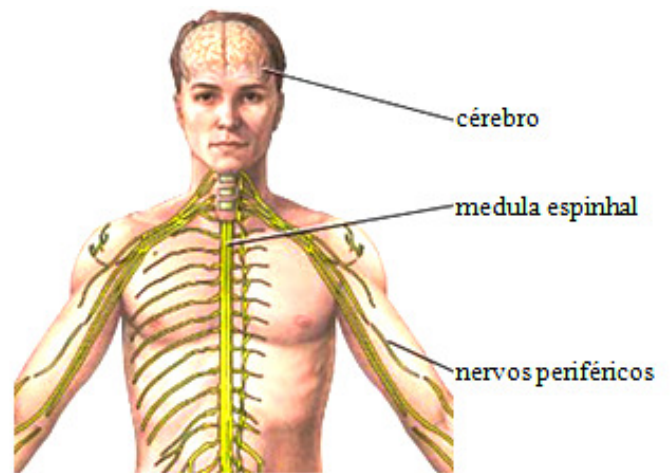


Figura 1. Esquema do sistema nervoso humano [2].

organismo. As suas unidades básicas são as células nervosas, ou neurónios, e células de suporte físico e metabólico designadas células da glia [3].

As células excitáveis do sistema nervoso são compostas por três classes de neurónios: os eferentes ou sensoriais, aferentes ou motores e os interneurónios. Os neurónios aferentes são células associadas a receptores especializados que informam o SN, das condições do ambiente interno e externo, enquanto que os eferentes transportam instruções do SN para os músculos e glândulas. São também responsáveis por todo o tipo de movimentos, secreções ou comportamentos, incluindo a fala. Quanto aos interneurónios, são responsáveis pela integração da informação aferente e formulação de uma resposta eferente, assim como, todas as funções mentais superiores associadas à mente.

As células da glia, foram consideradas, durante muito tempo, “exclusivamente” como células de suporte ao funcionamento dos neurónios. Sabe-se agora que estas células contribuem de modo determinante para o desenvolvimento do sistema nervoso e para a fisiologia do cérebro adulto. Apesar de serem mais numerosas, as células da glia não transmitem informação pelos mesmos processos que os neurónios [4].

O neurónio em si, é formado por um corpo celular e por dois conjuntos de ramificações. A um destes conjuntos denominamos axónio sendo sua função transmitir informação do neurónio a outras células á qual se encontra funcionalmente ligado. O outro conjunto designa-se dendrites tendo estas a seu cargo a responsabilidade de receber a informação transmitida pelos axónios de outros neurónios. Ao ponto de contacto de tais ramificações com o corpo celular designamos sinapses. Os neurónios organizam-se em circuitos e redes bastante complexos, que constituem as vias de transmissão da informação no SN. Tais factos e outros estão pormenorizadamente ilustrados na figura 2.

A estrutura básica do sistema nervoso assemelha-se em todos os seres vertebrados. O que distingue o cérebro humano do cérebro de outros seres vivos é o seu grande tamanho relativamente ao tamanho do corpo. Esta característica deve-se sobretudo ao aumento do número de interneurónios ao longo da evolução, munindo o ser humano com muitas possíveis reacções a mudanças no ambiente [4,5].

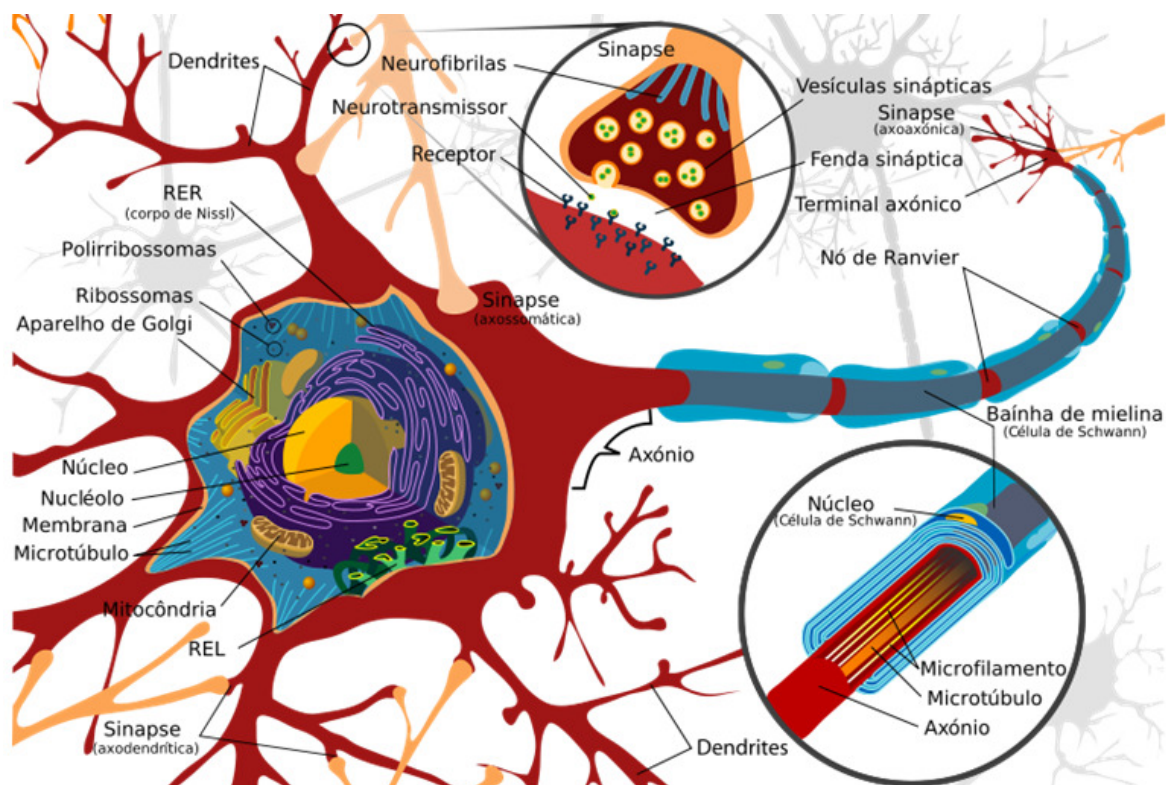


Figura 2. Exemplo ilustrativo da estrutura do neurónio [6].

Neste projecto em particular, daremos mais ênfase ao SNC por ser aí a base física de actuação da aplicação que pretendemos desenvolver. Como dito, define-se SNC ao conjunto constituído pelo cérebro e pela ME. A ME funciona como uma “auto-estrada” entre o cérebro

e o corpo permitindo que simultaneamente sejam trocadas informações entre o cérebro e o corpo e vice-versa. Logo, através do SNP as informações são difundidas para todo o corpo.

O cérebro e a ME estão ligados a receptores sensoriais e a músculos, através de longos axónios que formam os nervos periféricos. A ME tem duas funções principais: participa em reflexos simples, como o reflexo do joelho ou a retirada rápida de um membro quando entra em contacto com um objecto quente ou após uma picada, e também em reflexos mais complexos; a ME funciona também como a principal via de comunicação bidireccional entre o corpo e o cérebro.

O cérebro tem milhares de milhões de células nervosas que ajudam nas nossas actividades mais básicas como respirar, pensar, caminhar entre outras. O SN tem a capacidade de reagir a estímulos em milésimos de segundos.

A ME, a principal via de comunicação entre o cérebro e o resto do organismo, é uma estrutura cilíndrica de nervos que se estende da base do cérebro na direcção descendente para terminar nas primeiras vértebras lombares. A coluna vertebral é composta por mais de 30 ossos vulgarmente chamados vértebras, e discos intervertebrais que permitem que a coluna cervical se incline bem como também a protegem. A ME é também protegida por um fluido circundante e por três membranas.

Esta medula esta muito bem organizada; os nervos estão ordenados em feixes e não ao acaso. A parte anterior da ME contém os nervos motores, que tal como abordado anteriormente, transmitem informação aos músculos e estimulam o movimento. A parte posterior e lateral da ME contém os nervos sensitivos, que levam a informação sensorial ao cérebro.

A ME apresenta-se sob a forma de um longo cordão arredondado, ligeiramente achatado, percorrido por sulcos longitudinais. O seu comprimento médio é de 45 cm e o seu diâmetro de 1 cm.

No seu conjunto, a ME, está situada numa cavidade cilíndrica criada pela sobreposição das vértebras, o canal raquidiano. O diâmetro deste canal é nitidamente maior do que o da medula, o que permite uma certa mobilidade desta última aquando dos movimentos de flexão e de extensão da coluna vertebral.

Os nervos espinais são denominados de acordo com a região na coluna vertebral: são 8 pares de nervos cervicais (pescoço), 5 nervos lombais (abdominal), 12 nervos torácicos (peito), 5 nervos sacrais (pélvica) e 1 nervo coccígeo (cócix). A elasticidade da ME não é

igual em toda a sua extensão, sendo específica de cada uma das diferentes regiões do do corpo [1].

Na figura 3 podemos ver mais pormenorizadamente as diferentes zonas da ME bem como a sua constituição.

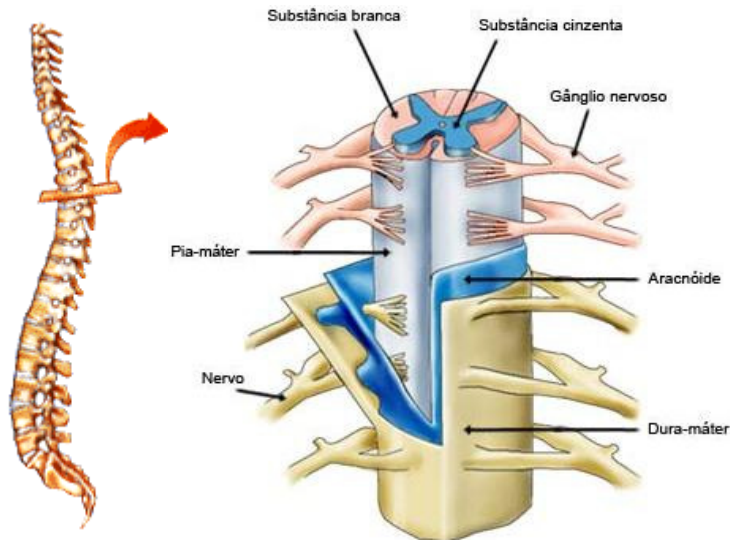


Figura 3. Esquema ilustrativo de um corte na secção transversal da ME [7].

3.2 Lesões típicas do SNC

Entre todas as zonas do corpo que podem estar sujeitas a lesão, o SNC constitui a zona que, quando lesionada, trará problemas de maior gravidade a todos os níveis, pois tal sistema é incapaz de regenerar as lesões nele ocorridas, algo que o SNP já consegue sob determinadas condições.

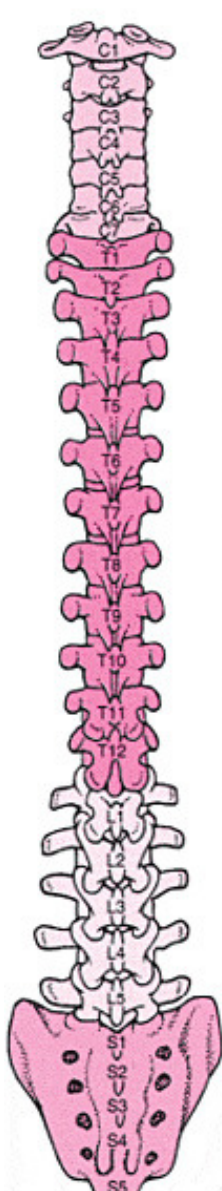
A lesão ocorre quando a ME é sujeita a uma grande compressão ou quando o sangue que a alimenta é cortado. Tal lesão pode ser fruto de doenças degenerativas, infecções, tumores ou traumas, entre outros. O trauma, ocorre em virtude de acidentes automobilísticos, quedas, lesões durante a prática de desportos, principalmente mergulhos mal calculados, acidentes industriais, agressões físicas, entre outros. Um traumatismo aparentemente sem importância pode lesar a ME se a coluna vertebral estiver enfraquecida, como no caso de artrite reumatóide ou osteoporose. O traumatismo na ME geralmente provoca perda permanente da função, como a paralisia, pois as fibras nervosas demoram para cicatrizar e, se destruídas, não se regeneram. Em alguns casos, o traumatismo na ME pode provocar a morte.

A recuperação do movimento ou da sensibilidade durante a semana posterior ao traumatismo costuma ser o prenúncio de uma recuperação favorável, mas qualquer disfunção

que persista depois de 6 meses é provável que seja irreversível. Uma vez destruídos os nervos espinhais, a disfunção será permanente [8,9].

Na figura 4 podemos ver os efeitos das lesões na ME de acordo com a sua localização, sendo que estas provocam na maior parte das vezes paraplegia.

Estudos epidemiológicos estimam que a lesão na ME ocorra principalmente em homens (81%) com idade entre 16 e 30 anos, atingindo a fase mais produtiva da sua vida. Aproximadamente 40% dos pacientes sofrem tetraplegia e 60% têm paraplegia [10].



	Nível da Lesão	Efeito*
CERVICAL	C1 a C5	Paralisia dos músculos utilizados na respiração e de todos os músculos dos membros superiores e inferiores. Geralmente ela é fatal
	C5 a C6	Pernas paralisadas; discreta capacidade de flexão dos membros superiores
	C6 a C7	Paralisia dos membros inferiores e parte dos punhos e das mãos. Os movimentos dos ombros e a flexão do cotovelo estão relativamente preservados
TORÁCICA	C8 a T1	Paralisia dos membros inferiores e do tronco; ptose palpebral; ausência de sudorese na fronte (síndrome de Homer); braços relativamente normais; mãos paralisadas
	T2 a T4	Paralisia dos membros inferiores e do tronco; perda da sensibilidade abaixo dos mamilos
	T5 a T8	Paralisia dos membros inferiores e da parte inferior do tronco; perda da sensibilidade abaixo da caixa torácica
	T9 a T11	Pernas paralisadas; perda da sensibilidade abaixo da cicatriz umbilical
	T12 a L1	Paralisia e perda da sensibilidade abaixo da virilha
	L2 a L5	Diferentes padrões de fraqueza e entorpecimento dos membros inferiores
LOMBAR	S1 a S2	Diferentes padrões de fraqueza e entorpecimento dos membros inferiores
	S3 a S5	Perda do controle da bexiga e dos intestinos; entorpecimento no períneo
SACRAL		

*A perda do controle da bexiga e do intestino é comum no caso de lesão grave em qualquer ponto ao longo da coluna vertebral

o

Até aos dias de hoje, não é possível reparar lesões na ME. Por isso, e visto que se pretende com este trabalho dar um passo na solução desta fatalidade que atinge mais de três

milhões de pessoas em todo mundo³, será importante entender porque não é possível tal regeneração.

Muitos factores são apontados para tal incapacidade, mas a verdade é que parece que ainda nenhum deles conseguiu explicar tal facto. Uma causa apontada, é a formação após lesão de uma cicatriz colagenosa que impede a penetração de axónios, bem como se formam oligodendrócitos que inviabilizam o crescimento dos axónios e conseqüente corte na troca de informação entre o corpo e o cérebro.

Outro factor, acredita-se que possa ser proliferação defeituosa de células de Schwann - as quais, não estando articuladas a qualquer mecanismo de regeneração funcional, promoverão um crescimento e regeneração nervosa que poderá provocar dor no paciente, sem que a nível funcional haja evolução.

Embora ainda muito esteja por explicar, acredita-se que a resposta a todas estas questões e conseqüente solução para os doentes possa estar próxima. Já se observaram resultados positivos no campo da regeneração para o SNP que, apesar de se regenerar com maior facilidade, pois a proliferação das células de Schwann faz com que se formem cordões contínuos que guiam a regeneração dos axónios bem como o seu crescimento, existem ainda muitos pontos de interrogação em torno do modo mais eficaz de promover essa regeneração.

No SNP os estudos têm-se centrado em transplantes celulares, factores neurotróficos, enzimas ou anticorpos que neutralizem os inibidores de crescimento dos neurónios, implantes de enxertos nervosos do próprio paciente, entre outros. O sucesso destas abordagens tem sido relativo estando tudo ainda muito cingido ao laboratório [12,13].

3.3 Estratégias usadas para tratamento e regeneração de lesões no SNC

Até oito horas após contracção da lesão, um procedimento comum de tratamento é a administração aos pacientes de uma alta dose de anti-inflamatório designado de metilprednisolona⁴. Contudo, tem-se afirmado que tal procedimento poderá aumentar o risco de infecções na ME.

Como forma de substituição deste anti-inflamatório já tem sido aplicado aos pacientes soro fisiológico. Na verdade, não existe ainda muito consenso acerca dos procedimentos a tomar depois de uma lesão na ME, não existindo por isso nenhum tratamento dominante, para além de todos aqueles procedimentos típicos hospitalares, que promovem sobretudo a melhoria do bem-estar dos pacientes, não procurando uma solução eficaz e definitiva ao seu

³ Dados provenientes do “The National SCI Statistical Center”, 2006

⁴ Recomendação do “National Acute Spinal Cord Injury Studies” (NASCIS)

problema, ou seja regenerar a ME. Tudo o que envolva regeneração da ME está ainda muito em fase experimental, não existindo até ao momento nenhuma solução viável [10].

No entanto, vários investigadores por todo o mundo têm vindo a apresentar caminhos de pesquisa e procedimentos de forte base científica que futuramente, poderão conduzir a uma solução na regeneração total da ME. Tais estudos, embora com o comum objectivo da regeneração, variam muito no tipo de técnica bem como na abordagem científica, mas todos os métodos tem sempre uma margem de correlação o que faz que se possa identificar pontos comuns entre as diferentes experiências, retirando daí respostas e ilações a ser usadas em investigações futuras.

Dentre os vários caminhos terapêuticos sugeridos em tais estudos, podemos dividir a forma de tratar a lesão em dois grupos, as terapias biomoleculares e as terapias celulares. Nas terapias biomoleculares estudos apresentados têm pretendido:

- a redução da formação da cicatriz colagenosa, obtida pela inibição química da formação de colagenio no sítio da lesão;
- inactivação dos inibidores de crescimento da neurite no local da lesão. Isto assenta na teoria que diz que existem proteínas inibidoras de crescimento na mielina das células de guia, ao contornar este facto conseguir-se-á crescimento da neurite.
- aplicação de moléculas como neurotrofinas promotoras de crescimento axonal.

O outro tipo de estratégia também amplamente abordado pela comunidade científica é a terapia celular. Aqui já se tem tentando por exemplo:

- transplante de medula do tecido fetal para o local da lesão; embora sem sucesso visto que os axónios formados preferem formar nervos sobre a medula do tecido fetal do que continuarem o seu normal crescimento.
- uso de nervos periféricos e de células de Schwann, mas também em tais estudos os axónios formados não foram capazes de estabelecer uma ponte sobre a lesão conectando novamente o SNC.
- transplante de células estaminais; tem sido descrito em muitos estudos e até já foram feitas experiências em ratos onde se verificou alguma recuperação funcional. Isto é possível pois já foi descrito que células estaminais neuronais podem sobreviver cinco semanas no local da lesão tanto células da glia⁵ como neurónios.
- utilização dos neurónios que formam o sistema olfactivo. Sabe-se que o sistema olfactivo é a única parte do SNC passível de regeneração. Tendo isso em conta,

⁵ São células não neuronais do sistema nervoso central que proporcionam suporte e nutrição aos neurónios.

investigadores tentaram cortar nervos dessa parte do corpo e transplanta-los para a zona de ME danificada de forma a repará-la. Contudo, não se obtiveram resultados positivos. Deve-se acrescentar que esta via é mutilante para o paciente [14,15].

Para além destes caminhos vulgarmente abordados, outras vias de regeneração do SNC têm vindo a ser propostas com base no uso de novos materiais e novos modos de abordagem do problema. Tetzlaff et al [16] propôs uma técnica de tubulação de estruturas 3D com terapias combinadas. Ele mostrou que a tubulação traz enormes vantagens servindo como guia para o crescimento dos axónios, impedindo a formação de cicatrizes, permitindo assim a troca de nutrientes e resíduos através de matrizes porosas bem como diminuir a cicatriz colagenosa.

Um outro interessante estudo publicado por Shapiro et al [17] mostra a regeneração nervosa através da aplicação de campo eléctrico por intermédio de eléctrodos fixados na vértebra. Com isto consegue-se fazer crescer axónios em direcção ao cátodo. Revelou-se um estudo muito inovador, pois foi testado em seres humanos durante 15 semanas, ao contrário da maioria das experiências que se centram normalmente em animais ou em simulações laboratoriais. Os testes elaborados após regeneração foram de carácter motor constatando-se a melhoria em certos movimentos de alguns dos pacientes, obtendo-se por isso resultados muito positivos. O dispositivo instalado na ME pode ser visto na figura 5 abaixo.

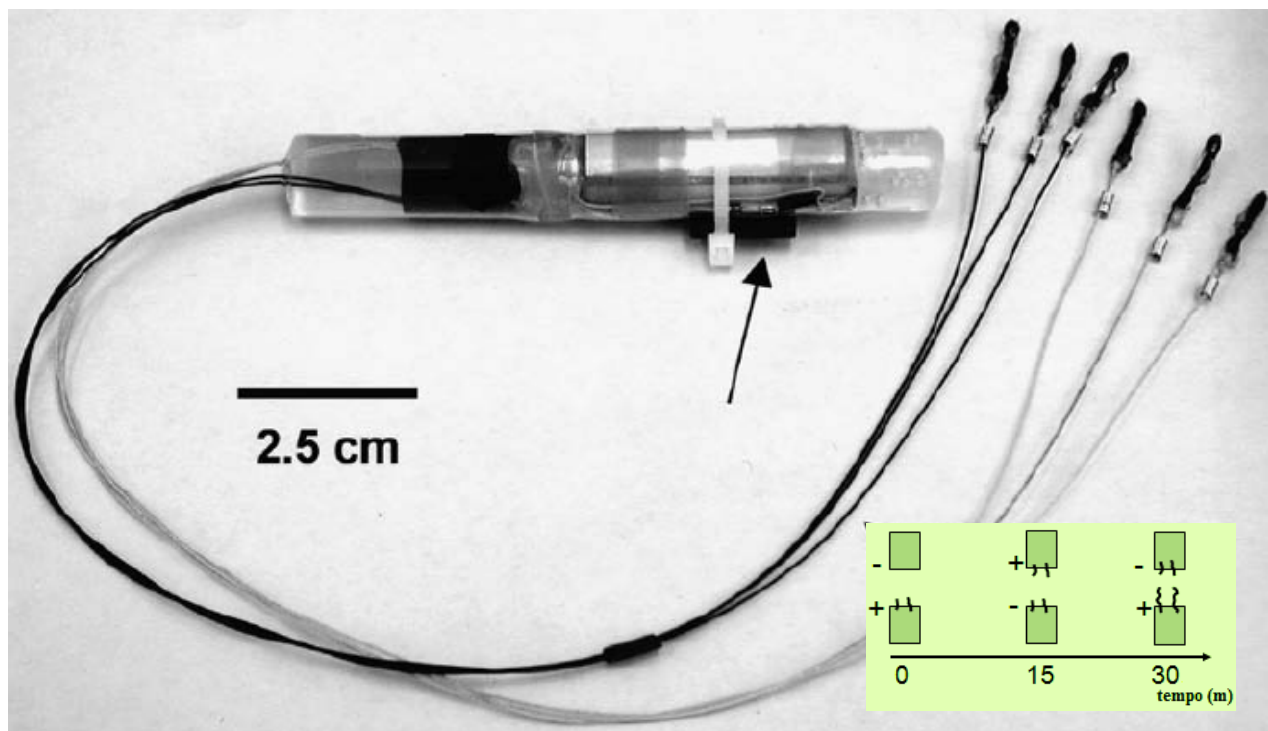


Figura 5. Dispositivo de regeneração nervosa proposto por Shapiro [17].

O esquema verde inerente à figura mostra como é processada a regeneração dos axónios. É aplicado um potencial, que ao gerar um campo eléctrico promove a regeneração. Os axónios crescem em direcção ao cátodo. A ideia, como vemos pela figura 5, é inverter a posição do cátodo e do ânodo de quinze em quinze minutos. Assim conseguiremos que os axónios se desenvolvam dos dois lados até se encontrarem num ponto médio conseguindo a ligação entre os neurónios.

Dentro de todas estas técnicas, para este projecto, dar-se-á ênfase apenas aquelas que tal como o estudo de Shapiro et al [17], usam a estimulação eléctrica como forma de regeneração nervosa na ME. Portanto, as terapias celulares e biomoleculares não serão relevantes neste estudo. Por tudo isto, e visto que para a regeneração por electroestimulação necessitamos de eléctrodos, no ponto seguinte abordar-se-á todos os pontos essenciais inerentes a este assunto.

3.4 Utilização de eléctrodos na regeneração nervosa

No vasto mundo dos biomateriais, define-se eléctrodo ao dispositivo capaz de entregar ou de captar estímulos eléctricos quando em contacto com o tecido biológico. Cada vez mais os eléctrodos são usados no campo biomédico. Já se usam eléctrodos vulgarmente em aplicações de regeneração no SNP, em dispositivos como biosensores de glicose ou “pacemakers” bem como já se implantam eléctrodos no cérebro de doentes de Parkinson tendo estes como objectivo de enviar sinais eléctricos ao cérebro durante um ataque nervoso dos doentes de forma a acalma-los [8, 14].

Cada vez mais estudos focalizam-se na regeneração do SNC através de aplicação de estímulos eléctricos por implantação de eléctrodos no local da lesão. Um dos mais importantes estudos sobre essa matéria foi o de Shapiro et al [17], abordado no ponto 3.3. Tal estudo utilizava um dispositivo contendo seis eléctrodos, mas tinha o entrave de que pelas suas dimensões tinha de ser instalado na coluna vertebral, e desse ponto partiria a estimulação eléctrica para a zona da ME lesionada, o que faz com que seja necessário aplicar um grande potencial eléctrico devido á distância entre o aparelho e a lesão. A razão para que tal dispositivo seja colocado longe do sitio da lesão tem a ver com o principio de funcionamento dos eléctrodos, o qual gera libertação de gases provenientes da electrolise da água e outras reacções electroquímicas.

A utilização de dois eléctrodos em vez do referido dispositivo faria com que estes se pudessem aplicar na ME mesmo no local da lesão fazendo com que se conseguisse aplicar um

potencial superior nessa zona e desse modo obter maior regeneração axónica, conseguindo-se assim uma melhoria mais significativa nos movimentos dos doentes.

Tal teoria já foi sugerida e relatada por Colin McCaig et al [18]. Esta equipa afirma que utilização de eléctrodos compreende a aplicação de dois eléctrodos nos limites da lesão fazendo que com aplicação de um potencial se consiga regenerar axónios, fazendo como que uma nova ponte entre a lesão. Os axónios crescem na direcção ao cátodo e são reabsorvidos depois de 30 minutos frente a frente com o ânodo, daí a necessidade de alterar o cátodo com o ânodo. Na figura 6 abaixo podemos ver como se dá tal crescimento.

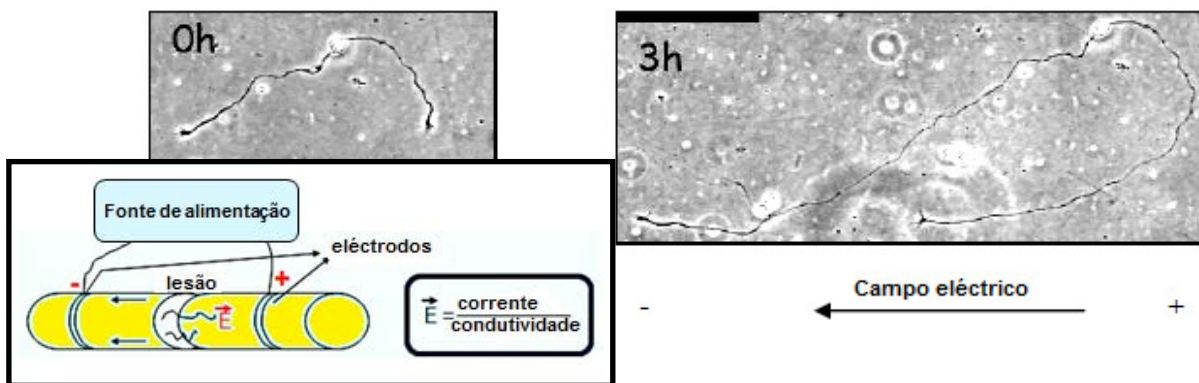


Figura 6. Imagem do crescimento de um neurónio espinal após aplicação de um campo eléctrico. O crescimento dá-se em direcção ao cátodo. Na parte inferior da figura; esquema do sítio de aplicação e funcionamento de eléctrodos na regeneração de axónios [19].

Actualmente, esta não é uma técnica muito comum sendo utilizados eléctrodos não nesta aplicação de regeneração nervosa na ME mas sim mais em regeneração muscular ou de estimulação de neurónios.

Dentro desta abordagem, Richard B. Borgens et al [20] estudaram a resposta dos axónios da ME de mamíferos quando sujeitos aplicação de um gradiente de tensão. Neste estudo, impôs-se um gradiente de tensão estacionário de 0.4V em cobaias adultas sendo a estimulação conseguida através de eléctrodos implantados. Neste estudo a equipa de cientistas procurava estabelecer uma técnica de regeneração de axónios bem como orientar o seu crescimento na ME.

Existem alguns requisitos que devem ser levados em conta quando se pretende projectar e conceber um eléctrodo para estimulação nervosa de forma a que a sua implantação num organismo vivo seja bem sucedida. Tais eléctrodos devem:

- ser bons condutores eléctricos;

- ter baixa impedância interfacial com os tecidos, conseguida através de uma cinética rápida de transferência de carga e de uma elevada área interfacial com os tecidos;
- entrega segura da carga, devendo o potencial electroquímico cair na região de estabilidade com água de forma a evitar a decomposição da água, decomposição essa que vem sempre acompanhada de libertação de gases para o organismo;
- ter propriedades mecânicas semelhantes às dos tecidos pois quando implantados estão sempre sujeitos a micromovimentos responsáveis por inflamações que provocam encapsulamento dos eléctrodos fazendo com que deixem de actuar. O encapsulamento é um resultado defensivo do organismo, que, quando sente um corpo estranho isola-o do resto do corpo colocando-o numa espécie de uma bolha colagenosa. Uma solução para diminuir esta rejeição poderá ser o revestimento dos eléctrodos produzidos com um hidrogel, visto que as suas propriedades mecânicas são muito semelhantes às dos tecidos. Assim consegue-se inviabilizar a abrasão entre os tecidos dificultando a detecção dos eléctrodos como corpo estranho.

Como vimos, estes três estudos abordados revelam-se concordantes no que diz respeito à principal forma como se dá a regeneração nervosa, assentando todos sobre as mesmas bases científicas. Estes três investigadores referidos são aqueles que mais têm investigado sobre este assunto. Apesar de existirem muitos mais cientistas a investigar este tema, todos eles baseiam-se no trabalho científico destes, sendo também este projecto que se apresenta um seguimento do todo o trabalho já investigado por eles. Este projecto procura investigar a utilização dos PCs na concepção de eléctrodos com características mais optimizadas, ajudando a melhorar todo este processo regenerativo. Por isso, no próximo ponto abordar-se-á os PCs quando utilizados como biomateriais, dando ênfase às principais características que os tornam tão apetecíveis na aplicação em eléctrodos regenerativos.

3.5 Polímeros condutores como biomateriais

3.5.1 Generalidades

O desenvolvimento de novos materiais teve uma importância crucial na explosão tecnológica observada a partir do século passado, levando as indústrias e laboratórios de investigação à busca por substâncias que apresentem novas propriedades físico-químicas, menor impacto ambiental e menor custo de produção. Dentro do universo destes materiais encontram-se os PCs.

Vários tipos de polímeros são usados em aplicações biomédicas na área cardiovascular, ortopédica entre outras, não sendo os PCs uma excepção.

Inicialmente, os materiais poliméricos eram conhecidos apenas por serem excelentes isolantes térmicos e eléctricos desconhecendo-se as suas propriedades condutoras. Apenas às vésperas da Segunda Grande Guerra começaram a ser preparados polímeros dotados com condutividade eléctrica e os conceitos que envolvem esta classe de materiais começaram a ser estudados. A ideia de associar propriedades eléctricas dos metais às propriedades mecânicas dos polímeros ocorreu nos anos 50, pela incorporação de cargas metálicas condutoras nestes, produzindo-se assim PCs extrínsecos.

Por muito tempo, as tentativas para obter um PC intrínseco foram frustradas. Somente no início da década de 70, uma nova classe de polímeros foi preparada com significativa capacidade de conduzir electricidade. A descoberta dos PCs teve início acidentalmente. Em 1977, Shirakawa, trabalhando em colaboração com MacDiarmid e Heeger na Universidade da Pensilvânia, EUA, verificou que após a dopagem do PA com iodo, a película prateada flexível tornava-se uma folha metálica dourada, passando a sua condutividade eléctrica de 10^{-8} a 10^3 S.cm⁻¹ [21].

Vulgarmente, muita gente denomina os PCs como “metais sintéticos” por estes apresentarem propriedades eléctricas, magnéticas e ópticas de metais e semicondutores. São formados por cadeias contendo duplas ligações C=C conjugadas. Essa conjugação permite que seja criado um fluxo de electrões em condições específicas. As suas propriedades intrínsecas e potenciais aplicações comerciais ampliaram consideravelmente o campo de pesquisa destes materiais.

Os PCs mais estudados são o PPy, PANI, PEDOT e o PT. Não é fácil de processar um PC no seu estado puro. As ligações conjugadas fazem com que estes materiais, à semelhança dos polímeros termoendurecíveis, sejam pouco flexíveis. Para além disso, são insolúveis em solventes comuns e não é possível fundi-los, pois decompõem-se antes de atingirem o seu ponto de fusão. De forma a melhorar a flexibilidade mistura-se os PCs com polímeros tradicionais (PVC, PMMA, PE) ou introduz-se na sua cadeia mais rígida elementos flexíveis, conseguindo-se assim melhorar significativamente a sua processabilidade em diferentes formas e tamanhos, a sua solubilidade e estabilidade térmica. Assim, conseguem-se compósitos condutores muito maleáveis e com propriedades mais equilibradas embora menos condutores do que os PCs puros. O PPy é nesta classe de materiais aquele que tem recebido mais atenção pelas suas óptimas características mecânicas e condutoras. Já são usados

vulgarmente em monitores LEDs, em células solares, em blindagens electromagnéticas, na microelétrica, etc. Outra propriedade interessante deste PC é o electrocromismo, que possibilita aplicações em dispositivos ópticos e fotoelectrônicos [22].

A obtenção de PCs é mais frequentemente realizada por síntese química ou electroquímica. As propriedades condutoras destes materiais estão dependentes da sua microestrutura e morfologia, sendo estas determinadas essencialmente pelo método de síntese. É importante produzir PCs com o mínimo de defeitos estruturais e com máxima orientação das cadeias pois só assim se consegue melhorar significativamente as suas propriedades. Produzir PCs é um processo perfeitamente comportável economicamente [22].

Como este trabalho insere os PCs no mundo da biomedicina, torna-se importante ter claro o conceito de biocompatibilidade. Existem muitas formas de interpretar este conceito contudo neste trabalho definiremos biocompatibilidade como a capacidade de um material desempenhar a sua função, com uma resposta apropriada, numa aplicação específica (definição aceite pela European Society Of Biomaterials).

3.5.2 A importância da interface bioelectrónica

O aspecto mais intrigante e intensamente investigado dos PCs é a capacidade de serem electronicamente controláveis numa faixa de diferentes propriedades físicas e químicas. À medida que entendemos mais sobre este comportamento, encontramos cada vez mais uma série de áreas em que podem ser utilizados. Talvez o maior desafio dessas áreas seja a construção de uma interface de ligação bioelectrónica fornecendo uma junção e cooperação mais eficaz entre o mundo electrónico e o mundo biológico.

Quando um dispositivo biomédico é posto em contacto com um sistema biológico este irá desenvolver defesas contra tal dispositivo. A qualidade da interface bioelectrónica deve por isso ser muito bem projectada pois está dependente dela o desempenho do dispositivo a longo prazo, ou seja, quanto melhor for esta interface menor será a reacção biológica contra o dispositivo implantado mantendo por isso este as suas capacidades por mais tempo.

Quando um organismo biológico sente um corpo estranho tem tendência a isolar tal corpo protegendo assim o sistema biológico. Este é o grande problema dos dispositivos metálicos que são muito rapidamente detectados e isolados no organismo, por encapsulamento colagenoso, perdendo por isso a curto prazo o contacto com o sistema biológico resultando isto na perda das capacidades de detecção ou actuação para que foram desenvolvidos. Por isso, ao usar PCs na concepção desta interface, os dispositivos biomédicos

mantêm as suas capacidades por mais tempo, pois como os PCs são materiais orgânicos e como podem também incorporar aniões biológicos podem ser tornados biocompatíveis fazendo interfaces de elevada qualidade entre o mundo biológico e o electrónico, colmatando desta forma as limitações dos implantes metálicos. Essa interface actua a vários níveis como se pode observar pela figura 7.

Efectivamente, colmatar a interface entre electrónica e biologia é extremamente dependente dos avanços futuros em novos materiais. A descoberta dos PCs revolucionou a forma como pensamos sobre os condutores electrónicos. Agora o objectivo é pesquisar os condutores electrónicos naturais e também procurar e encontrar novos PCs ou dopantes. A sua compatibilidade com sistemas biológicos juntamente com a sua natureza dinâmica fornece uma dimensão extra ao projecto de interface digital entre os grandes e pequenos sistemas biológicos [23,24].

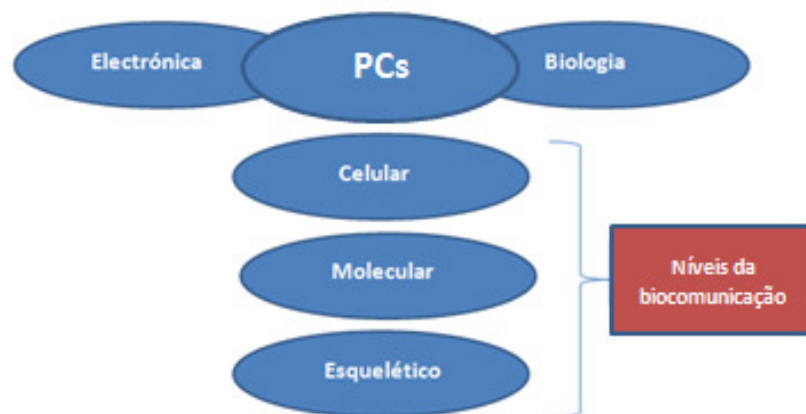


Figura 7 – Interface electrónica e biológica dos PCs para diferentes níveis de biocomunicação [24].

3.5.3 Estrutura molecular e condutividade

Por observação da figura 8 verifica-se que os PCs apresentam uma sequência de ligações duplas conjugadas, na sua cadeia polimérica. Esta estrutura, permite que seja criado um fluxo de electrões por aplicação de uma diferença de potencial. Por exemplo, os electrões podem ser facilmente removidos ou adicionados (oxidação/redução da cadeia) para formar um ião, neste caso polimérico.

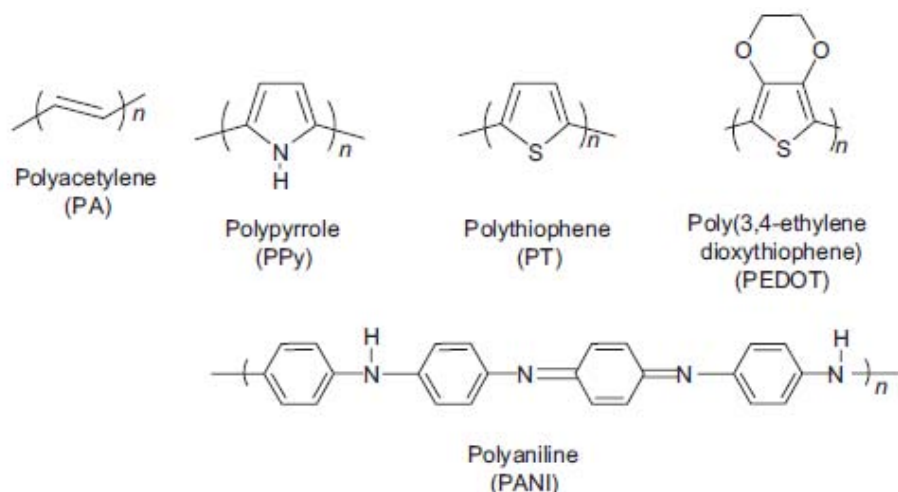


Figura 8 – Estrutura dos PCs intrínsecos mais estudados [25].

A reacção redox da cadeia polimérica é efectuada por agentes de transferência de carga (aceitadores/doadores de electrões), convertendo-se o polímero de isolante a condutor ou semiconductor. Na maioria dos PCs o processo de dopagem ocorre simultaneamente com a oxidação da estrutura química. Dopantes típicos são: AsF_5 , I, BF_3 , HF, Li, Na entre outros. A reacção de oxidação pode ser efectuada tanto por aplicação de potencial apropriado como também usando um agente químico oxidante dependendo do tipo de síntese em jogo.

O estado de oxidação do PPy é ilustrado na figura 9 onde vemos que este pode ser reversivelmente oxidado ou reduzido. O PPy não é inerte e possui uma estrutura dinâmica (electroactiva) característica. As suas propriedades químicas, biológicas, físicas e mecânicas estão extremamente dependentes do estado de oxidação da sua estrutura bem como do ambiente onde actuam. Os PCs são gerados através da oxidação do respectivo monómero onde o método de síntese pode ser químico ou electroquímico.

Ao juntar um oxidante ao monómero existe a formação de um catião polimérico, sendo a carga compensada por um anião (A^-). Este anião é conhecido como dopante e é responsável pelo equilíbrio de cargas da estrutura do PC. Por outro lado, a estrutura quando oxidada perde dois electrões o que faz com que haja um desequilíbrio de cargas na estrutura química do PC por perda de electrões aumentando a mobilidade electrónica, fazendo consequentemente com que as ligações conjugadas se movam originando corrente eléctrica. Esta explicação está ilustrada na figura 9 [26].

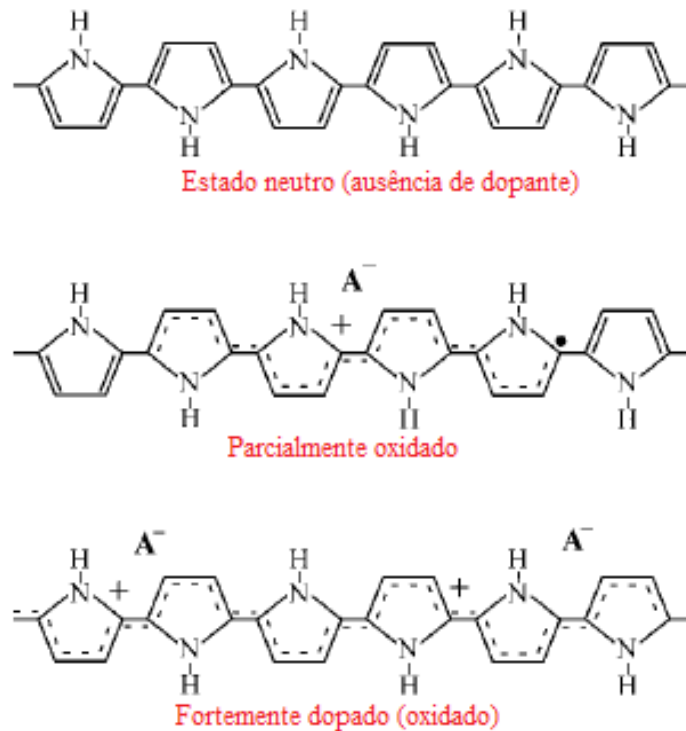


Figura 9 – Estado condutor/isolante no PPy [26].

Uma grande quantidade de dopantes podem ser introduzidos usando este tipo de abordagem, incluindo moléculas de interesse biológico. É importante também ter em conta o potencial de redução do oxidante que deve ser suficiente para fazer com que o monómero se oxide. A escolha do dopantes está dependente das propriedades finais que desejamos do PC. Pela tabela 1 podemos ver as condutividades alcançadas por alguns PCs após dopagem.

Isto é o que está na base da sua capacidade de serem sensíveis e reagirem a estímulos bem como serem capazes de converter e armazenar energia. As formas oxidadas exibem boa condutividade enquanto que as reduzidas exibem baixa condutividade [26].

Tabela 1 – Condutividade de diferentes PCs após dopagem [25].

Polímero Condutor	Condutividade máxima (S/cm)	Tipo de dopagem
Poliacetileno (PA)	200-1000	n, p
Poliparafenileno (PPP)	500	n, p
Poliparavenileno (PPv)	1-1000	p
Polipirrol (PPy)	40-200	p
Politiofeno (PT)	10-100	p
Polianilina (PANA)	5	n, p

3.5.4 Métodos de síntese

Os PCs podem ser sintetizados através de três métodos de polimerização: química, electroquímica e fotoelectroquímica. Para aplicações biomédicas a síntese electroquímica é a mais usada, no entanto, a síntese química é a mais utilizada em todas as outras aplicações sendo também a industrialmente mais vantajosa por possibilitar a produção de material a grande escala. A polimerização fotoelectroquímica para estes materiais ainda está numa fase muito embrionária sendo por isso a menos utilizada. As vantagens e desvantagens podem ser vistas na tabela 2.

Tabela 2 – Vantagens e desvantagens das formas de polimerização mais comuns dos PCs [25].

Tipo de polimerização	Vantagens	Desvantagens
Polimerização química	<ul style="list-style-type: none"> • Possibilidade de produzir a larga escala • É possível a modificação covalente do seio do PC • Muitas possibilidades de modificação do PC 	<ul style="list-style-type: none"> • Não se podem produzir películas finas • O processo de síntese é mais complicado
Polimerização electroquímica	<ul style="list-style-type: none"> • É possível sintetizar películas finas, de grande aplicabilidade biomédica 	<ul style="list-style-type: none"> • Dificuldade em remover a película da superfície do eléctrodo • É difícil a modificação covalente do seio do PC

Uma particularidade do processo electroquímico na síntese destes materiais é que tanto a polimerização como a dopagem podem ser realizadas num passo único. O mecanismo de dopagem em PCs tem sido bastante investigado uma vez que muitas das aplicações destes polímeros dependem dos mecanismos de transporte que ocorrem durante os processos de oxidação/redução. Diferentes técnicas são utilizadas para desvendar tais mecanismos de transporte, como cronoamperometria, cronopotenciometria, espectroscopia, entre outras. Na figura 10 podemos ver o esquema de electropolimerização PPy.

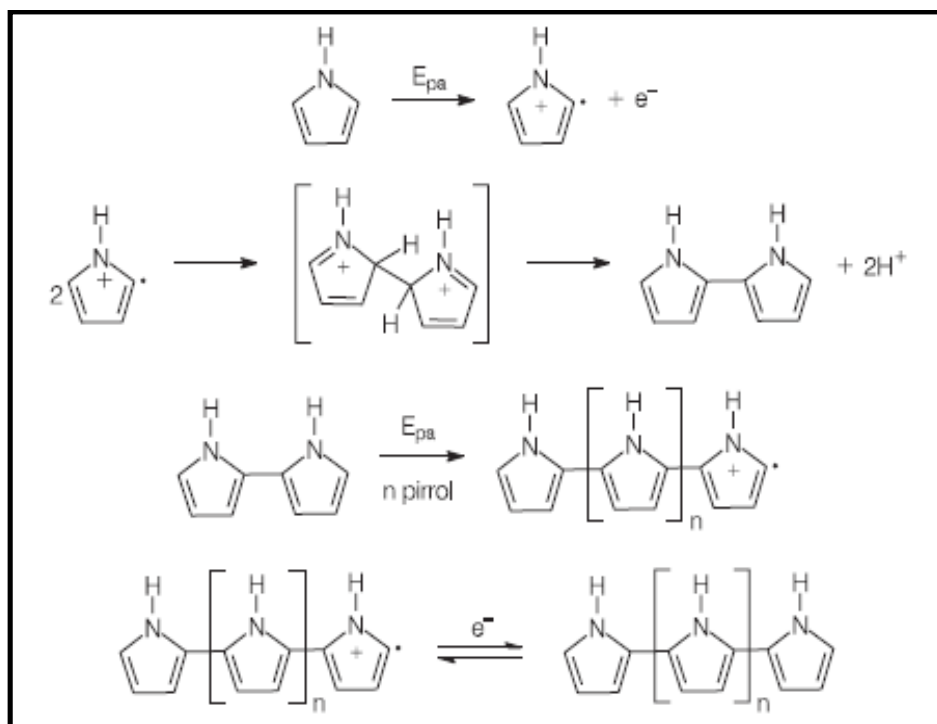


Figura 10 - Mecanismo de reacção da eletropolimerização por adição do PPy [27].

3.5.5 Métodos de caracterização

Os semicondutores orgânicos, como o caso dos PCs, diferem dos inorgânicos de muitas maneiras incluindo óptica, electrónica, quimicamente bem como nas propriedades estruturais. Para se saber o modelo do semicondutor orgânico e as suas propriedades ópticas como absorção, fotoluminescência, este necessita de ser caracterizado. A caracterização óptica nesta classe de materiais pode ser feita usando espectrofotómetros de UV-VIS ou espectrómetros de fotoluminescência. A morfologia dos PCs pode ser estudada através da microscopia de força atómica (AFM) e microscopia electrónica de varrimento (MEV). Propriedades electrónicas como o potencial de ionização podem ser caracterizadas sondando a estrutura na banda electrónica com a espectroscopia de fotoelectrões ultravioletas (UPS).

As propriedades de carga dos transportadores dos semicondutores orgânicos podem ser analisadas por inúmeras técnicas. Por exemplo, o tempo de voo e o espaço de carga limitada são técnicas actuais usadas para caracterizar o "bulk" de condução de filmes orgânicos. A técnica de caracterização dos transístores orgânicos de efeito de campo (OFET) consegue-se sondando "interfacialmente" as propriedades de filmes semicondutores o que permite estudar a mobilidade dos portadores de carga, a tensão de limiar do transístor FET entre outros parâmetros. A composição química e a estrutura dos semicondutores orgânicos podem ser caracterizadas por espectroscopia de infravermelhos (FTIR), espectroscopia de

massa (SIMS), espectroscopia de raios-X, de fotoelétrons (XPS), entre muitas outras técnicas, sendo que estas são as mais presentes nesta área [27,28].

3.5.6 Polímeros condutores em aplicações biomédicas

A expansão destes materiais à biologia começou nos anos 80 com a descoberta da compatibilidade destes com muitas moléculas biológicas tais como aquelas usadas em muitos biosensores [29]. Nos anos 90 os PCs foram também apresentados como capazes de controlar a actividade celular, incluindo adesões e migrações electroquímicas, síntese de ADN, segregação de proteínas, reparar tecidos em células mamárias entre outras. Isto era conseguido através de estimulação eléctrica. Especificamente, muitos destes estudos envolveram os nervos, os ossos, os músculos bem como células cardíacas, que respondem a estímulos eléctricos. Estas aplicações podem ser revistas na tabela 3. A maioria dos PCs apresentam inúmeras vantagens importantes para aplicações biomédicas fruto da sua biocompatibilidade, aptidão para libertar controladamente moléculas biológicas, capacidade de transferir e alterar cargas bem como alterar facilmente as suas propriedades eléctricas, químicas, físicas de forma a melhorar a natureza da aplicação específica.

Em suma, os PCs são baratos, relativamente fáceis de sintetizar quando misturados com outros polímeros e de extrema importância para aplicações médicas é o facto de serem versáteis porque as suas propriedades podem prontamente ser moduladas por uma larga escala de moléculas por controlo do potencial eléctrico. Além disso, os PCs permitem um grande controlo sobre o nível e a duração da estimulação eléctrica para aplicações em engenharia de tecidos. Estes materiais tem a capacidade única de poderem ser funcionalizados com inúmeras substâncias químicas através do seu próprio dopante.

Têm-se desenvolvido PCs dopados com anti-inflamatórios que podem ser libertados no organismo controladamente através de estímulos eléctricos exteriores.

Os PCs devem ser produzidos como estruturas de elevada área de superfície de forma a melhorar a interface bioelectrónica. Podem ser depositados de forma precisa em eléctrodos de metal para biosensores ou ser conectados com as biomoléculas constituindo um mecanismo mais eficaz de aplicação em dispositivos de transdução. De facto, os PCs exibem muitas vantagens sobre os materiais ditos convencionais [25,29].

Tabela 3 - Aplicações biomédicas dos PCs [25].

Aplicação	Descrição da aplicação	Vantagens dos PCs	Limitações dos PCs
Engenharia de tecidos	<ul style="list-style-type: none"> • Biocompatível • Biodegradável • Estrutura capaz de estímulos para promover a regeneração 	<ul style="list-style-type: none"> • Biocompatibilidade • Boa condutividade • Modificação química possível 	<ul style="list-style-type: none"> • Quando aplicados no estado puro não são biodegradáveis • São hidrofóbicos
Sondas neuronais	<ul style="list-style-type: none"> • Eléctrodos implantáveis • estimulação de neurónios principalmente do cérebro 	<ul style="list-style-type: none"> • Biocompatibilidade • Boa condutividade • Boa estabilidade • Possibilidade de polimerização química, • Baixa área de superfície (logo baixa interferência) 	<ul style="list-style-type: none"> • Diminui o contacto eléctrico na interface com o tempo
Biosensores	<ul style="list-style-type: none"> • Dispositivos integrados em transdutores eléctricos que contêm biomoléculas sensíveis a várias substâncias 	<ul style="list-style-type: none"> • Superfície pode ser alterada • Superfície capaz de aprisionar biomoléculas nos filmes superficiais • Transferência de cargas eléctricas no dispositivo muito eficientes • É possível uma síntese electroquímica 	<ul style="list-style-type: none"> • Hidrofobicidade pode filtrar muitas biomoléculas aprisionadas na superfície • Barreiras de difusão no aprisionamento de enzimas na superfície
Sistemas de libertação controlada de fármacos	<ul style="list-style-type: none"> • Dispositivos de armazenamento e libertação controlada de fármacos 	<ul style="list-style-type: none"> • Libertação de fármacos de forma controlada e sustentada • Capacidade de aprisionar biomoléculas 	<ul style="list-style-type: none"> • Libertação de fármacos de forma muito rápida • Hidrofobicidade pode filtrar muitas biomoléculas aprisionadas na superfície
Substâncias bioactivas	<ul style="list-style-type: none"> • Dispositivos de criação de forças mecânicas que poderiam ser aplicados em músculos artificiais 	<ul style="list-style-type: none"> • Biocompatibilidade • Boa condutividade • Pode ser aplicado à temperatura normal do corpo • Compatível com fluidos orgânicos 	<ul style="list-style-type: none"> • Estabilidade redox a curto prazo, resposta limitada pela mobilidade iónica, destruição rápida das películas de PCs

3.5.7 Estratégias de funcionalização para aplicações biomédicas

As duas propriedades comuns desejadas para todas as aplicações biomédicas, para além da condutividade, são a sua estabilidade redox e a sua biocompatibilidade. Devemos considerar também que a modificação do PC é específica para cada aplicação. Em particular, a maioria dos investigadores nesta área centram-se sobre a modificação biológica, química ou

física dos PCs. Por exemplo, para aplicações biosensoriais, é importante ajustar a hidrofiliabilidade, a condutividade, e várias outras funcionalidades reactivas para modificar com sucesso os PCs de forma a serem utilizados como biomoléculas incorporadas de detecção de substâncias.

Para a engenharia de tecidos, propriedades do PC que incluem a funcionalização com biomoléculas, alteração da superfície, a hidrofobicidade, a geometria tridimensional, a estabilidade de reacções químicas ou a degradação são imprescindíveis. Nas aplicações em sondas neuronais são necessários materiais com elevada área superficial, hidrofiliabilidade, especificidade electroquímica bem como especificação celular de forma a poder detectar com sucesso os sinais do neurónio.

Uma estratégia popular de optimização das propriedades biológicas de um PC é a incorporação de moléculas bioactivas. Na figura 11 é possível ver o esquema das diferentes formas pelas quais se consegue a funcionalização dos PCs [29].

Um outro método de natureza não-covalente de funcionalização de um PC para aplicação em dispositivos médicos é o método do aprisionamento de moléculas (entrapment) que pode ser conseguido tendo a molécula desejada na solução do monómero/electrólito durante a síntese. O processo de dopagem dos PCs, necessário para induzir condutividade, pode ser igualmente explorado para modificar PCs não-covalentes e para introduzir propriedades novas de acordo com a aplicação desejada. O facto de os PCs poderem ser funcionalizados com moléculas biológicas constitui uma grande vantagem em relação aos materiais metálicos visto que assim podem por exemplo ser dopados com aniões de carácter farmacológico que podem ser libertados no organismo controladamente de forma a combater doenças como o cancro [25].

Uma das limitações dos metais focaliza-se no facto de estes terem superfícies específicas pequenas e lisas não podendo por isso aprisionar muitas moléculas resultando numa menor capacidade de captar sinais bem como a qualidade dos sinais é também afectada, comprometendo-se assim a viabilidade da análise. Os PCs apresentam uma superfície rugosa e muitas vezes porosa, o que lhes confere uma elevada área específica, o que permite que um maior número de moléculas funcionalizadas possam ser aprisionadas e por isso existe maior interacção e captação de sinais entre o PC e o meio biológico envolvente.

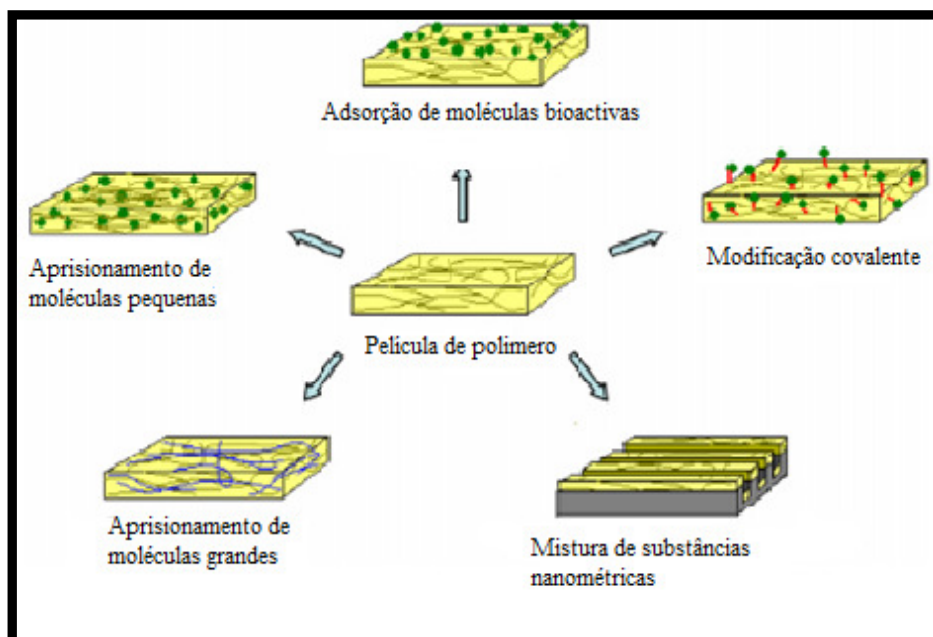


Figura 11 - Exemplos das estratégias de modificação usadas nos PCs. Estes, foram funcionalizados química e fisicamente usando um grande número de técnicas de forma a mudar a condutividade, a bioactividade e a topografia/geometria físicas. Algumas formas de modificação dos PCs para aplicações biomédicas estão aqui esquematizadas e recorrem a técnicas de litografia [25].

O número de dopantes disponível é muito vasto. Alternativamente, métodos de ligação covalente podem ser usados de forma a transmitir aos PCs uma funcionalização mais permanente. O monómero pode ser sintetizado com os grupos funcionais desejados e depois ser polimerizado. A funcionalização dos PCs com biomoléculas diferentes permitiu aos investigadores modificarem os PCs com elementos de detecção biológica, e altera-los através de caminhos diferentes de sinalização que criam os PCs e que realçam a adesão e a proliferação de uma grande variedade de células assim como aperfeiçoam a sua biocompatibilidade.

Geralmente, a manipulação de propriedades do PC (por exemplo, rugosidade/topografia, porosidade, hidrofobicidade, resistência mecânica, maleabilidade, degradabilidade, estabilidade redox, condutividade) pode ser conseguida através de meios químicos previamente seleccionados, tais como a incorporação das moléculas ou com a inserção de grupos funcionais covalentes na estrutura química do PC que pode, por exemplo, aumentar a condutividade ou a permitir a sua rápida degradação.

É também importante considerar as propriedades físicas e eléctricas dos PCs bem como a sua composição química. Os PCs, até à data, demonstraram grande capacidade de

serem modificados. No entanto, é difícil comparar PCs modificados por diferentes grupos de pesquisa porque existe um grande número de técnicas de modificação disponíveis o que conduz a pouca consistência e coerência de investigação para investigação. Portanto, existem muitos tipos de PCs e cada tipo deve ser explorado e tratado de acordo com a especificidade da sua aplicação [25].

3.6 Vantagens da utilização de PCs em eléctrodos de regeneração nervosa

As propriedades desejáveis dos PCs para aplicação na engenharia de tecidos são a condutividade, estabilidade redox, biocompatibilidade, hidrofobicidade, topografia da superfície entre outras.

A grande vantagem da utilização de eléctrodos para regeneração nervosa baseados em PCs reside no facto de estes não emitirem substâncias tóxicas para o organismo durante a aplicação de corrente sobre os mesmos. Quando um eléctrodo metálico está em contacto os tecidos humanos, ao aplicar-se um certo potencial estes durante o processo regenerativo irão libertar gases como H_2O , O_2 entre outros que poderão ser muito tóxicos para o organismo. Ao utilizarmos PCs, o campo eléctrico necessário à regeneração não se forma da mesma maneira que nos eléctrodos metálicos, visto que não é um processo de oxidação mas sim de libertação iónica que não tem quaisquer efeitos nefastos para o corpo humano. De facto, para se conseguir uma corrente num eléctrodo metálico tem de se oxidar/reduzir uma substância na sua superfície, que tradicionalmente é a água. Tal gera libertação de gases. Estas reacções só tem lugar para potenciais $< -1V$ e $> 1.5V$.

Nos PC's a corrente pode ser conseguida por intercalação/de-intercalação de dopantes no polímero, a qual origina potenciais entre -0.3 e $0.3V$, não se gerando pois as reacções de libertação gasosa. Mas a intercalação/de-intercalação iónica também envolve oxidação/redução do próprio polímero condutor [30]. As reacções químicas que ocorrem do contacto de um eléctrodo com e sem PC podem ser vistas na figura 12.

Já vários estudos [31,32] provaram a excelente capacidade do PPy interagir com tecidos biológicos e células principalmente quando usado sob a forma de compósito. A grande vantagem do uso de PCs em aplicações de engenharia de tecidos é a sua aptidão de estarem em contacto com células sem as danificar mesmo em condições de passagem de corrente eléctrica. Além da biocompatibilidade do PPy, certos estudos têm mostrado que a estimulação eléctrica usando PPyTS (p-toluene sulfonate) como dopante, pode modular uma resposta celular. O PPy e seus derivados já foram utilizados como revestimentos de implantes

metálicos de forma a promover uma interface mais estável do implante com as células do corpo bem como para uma melhor biofuncionabilidade (ex. stents, pele artificial, regeneração de músculos) [25].

Noutro estudo recente [33], foi verificada a capacidade dos PCs para estimular o crescimento de nervos. Muitas vezes não é possível reparar os nervos de forma tradicional, ou seja através da justaposição de extremidade do nervo rompido. Normalmente para este problema podem usar-se enxertos contudo envolve muitos passos cirúrgicos. Por isso novas tecnologias foram exploradas envolvendo PCs podendo este regenerar os nervos por estimulação eléctrica da neurite num único passo.

Muitos estudos têm sido feitos com PPy e PEDOT aplicados em eléctrodos de regeneração nervosa, sendo analisadas e caracterizadas essencialmente as suas características eléctricas. Afirma-se com cada vez mais convicção que a utilização destes eléctrodos baseados em PCs traz muitas vantagens em relação aos eléctrodos metálicos principalmente devido á sua porosidade que faz com que estes quando sujeitos a um baixo potencial forneçam uma corrente eléctrica superior à alcançada pelos metais [34,35].

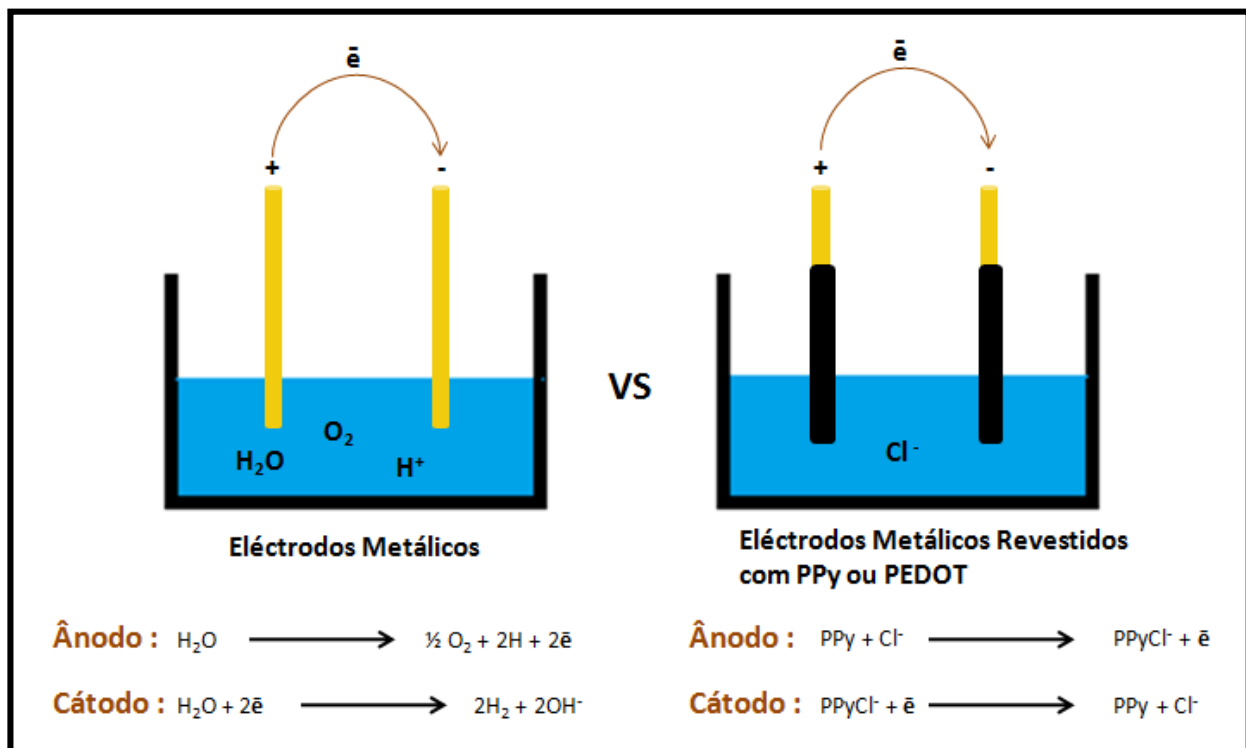


Figura 12 – Comparação das reacções resultantes do contacto de um eléctrodo feito de metal puro, com aquelas que ocorrem num metal revestido com um PC.

4. Metodologia experimental

O trabalho experimental deste projecto poderá ser dividido em quatro fases:

1. Síntese de PPy e PEDOT sobre um fio de ouro;
2. Ensaio electroquímicos;
3. Obtenção de imagens por SEM e espectros FTIR
4. Revestimento do eléctrodo compósito Au/PPy com alginato a 0.75%.

4.1 Síntese

Iniciou-se o projecto com a síntese electroquímica do PPy ou PEDOT sobre um fio de ouro com 0.25 mm de diâmetro e de grau de pureza 99.9% fornecido pela Sigma-Aldrich. Consideraram-se as seguintes situações de síntese: alteração do tipo de anião dopante e alteração da temperatura de realização de síntese. Fez-se a síntese para as temperaturas de $-20 \pm 2^\circ\text{C}$, $0 \pm 2^\circ\text{C}$ e $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Utilizaram-se três diferentes tipos de aniões dopantes provindos dos seguintes produtos: KNO_3 , KCl e SDS . Preparou-se para a síntese soluções 0.5M de KNO_3 , 0.1M de KCl e 0.1M de SDS .

Para os ensaios a 25°C e a 0°C utilizou-se uma solução que consistia em 150 ml de solução com o anião requerido junto com Py de concentração 0.2M ou EDOT de concentração 0.01M. O Py foi destilado antes da síntese de modo a obtermos um composto com maior grau de pureza. Podemos ver o esquema da destilação na figura 13.

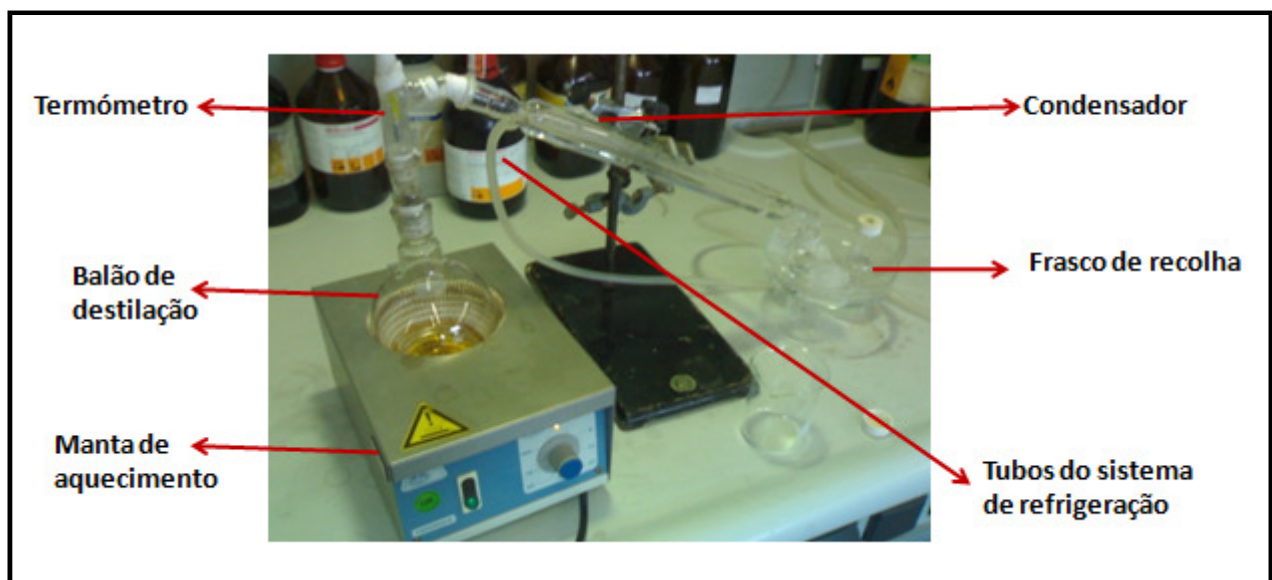


Figura 13 – Aspecto geral dos equipamentos usados para a destilação do Py.

Para a síntese a -20°C de PPy usou-se uma solução 45% de metanol em água com KNO_3 0.1M ou KCl 0.1 junta com Py 0.2M. A síntese a -20°C de PEDOT processou-se da

mesma forma da do PPy diferindo apenas no tipo de monómero, utilizando-se 0.01M de EDOT. Não utilizamos a mesma solução igual à da temperatura de 25°C e 0°C de modo a baixar a temperatura de congelação da solução. Para o PEDOT o procedimento foi semelhante ao do PPy, apenas diferiu em alguns pontos práticos laboratoriais como ao facto da mistura do EDOT com a solução ter de se elaborar com recurso a ultra sons visto que o EDOT não solubiliza facilmente em soluções aquosas.

Após a solução preparada o fio de ouro era colocado em contacto com ela juntamente com um contra-eléctrodo na forma de camisa que envolvia o fio de ouro de forma a que o polímero condutor crescesse equitativamente e radialmente ao longo de toda a área do fio.

Procurava-se garantir que 4 cm do fio se encontravam submersos pela solução de síntese. O contra-eléctrodo e eléctrodo de trabalho (fio de ouro) eram então ligados a um potenciostato (EG&G Princeton Applied Research Potentiostat/Galvanostat Model 273) que aplicava uma corrente constante de densidade de corrente de 7 mA/cm², durante 3 horas e 48 minutos (30 Coulombs), depositando-se assim PPy ou PEDOT sobre o fio de ouro. O esquema ilustrativo da síntese e algumas particularidades podem ser vistos na figura 14.

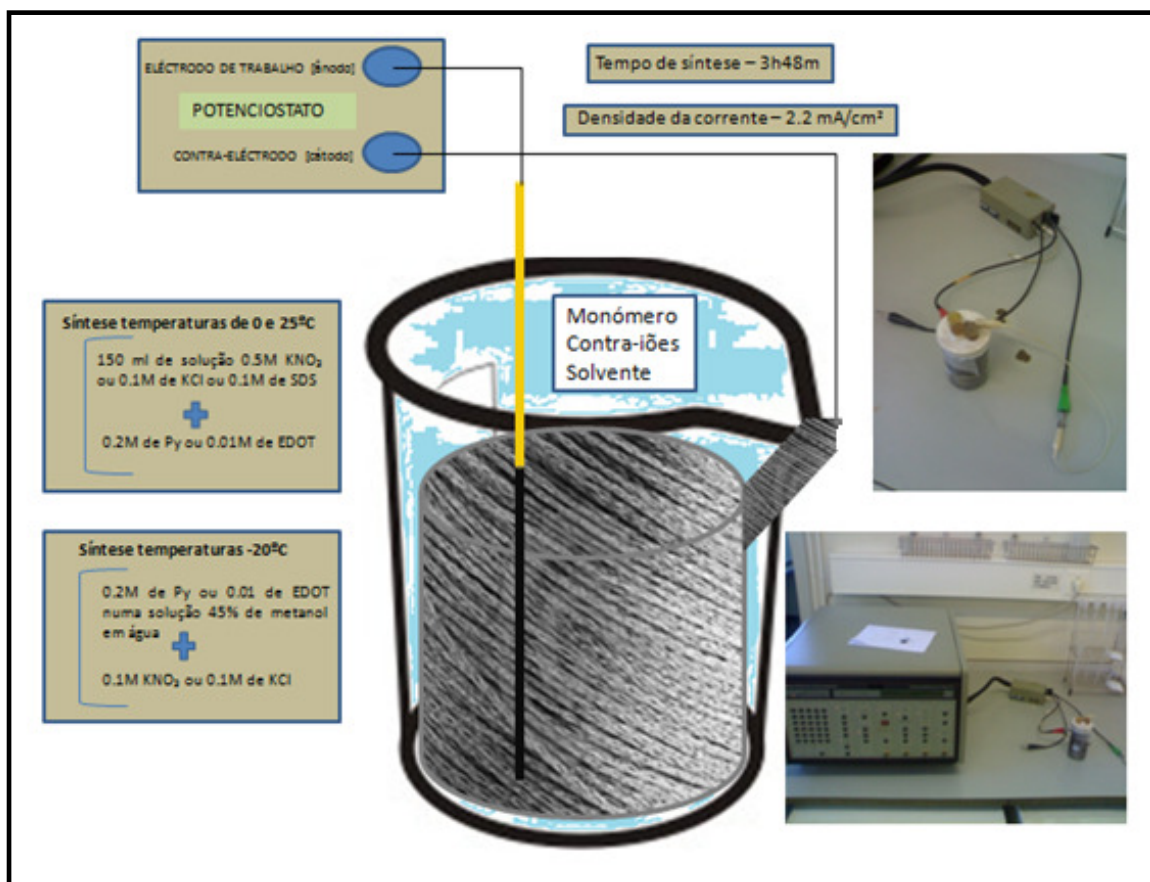


Figura 14 – Esquema ilustrativo das diferentes situações, parâmetros e equipamentos de síntese.

Idealmente, queríamos que o resultado da síntese fosse um eléctrodo totalmente homogéneo, uniforme e livre de defeitos em toda a sua extensão. Contudo, nos ensaios iniciais de síntese, pontualmente formava-se uma espécie de cogumelo no fio de ouro, na interface entre o ar e a solução, exemplificado na parte superior da figura 15. Resolveu-se o problema pela aplicação de um revestimento de teflon na zona onde se costumava formar tal cogumelo. Assim conseguiu-se um eléctrodo livre de defeitos como aquele representado na parte inferior da figura 15. Foram sintetizadas amostras apenas para pesagem do filme polimérico depositado. Depois das sínteses os eléctrodos eram devidamente secos numa estufa, até adquirirem um peso constante. Para as pesagens utilizou-se uma balança analítica de marca Mettler Toledo AB-2014-S. Não se aproveitaram as amostras das pesagens para os ensaios electroquímicos pois ao levarmos as amostras à estufa poderíamos estar a degradar algumas das suas propriedades eléctricas que tencionávamos caracterizar.

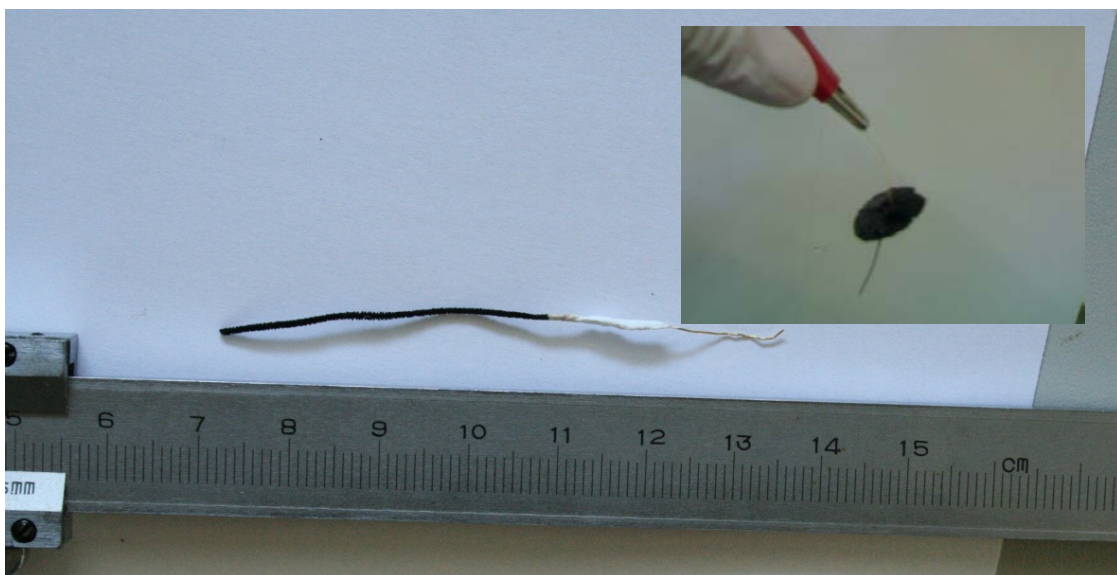


Figura 15 – Aspecto do eléctrodo típico desejável após síntese. Na parte superior da fotografia, imagem do eléctrodo com formação de cogumelo indesejável.

4.2 Ensaios electroquímicos

Após as sínteses passou-se aos ensaios electroquímicos nomeadamente de VC e EIS. A ideia era analisar as curvas de voltametria e de impedância após a síntese electroquímica seguindo-se um envelhecimento⁶ de cerca de 17 horas onde após esse tempo se voltavam a fazer as curvas voltamétricas e as curvas de impedância de forma a ver como tinham evoluído

⁶ O envelhecimento corresponde a colocar o eléctrodo em condições semelhantes às de funcionamento real durante um tempo determinado

as propriedades do nosso eléctrodo compósito. As curvas de VC eram feitas antes e depois do envelhecimento. Tanto as curvas de VC como de envelhecimento recorriam ao software CorrWare da Scribner associado a um potenciostato (EG&G Princeton Applied Research Potentiostat/Galvanostat Model 273 A). O EIS era realizado antes e depois do envelhecimento recorrendo ao mesmo potenciostato, ligado a um analisador de resposta de frequência (SOLARTRON Schlumberger 1250), que operava entre os 65 KHZ e 2 KHZ, comandado pelo software ZPlot da Scribner.

Para a VC usamos um intervalo de potencial entre -0.4 e 0.6 V, em relação ao eléctrodo de referência (eléctrodo saturado de calomelanos), com uma velocidade de varrimento de 50 mV/segundo.

A solução de envelhecimento tinha o objectivo de simular o ambiente químico do corpo humano. Tal como abordado, estes eléctrodos estão a ser desenvolvidos para que durante o seu tempo de serviço actuem em contacto directo com os tecidos de forma a regenera-los. Investigadores afirmam que o potencial aplicar nos eléctrodos não deverá ser superior a 30 minutos de forma a que os neurónios que estão orientados para o ânodo não regridam, tal como foi explicado atrás.

Como tal, para simular o envelhecimento destes eléctrodos resolveu-se aplicar correntes negativas e positivas de $\pm 100\mu\text{A}$ e $100\mu\text{A}$, alternando estas de dez em dez minutos. Neste processo o ião era incorporado ou expelido simulando-se assim todo o processo de carga/descarga. O programa obtinha 1 ponto/segundo. Usou-se uma solução de 150 ml com concentração de 0.25 M de NaCl. Podemos ver uma ilustração simplificada do envelhecimento na figura 16.

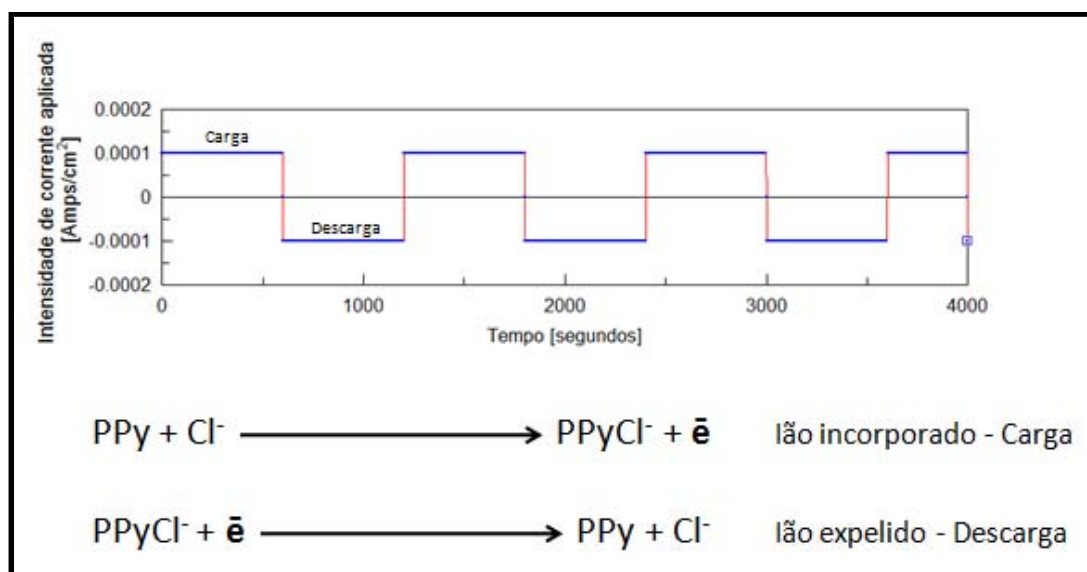


Figura 16 – Esquema ilustrativo da forma como se processou o envelhecimento dos eléctrodos.

Para além do envelhecimento durante 17 horas, numa fase posterior escolheu-se o eléctrodo com melhor desempenho como eléctrodo regenerativo e realizou-se um ensaio especial com envelhecimento de dez dias.

O equipamento onde se levava a cabo os ensaios de VC, EIS e envelhecimento pode ser visto na figura 17. Utilizou-se o sistema de três eléctrodos, em que o contra-eléctrodo era um fio de platina. Uma vez obtidas as curvas VC e de envelhecimento passamos ao seu tratamento no programa KaleidaGraf 4.0 de forma a tratar os dados gráficos obtidos.

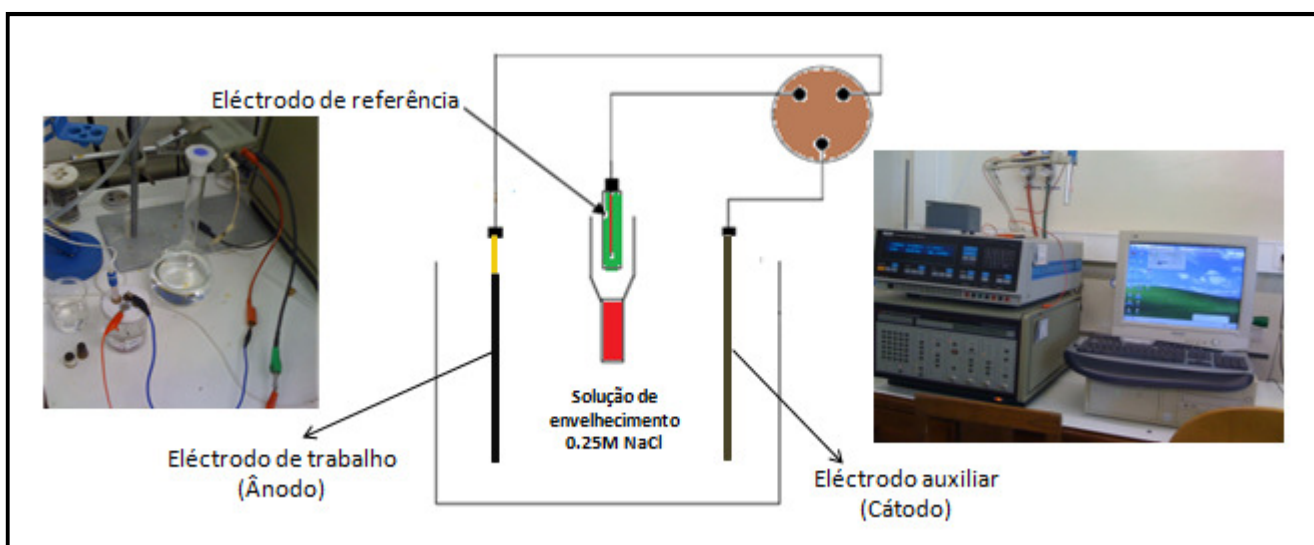


Figura 17 – Equipamento usado para os ensaios electroquímicos e célula electroquímica usada para o envelhecimento.

4.3 Obtenção de imagens SEM e espectros FTIR

Escolheram-se as situações chave mais importantes, ou seja as amostras para as quais a sua síntese a uma determinada temperatura e com um determinado ião obtiveram melhores resultados nos ensaios electroquímicos. As imagens ilustrativas da morfologia e a análise química dos PCs obtidos foi conseguida com a colaboração do CEMUP que realizou tal análise com recurso a um equipamento SEM modelo Jeol JSM – 6301F. O FTIR foi elaborado num espectrómetro PerkinElmer System 2000. Os espectros foram obtidos em transmissão, e, para a realização dos ensaios foram produzidas pastilhas constituídas por cerca de 200 mg de KBr e 2 mg de PPy. As fotos dos equipamentos encontram-se nas figuras 18 e 19 abaixo.



Figura 18 – Aparelho SEM/EDS usado.



Figura 19 – Aparelho FTIR do INEB usado.

4.4 Revestimento do eléctrodo com hidrogel

Os hidrogéis são substâncias em estado coloidal com forma própria, constituídos por mais de 99% água o que os torna quase “invisíveis” para o sistema imunitário e com propriedades mecânicas semelhantes às dos tecidos.

A sua baixa tensão superficial é também um ponto-chave da sua grande biocompatibilidade com os tecidos humanos. Tais estruturas são de natureza polimérica sendo constituídas por redes que se incham em água. Normalmente são copolímeros hidrófilicos ou homopolímeros. Estes materiais são insolúveis devido á rede intercruzada que os forma. Esta rede pode ser de natureza física (pontes de hidrogénio) ou química (ligações covalentes e iónicas). Os hidrogéis mais utilizados são a phema e as poliácridamidas.

Estes materiais têm muitas aplicações na medicina como em implantes mamários, pele artificial, cordas vocais, vasos sanguíneos artificiais, etc. Uma outra grande vantagem destes materiais é o facto de se poder incluir neles reagentes bioactivos como anti-inflamatórios ou factores de crescimento. Estes materiais podem também submeter-se a mudanças de volume quando estimulados electricamente. Contudo, estes estímulos eléctricos não se tramitem muito rapidamente na rede que forma o hidrogel, pois estas têm uma baixa condutividade eléctrica. Como tal, para a nosso estudo em concreto, o facto de os hidrogéis terem baixa condutividade não é uma vantagem, e certamente influenciará o desempenho dos eléctrodos regenerativos, contudo, a sua incomparável biocompatibilidade torna-os atractivos neste tipo de aplicação ainda que a sua perda de propriedades eléctricas seja inevitável.

Como tal, e devido a propriedades tão interessantes resolveu-se revestir o nosso eléctrodo Au/PPy com alginato a 0.75%. Após a síntese, colocamos o PC num molde de plástico na forma de tubo com um diâmetro de 3 milímetros, o qual enchemos com uma

solução de alginato de sódio 0.75%. Após o enchimento mergulhamos o molde numa solução de $\text{Ca}(\text{NO}_2)_2$ 1M de forma a dar consistência ao hidrogel endurecendo-o.

A solução de envelhecimento usada não foi a mesma das outras situações. Utilizou-se uma solução 0.8% NaCl + 0.1M CaCl_2 . O cálcio era necessário para estabilizar o hidrogel. Posto isto, realizaram-se normalmente ensaios de VC e EIS [36,37,38].

5. Resultados experimentais e discussão

5.1 PPy – Resultados electroquímicos

Na figura 20, vemos como número um o aspecto do fio de ouro antes da síntese do PPy sobre o mesmo. O número dois corresponde à síntese a 25°C do PPy dopado com NO_3^- , o número três à síntese a 0°C do PPy dopado com NO_3^- e o número quatro à síntese a -20°C do PPy dopado com NO_3^- . Como é visível, à medida que a temperatura de síntese diminui a espessura e a rugosidade do filme depositado aumenta, ficando beneficiada a superfície específica formada no eléctrodo. Segundo foi dito na parte introdutória, será de esperar que quanto maior é a rugosidade melhor condutividade terá o nosso eléctrodo, fruto da sua maior capacidade eléctrica [39].

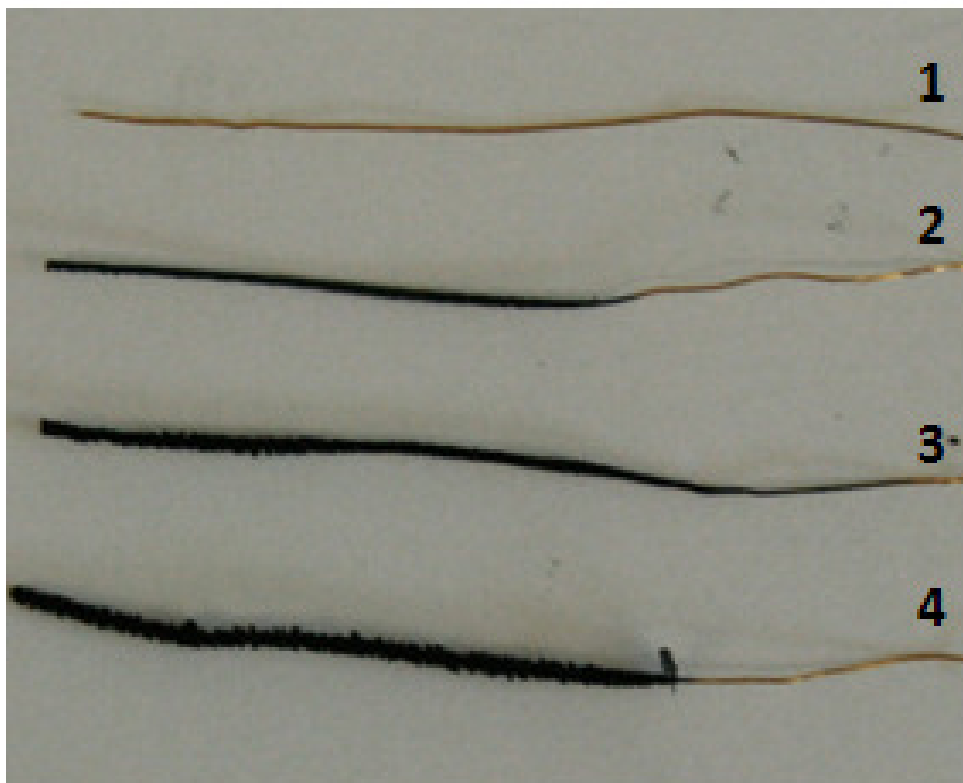


Figura 20 – Aspecto do filme de PPy depositado quando usado como anião dopante o NO_3^- . De 2 para 4 a temperatura de síntese é decrescente. A carga total utilizada foi de 30 Coulombs para um tempo de síntese de 3h48m.

Terminada a síntese, e após secagem dos eléctrodos, pesou-se o PPy obtido. Demonstra-se que a diferença de massas teórica que se deveria ter obtido é muito pequena

Como vemos pela tabela 4, os valores obtidos para os pesos, embora ligeiramente superiores para os casos onde se usou o NO_3^- como anião dopante, apresentam-se muito semelhantes esperando-se diferenças de pesos mais exuberantes. O rendimento da deposição ($\eta_d = \frac{\text{massa experimental}}{\text{massa teórica}} \times 100$) foi cerca de 100% para as várias situações de síntese.

Tabela 4. Pesos do polímero depositado.

Ião e temperatura de síntese	Peso PPy depositado [g]	Rendimento deposição (%)
KNO_3 [-20°C]	0.0102	106
KNO_3 [0°C]	0.0110	114
KNO_3 [25°C]	0.0112	116
KCl [-20°C]	0.0091	102
KCl [0°C]	0.0101	112
KCl [25°C]	0.0090	100

Na figura 21 são ilustradas as curvas voltamétricas obtidas antes do envelhecimento para o PPy dopado com NO_3^- para as três temperaturas de síntese estudadas. Nessa mesma figura, está também representada a curva de VC referente ao eléctrodo de ouro sem revestimento de PPy. Como seria de esperar, pela bibliografia consultada, quanto menor é a temperatura de síntese maior é a área específica (área por unidade de volume) e portanto mais carga o eléctrodo será capaz de fornecer. Pela figura 21, a curva voltamétrica do ouro é praticamente imperceptível quando comparada com as outras curvas. O ouro é dos materiais mais condutores, por isso seria de esperar que a sua curva voltamétrica fosse muito superior as curvas voltamétricas dos eléctrodos revestidos com PPy. Isto verificar-se-ia se estivéssemos a aplicar potenciais de elevado valor. Mas neste caso, as curvas voltamétricas foram conseguidas por aplicação de baixos potenciais entre -0.4V e 0.6V, visto que, como referido anteriormente, a aplicação de potenciais elevados conduzirá à decomposição da água, com a formação de gases e compostos tóxicos.

Constatou-se que os eléctrodos revestidos PPy têm uma capacidade de carga muito superior à do eléctrodo de ouro sem PPy.

Por tudo isto, os eléctrodos revestidos com PPy podem fornecer muito mais carga aos tecidos, contribuindo assim para que a regeneração dos axónios se dê mais rapidamente [39].

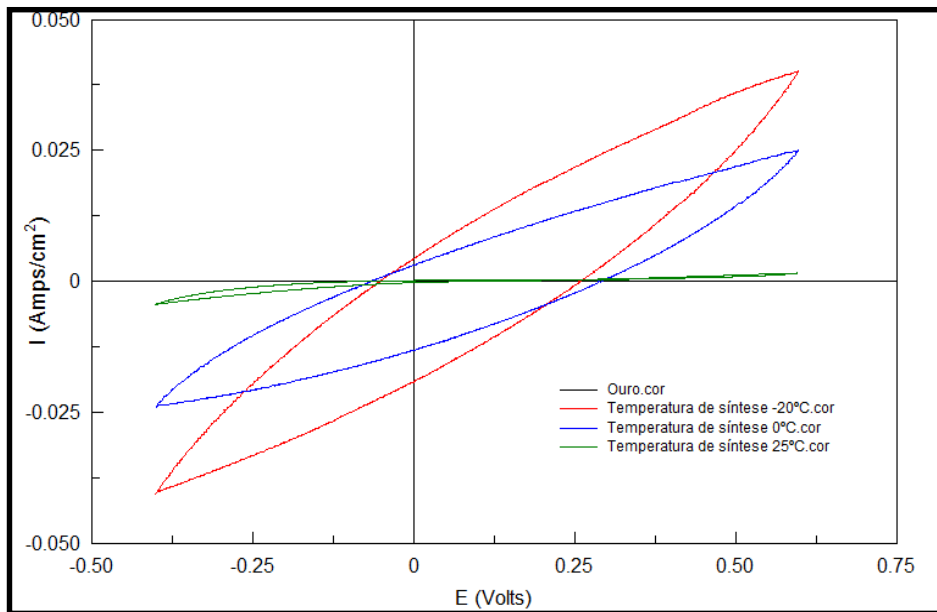


Figura 21. Gráfico comparativo do efeito da temperatura de síntese na área da curva voltamétrica obtida para o eléctrodo de ouro sem PPy e para os eléctrodos de ouro com PPy sintetizados a diferentes temperaturas e dopados com NO_3^- .

Na figura 22 vê-se a influência do tipo de ião usado na síntese do PPy para a temperatura de 0°C . Efectivamente vemos que para esta temperatura as curvas voltamétricas que aparentam ter maior área são as referentes aos eléctrodos que foram dopados com NO_3^- e SDS, sendo a curva correspondente ao PPy dopado com cloreto inferior, o que demonstra que este tem menor carga eléctrica associada.

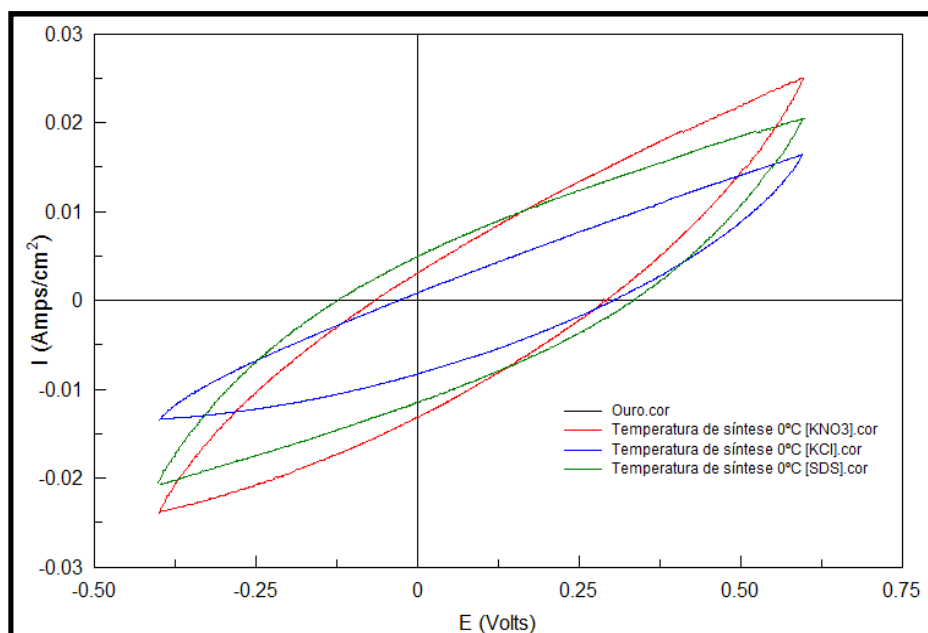


Figura 22. Efeito do tipo de ião utilizado na síntese na área da curva voltamétrica obtida para o eléctrodo de ouro sem revestimento de PPy e para os eléctrodos de ouro revestidos com PPy.

Na figura 23 podemos ver as curvas voltamétricas para o PPy dopado com NO_3^- e sintetizado a -20°C antes e depois do envelhecimento. Vemos que para um envelhecimento de 17 horas não existem alterações substanciais na área das curvas voltamétricas.

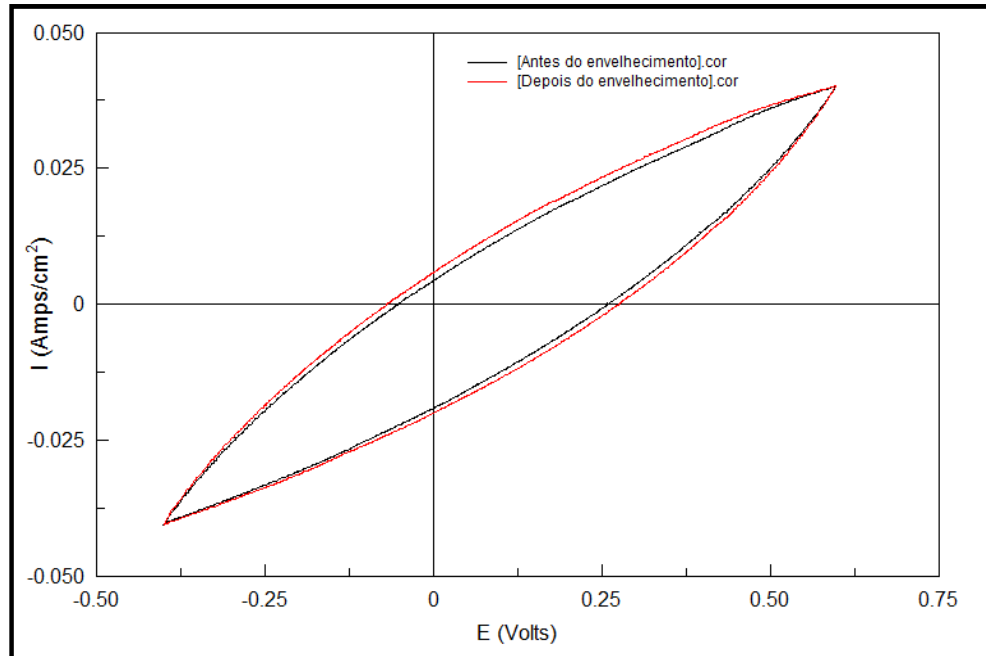


Figura 23. Efeito do envelhecimento na área da curva voltamétrica obtida para o eléctrodo de PPy dopado com NO_3^- e sintetizado a -20°C .

Com respeito às diferentes temperaturas a que foram realizadas as sínteses, e atentando às colunas azuis da figura 24, verifica-se que efectivamente e independentemente do anião utilizado, quanto menor é a temperatura a que é realizada a síntese maior será a área da curva voltamétrica obtida e consequentemente a carga do PC obtido será maior o que faz com que este seja capaz de fornecer mais corrente eléctrica vendo-se o seu comportamento eléctrico beneficiado, nomeadamente a capacidade de fornecer carga.

Isto verifica-se para todas as situações, excepto para a situação de síntese a -20°C do anião de grandes dimensões SDS. O resultado que vemos no gráfico da figura 24 para essa temperatura e para esse anião não é válido pois no final da síntese não foi possível obter um filme polimérico de qualidade, visto que este não se encontrava aderido ao eléctrodo de ouro fazendo com que ao muda-lo da solução de síntese para a solução de envelhecimento se perdessem quantidades muito significativas de material não sendo por isso as suas curvas voltamétricas fidedignas pois a quantidade de material sujeita aos ensaios electroquímicos era muito inferior à das outras situações o que inviabiliza uma correlação dos resultados.

Contudo isto só se passou para esta única situação, descartando-se desde já os possíveis erros de método visto que tal síntese foi repetida três vezes. Mesmo sem este

resultado, podemos ver realmente que para o SDS a diminuição da temperatura de síntese beneficia também a carga obtida, sendo isto claro para as temperaturas de 25°C e 0°C. Conclui-se pois que a incorporação de SDS leva à obtenção de filmes pulverulentos.

Comparado o efeito da temperatura de síntese antes do envelhecimento, correlacionemos agora as áreas obtidas em relação ao tipo de ião utilizado na síntese do PPy. Observa-se que para a temperatura ambiente os resultados das áreas antes do envelhecimento são relativamente coincidentes para os diferentes iões sendo talvez o melhor resultado o obtido pelo anião dopante NO_3^- .

Passando agora para a temperatura de 0°C, antes do envelhecimento, vemos que os filmes de PPy dopados com SDS e o NO_3^- alcançam cargas bem superiores ao PPy dopado com Cl^- , embora a área deste último tenha também aumentado visivelmente em relação à sua síntese à temperatura ambiente. Conforme foi já referido, este aumento de capacidade deverá estar relacionado sobretudo com o aumento da área específica do PPy formado com a diminuição da temperatura.

Continuando a análise gráfica, à temperatura de -20°C o PPy dopado com Cl^- e o PPy dopado com NO_3^- obtiveram os melhores resultados, sendo que, como dito atrás, não foi possível viabilizar dados do SDS.

Finalizada a análise dos vários parâmetros com diferentes situações após síntese, foquemo-nos agora nas colunas cor de tijolo referentes às áreas obtidas após um envelhecimento de dezassete horas numa solução de NaCl 0.25M nas várias situações estudadas.

Vemos que para todas as situações, excepto a situação de NO_3^- -25°C, existiu uma diminuição da carga total do PPy e conseqüente diminuição das suas propriedades eléctricas. Essa diminuição apenas foi significativa para as situações de síntese do PPy dopado com NO_3^- 25°C e do PPy dopado com Cl^- 0°C, sendo que nas outras situações não existiu perda das propriedades eléctricas do PC. Para a situação de síntese a -20°C com o anião dopante NO_3^- e segundo o gráfico, existiu um melhoramento das propriedades eléctricas do PC com o envelhecimento, mas isto claro é improvável, tendo nós de ter em consideração que estes resultados provenientes da VC têm sempre um erro associado, pese embora este ensaio tenha sido repetido obtendo-se valores similares, logo, quem sabe 17 horas de envelhecimento beneficiam mesmo as propriedades eléctricas do PPy nesta situação em particular. De qualquer forma, para esta situação foi feito um envelhecimento de 10 dias de forma a retirar

estas pequenas dúvidas e outras, contudo, os factos de tal envelhecimento serão relatados numa fase posterior do trabalho.

Tal como referido, efectivamente o PPy sintetizado a -20°C , com Cl^- e NO_3^- como anião dopante, foram as duas situações que obtiveram as maiores capacidades de fornecimento de cargas, mostrando-se assim que estas são as condições em que o eléctrodo é capaz de fornecer mais corrente. Estes dois aniões dopantes são também os mais sugeridos pela maioria dos artigos científicos referentes ao assunto, bem como o facto da baixa temperatura favorecer as propriedades eléctricas dos PCs.

A tendência em alguns casos para o decréscimo da capacidade de fornecimento de carga poderá estar relacionada com a oxidação do PPy, a qual leva a diminuição de condutividade eléctrica.

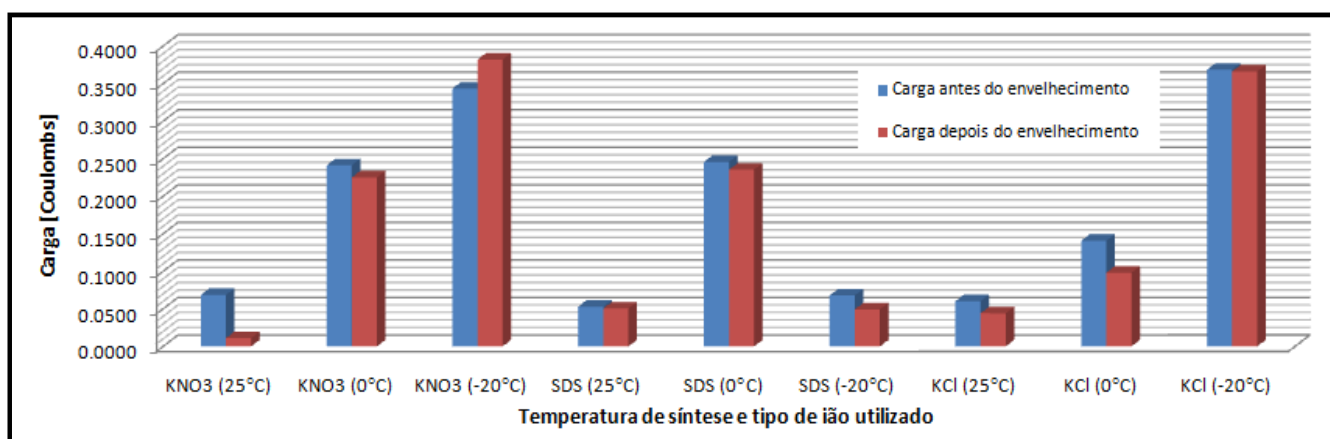


Figura 24. Cargas provenientes das áreas das curvas VC.

Posto isto, seguimos agora para os gráficos da capacidade eléctrica específica conseguida através do gráfico descritivo do envelhecimento do eléctrodo, como o da figura 24. Estes ensaios tiveram o objectivo de seguir a evolução das propriedades das amostras ao longo dos vários ciclos de envelhecimento. As capacidades foram obtidas através das curvas de envelhecimento semelhantes às da figura 25, curvas às quais eram achados os declives positivos (carga) e negativos (descarga) ao longo dos vários ciclos de envelhecimento.

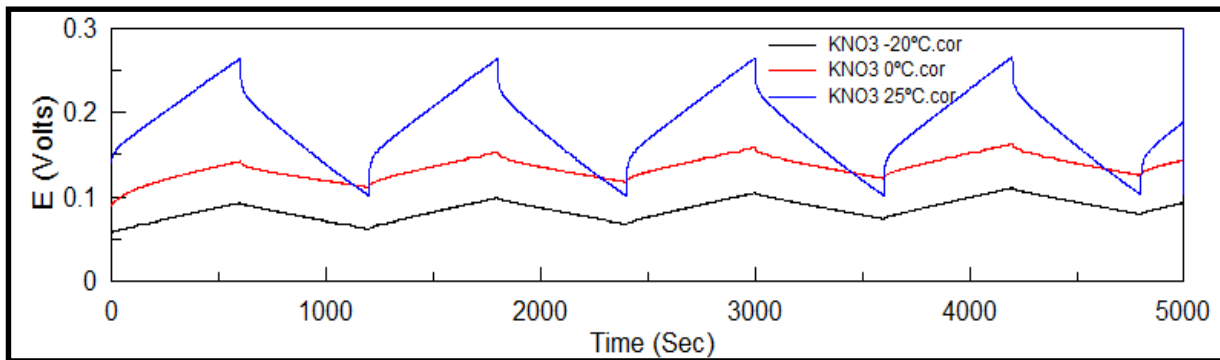


Figura 25. Curvas de envelhecimentos obtidas para o PPy tendo em conta diferentes temperaturas de síntese. Através destas curvas é conseguida a capacidade específica dos eléctrodos ao longo do envelhecimento.

As figuras 26, 28 e 30 contêm as curvas exemplificativas da evolução da capacidade específica ao longo do envelhecimento do PPy sintetizado com KNO_3 para as diferentes temperaturas de síntese. Vemos realmente, e de acordo com os resultados das áreas obtidas por VC que o PPy quando sintetizado com KNO_3 a 25°C tem uma capacidade eléctrica específica, ou seja, uma capacidade de armazenar e fornecer energia eléctrica bastante inferior á do PPy sintetizado com KNO_3 a 0°C , no entanto quando comparamos o PPy sintetizado com KNO_3 a 0°C com o correspondente a -20°C verificamos que os resultados obtidos foram relativamente similares, não existindo melhoria ao contrário do que nos foi sugerido pela VC.

Contudo, enquanto que as curvas voltametria cíclica dão conta da capacidade numa gama de potenciais alargada, as curvas de envelhecimento dão conta da capacidade apenas numa gama muito restrita de potenciais.

As figuras 27, 29 e 31 são referentes aos resultados do PPy sintetizado em KCl. Quando comparamos esta síntese a 25°C e 0°C vemos que tal como a situação anterior a melhoria é notória mas também como a situação anterior, em que o dopante utilizado era o nitrato, não existem melhorias na síntese a -20°C .

Quanto ao SDS nas figuras 32 e 33 para as duas temperaturas de síntese vemos que a diminuição da temperatura, tal como nos outros casos, beneficia a capacidade do PPy contudo não temos o seu gráfico de capacidade específica para -20°C pelas razões evidenciadas acima.

Comparando agora os valores das capacidades específicas obtidas, observa-se que o que possui a capacidade específica superior antes e depois do envelhecimento é o PPy sintetizado com KNO_3 a -20°C .

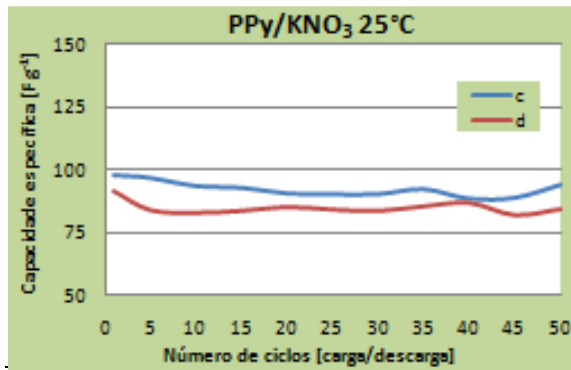


Figura 26. Capacidade específica em função do número de ciclos para o PPy sintetizado com KNO_3 a 25°C tempo de envelhecimento máximo de 17 horas.

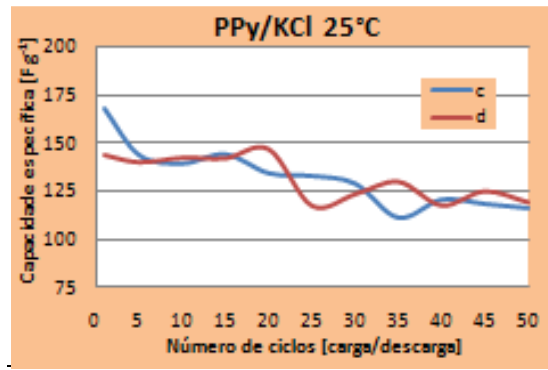


Figura 27. Capacidade específica em função do número de ciclos para o PPy sintetizado com KCl a 25°C tempo de envelhecimento máximo de 17 horas.

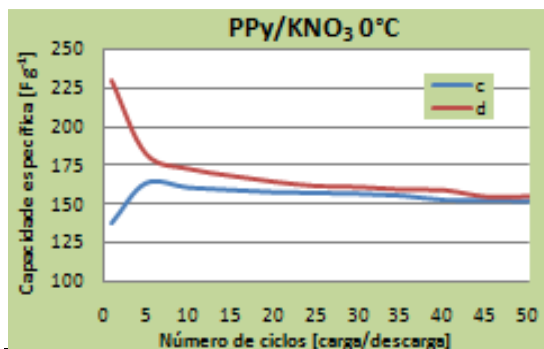


Figura 28. Capacidade específica em função do número de ciclos para o PPy sintetizado com KNO_3 a 0°C tempo de envelhecimento máximo de 17 horas.

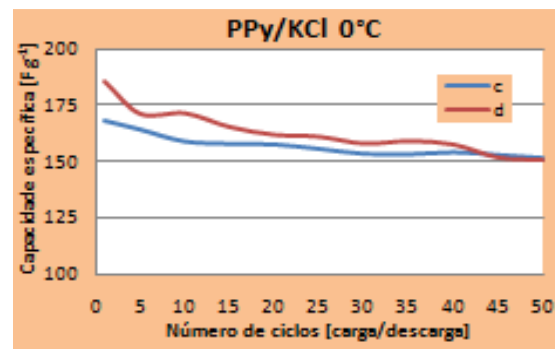


Figura 29. Capacidade específica em função do número de ciclos para o PPy sintetizado com KCl a 0°C tempo de envelhecimento máximo de 17 horas.

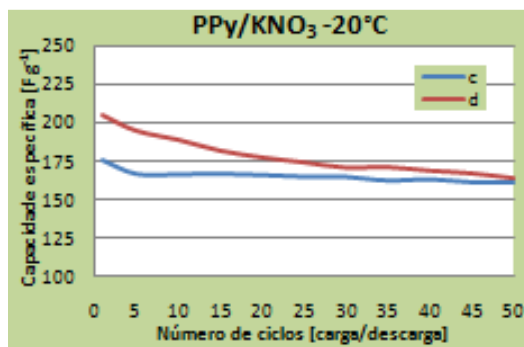


Figura 30. Capacidade específica em função do número de ciclos para o PPy sintetizado com KNO_3 a -20°C tempo de envelhecimento máximo de 17 horas.

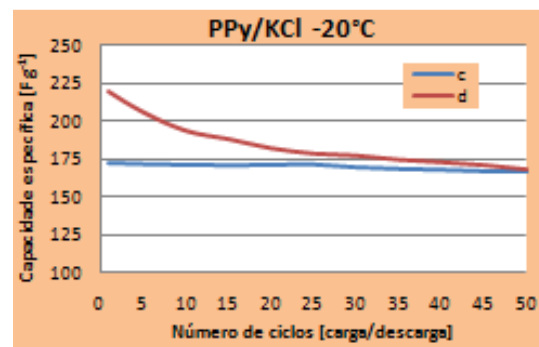


Figura 31. Capacidade específica em função do número de ciclos para o PPy sintetizado com KCl a -20°C tempo de envelhecimento máximo de 17 horas.

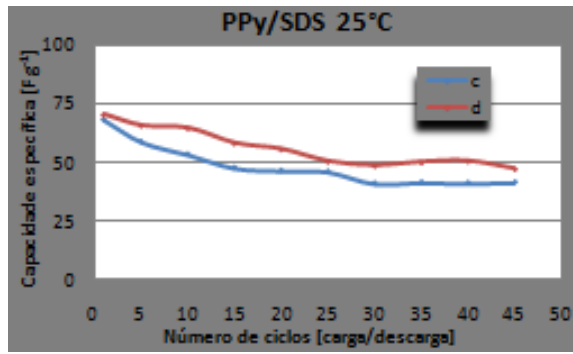


Figura 32. Capacidade específica em função do número de ciclos para o PPy sintetizado com SDS a 25°C tempo de envelhecimento máximo de 17 horas.

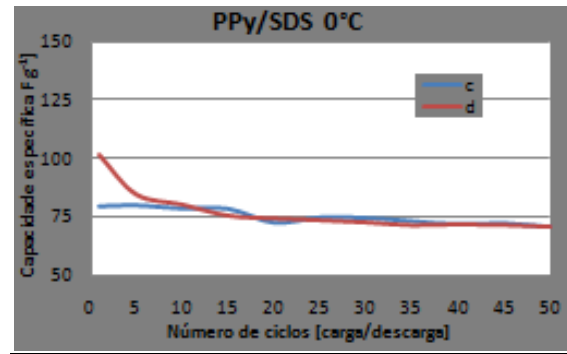


Figura 33. Capacidade específica em função do número de ciclos para o PPy sintetizado com SDS a 0°C tempo de envelhecimento máximo de 17 horas.

De forma a completar o nosso estudo, resolveu-se fazer um envelhecimento muito mais prolongado, de 10 dias, no eléctrodo com PPy sintetizado com KNO_3 a -20°C . Escolhemos esta amostra pois era aquela que até ao momento tinha apresentado resultados mais satisfatórios nas capacidades e nas cargas obtidas pelos testes electroquímicos. Isto porque, um envelhecimento de 17 horas embora permita tirar algumas conclusões, não é suficiente visto que estes eléctrodos se destinam a implantação permanente.

Vemos pela figura 34 que o eléctrodo ao fim de 10 dias de envelhecimento apresenta maior perda de propriedades eléctricas do que ao fim de 17 horas vendo-se por isso a sua capacidade específica diminuída de 200 Fg^{-1} para cerca de 140 Fg^{-1} e nota-se que o seu envelhecimento é gradual e monótono.

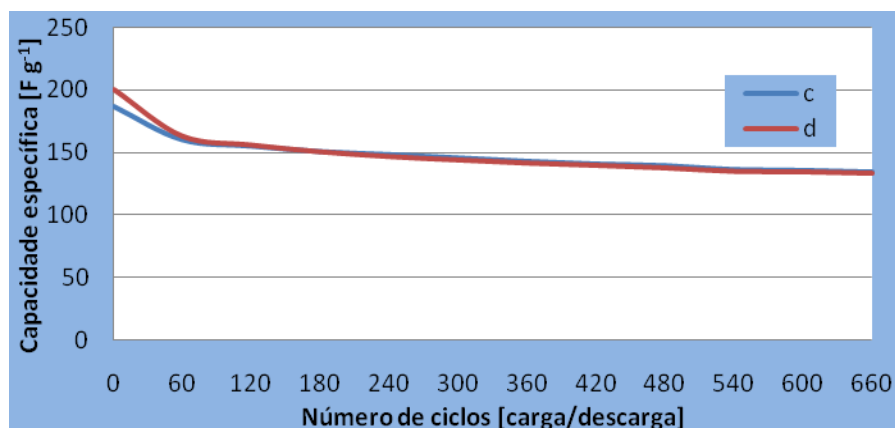


Figura 34. Capacidade específica do eléctrodo dopado com NO_3^- sintetizado a -20°C envelhecido durante 10 dias.

Na figura 35, referente as áreas de VC vemos que a área depois de um envelhecimento de dez dias diminui muito e é muito menor quando comparada com a área após um

envelhecimento de 17 horas. Na figura 36 podemos ver a diminuição da carga observada depois do envelhecimento de dez dias.

Quando comparamos as capacidades obtidas com as capacidades obtidas por outros autores em condições semelhantes, vemos que estes são interiores em cerca de um terço. É claro que tais experiências usam muitas vezes o PPy junto com outro PC, o que poderá ter influencia na optimização das suas propriedades eléctricas. O tipo de anião dopante bem como a sua concentração pode também influenciar muito [35,40].

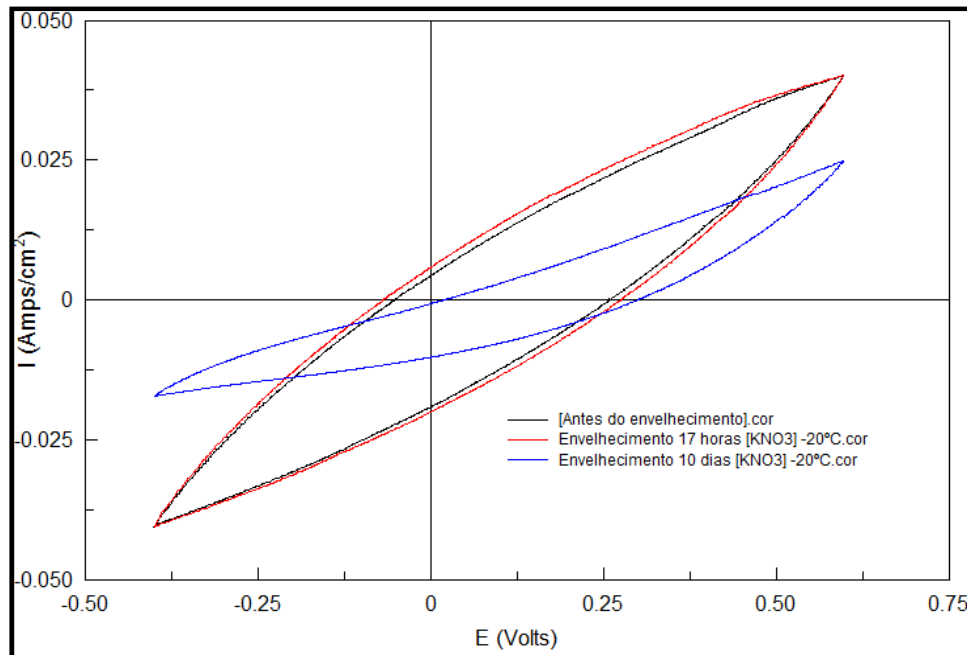


Figura 35. Áreas voltamétricas do eléctrodo revestido com PPy, dopado com NO_3^- e sintetizado a -20°C antes e depois do envelhecimento de 17 horas e de 10 dias.

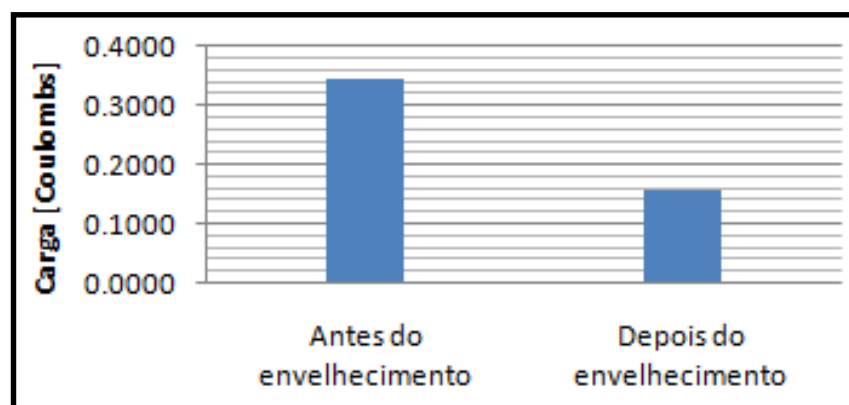


Figura 36. Áreas voltamétricas do eléctrodo de PPy dopado com NO_3^- e sintetizado a -20°C depois de 10 dias de envelhecimento.

As curvas das figuras 37 e 38 abaixo, são fruto dos ensaios EIS que se realizavam nos eléctrodos antes e depois do envelhecimento. Na figura 37 comparam-se as impedâncias dos eléctrodos de PPy para os três iões estudados considerando uma síntese a 0°C. Tais impedâncias são também comparadas à impedância do ouro sem revestimento de PPy. Constata-se que a impedância mais baixa corresponde à do eléctrodo que usou NO_3^- como dopante sendo por isso este o eléctrodo que oferece menos resistência à passagem da corrente eléctrica.

Os resultados de impedância para os eléctrodos sintetizados com KCl e SDS foram muito parecidos. Quando comparamos as impedâncias entre os eléctrodos revestidos com PPy com o eléctrodo de ouro sem revestimento, vemos realmente que o de ouro oferece muito mais resistência à passagem da corrente. A impedância é uma resistência, que para o tipo de aplicação para que estes eléctrodos estão a ser concebidos, não pode ser muito elevada pois se assim acontece os eléctrodos irão aquecer demasiado danificando os tecidos.

Na figura 38 pretende-se ilustrar, através das curvas de impedância, o efeito do envelhecimento no valor da impedância. Os valores de impedância antes e depois de um envelhecimento de 17 horas mantêm-se relativamente constantes o que nos leva a pensar que o nosso eléctrodo ao fim de 17 horas oferece a mesma resistência à passagem da corrente que no início. O valor da impedância depois de 17 horas de envelhecimento mostra-se até inferior ao valor antes do envelhecimento, mas isto acontece devido a alguns factores de erro sempre associados a este tipo de ensaios.

Quanto ao envelhecimento de 10 dias, é visível um aumento no valor da impedância, o que indica que ao fim desse tempo o eléctrodo perdeu propriedades eléctricas. Ao compararmos o eléctrodo de PPy dopado com NO_3^- sintetizado a 0°C, da figura 37, com o eléctrodo de PPy dopado com o mesmo anião mas sintetizado a -20°C da figura 38 vemos que a impedância é decresce com a diminuição da temperatura vendo-se assim beneficiadas as propriedades eléctricas dos eléctrodos.

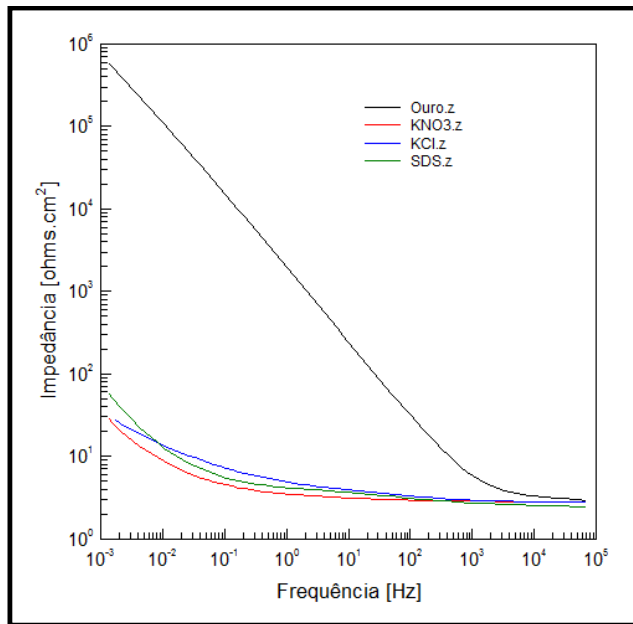


Figura 37. Comparação das impedâncias antes do envelhecimento para os diferentes iões estudados, para o PPy sintetizado a 0°C.

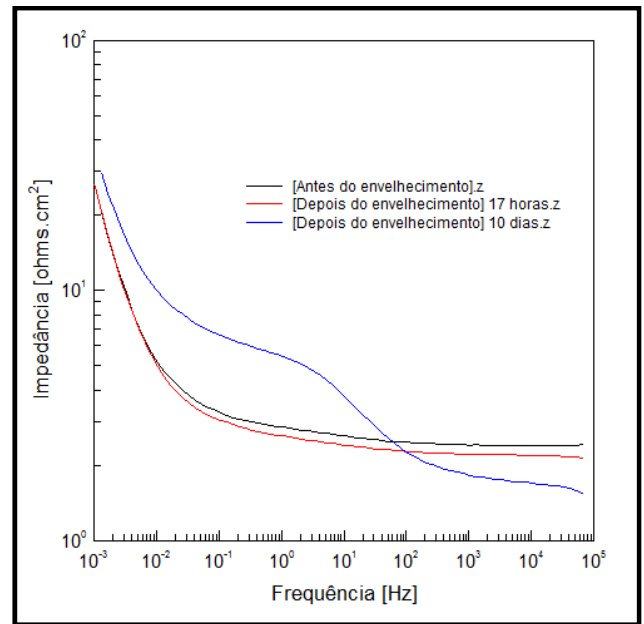


Figura 38. Comparação das impedâncias antes e depois de envelhecimentos de 17 horas e de 10 dias para o PPy sintetizado a -20°C.

Um outro objectivo deste trabalho centrava-se na eleição dos dois eléctrodos de PPy com melhores desempenhos nos testes electroquímicos, neste caso PPy sintetizado com KCl a -20°C e PPy sintetizado com KNO₃ a -20°C, e revesti-los com um hidrogel, alginato a 0.75% estudando o seu efeito capacidade específica do eléctrodo antes e depois do envelhecimento. O ajuste das propriedades mecânicas do eléctrodo às dos tecidos é importante para a sua biocompatibilidade. Pela figura 39 vemos que para o PPy /KCl -20°C, verificou-se diminuição das propriedades eléctricas mas para o PPy/KNO₃ -20°C mantêm-se sensivelmente as mesmas.

Quanto à figura 40 é referente á evolução das capacidades após envelhecimento. Ao comparar com o gráfico da figura 30 verifica-se que a capacidade especifica se manteve-se igual com e sem hidrogel. Isto é benéfico principalmente para a amostra de PPy sintetizada com KNO₃ que, a juntar às boas capacidades eléctricas pode-se ainda juntar um hidrogel de forma a melhorar, a biocompatibilidade com os tecidos do corpo humano reduzindo os efeitos secundários que daí possam advir. A biocompatibilidade melhora apenas teoricamente, visto que neste projecto não foram elaborados testes de biocompatibilidade aos eléctrodos produzidos.

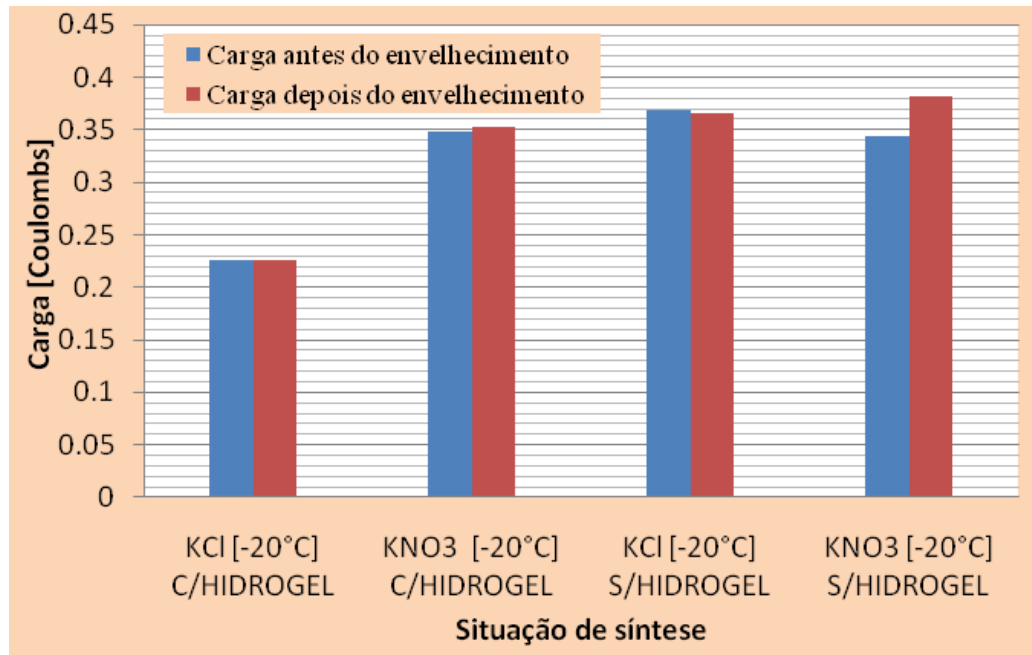


Figura 39. Cargas obtidas para o eléctrodo de PPy com e sem alginato a 0.75%.

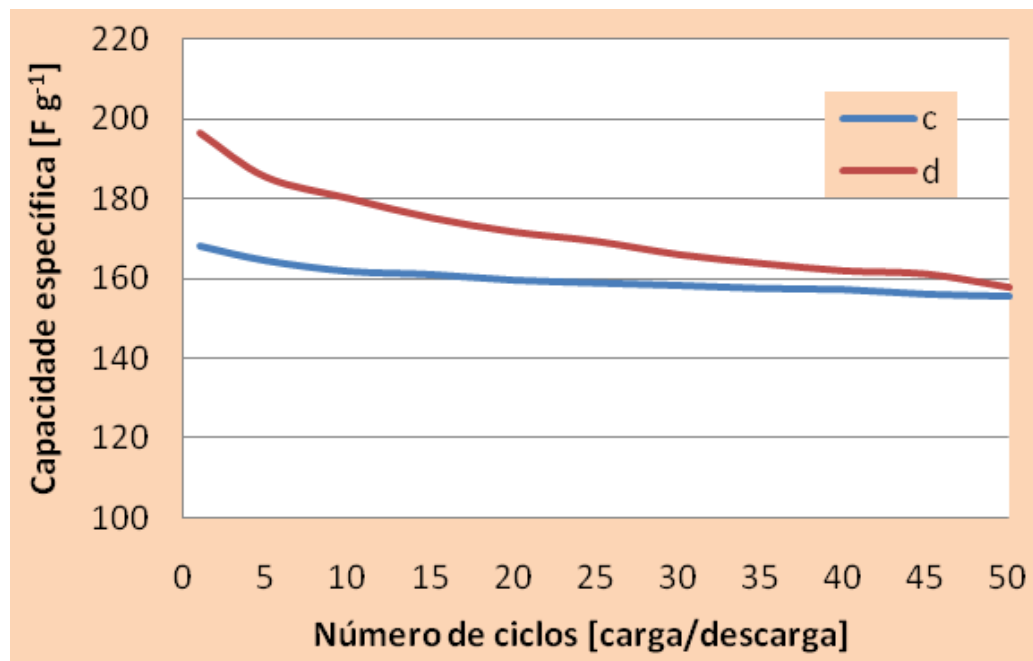


Figura 40. Capacidade PPy dopado com NO_3^- , sintetizado a -20°C revestido com hidrogel.

Ao analisar a figura 41 podemos ver o efeito, nos valores de impedância, da aplicação do alginato a 0.75% sobre o eléctrodo de PPy dopado com NO_3^- e sintetizado a -20°C produzido comparado com o mesmo eléctrodo sem alginato a 0.75%. É inquestionável que envolver o eléctrodo regenerativo com um hidrogel melhora na teoria a sua biocompatibilidade com o organismo. Contudo, e pelos valores de impedância obtidos, o

eléctrodo revestido com hidrogel apresenta uma impedância superior, logo oferece uma maior resistência à passagem da corrente e por isso tem as suas propriedades eléctricas diminuídas.

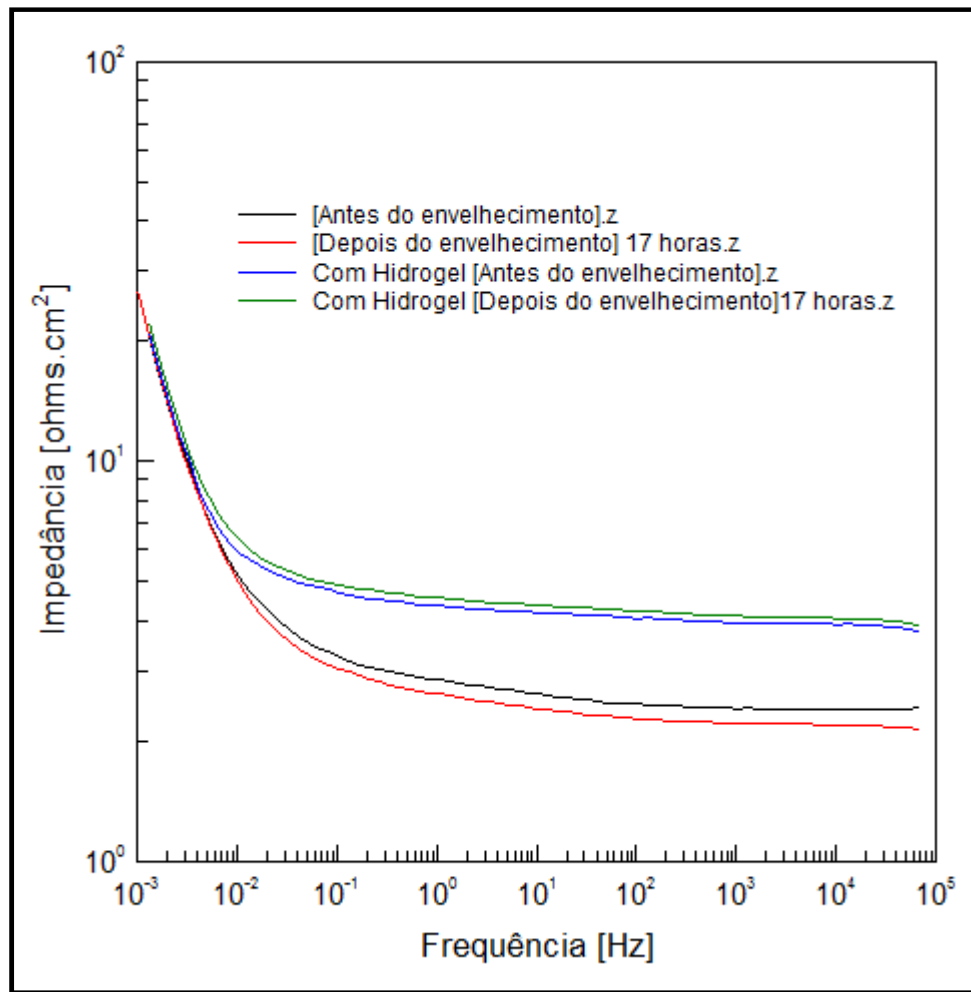


Figura 41. Comparação das impedâncias antes e depois dos envelhecimentos do PPy dopado com NO_3^- e sintetizado a -20°C , com e sem hidrogel.

Estudos recentes apontam que a espessura do hidrogel tem muita influencia no valor da impedância, ou seja, quanto maior a espessura do filme de hidrogel maior será a impedância final obtida. Dong-Hwan Kim et al [36] realizaram testes de impedância ao PPy sem hidrogel e com hidrogel obtendo resultados de impedância superiores aos obtidos neste trabalho, sendo que a concentração de alginato usada nessa investigação foi superior à usada neste projecto.

5.2 PPy – Resultados SEM e FTIR

Seguidamente, analisaremos as micrografias ilustrativas da morfologia do PPy obtido para as três diferentes temperaturas de síntese, bem como veremos também as micrografias exemplificativas do estado do PPy após envelhecimento de dez dias. Tais valores serão também nesta secção correlacionados com os resultados electroquímicos abordados no ponto anterior. Aliás, foi com base nesses ensaios electroquímicos que nos foi possível seleccionar as amostras para análise SEM, amostras essas às quais se pretende que sejam esclarecedoras do efeito da temperatura de síntese e do tipo de ião utilizado na síntese, sobre as microestruturas, e conseqüentemente nas propriedades finais do eléctrodo revestido com PPy. Aqui pretendemos também ver a evolução da microestrutura do PPy, após um envelhecimento de dez dias.

As figuras 42 e 43 mostram as micrografias da estrutura do PPy dopado com NO_3^- , sobre o fio de ouro, para uma temperatura de síntese de 25°C . Na figura 42 observa-se que o filme polimérico se apresenta numa estrutura tipo couve-flôr, sendo visíveis algumas fracturas. As zonas brilhantes visíveis na figura 43 são devidas a elementos de maior número atómico nomeadamente o potássio do electrólito suporte.

A espessura de filme de PPy depositado sobre o fio de ouro foi de $218\mu\text{m}$, determinada a partir da foto SEM, depois de descontada a espessura do fio de ouro.

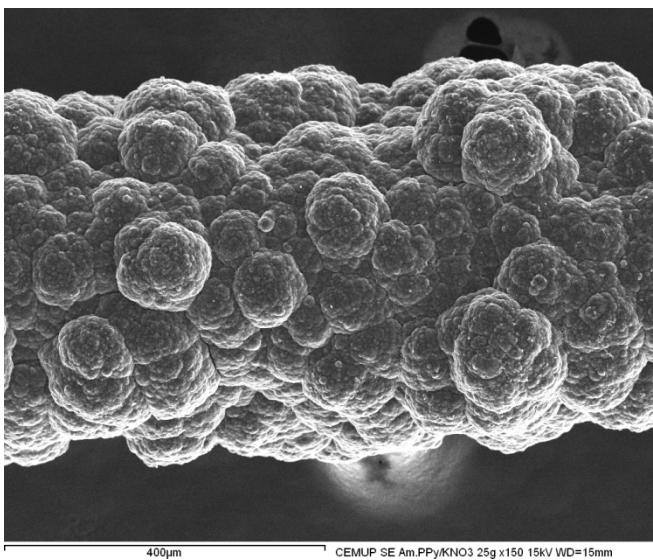


Figura 42. Amostra PPy/ KNO_3 sintetizado a 25°C 150X [electrões secundários].

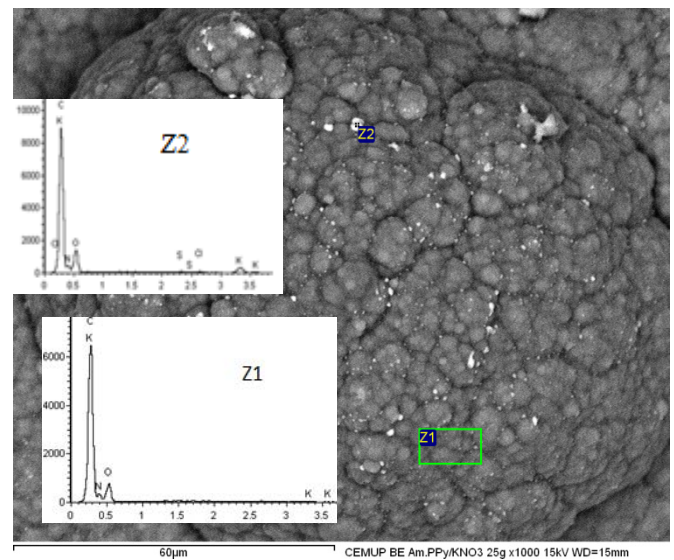


Figura 43. Amostra de PPy/ KNO_3 sintetizado a 25°C 1000X [electrões retrodifundidos].

Ao passar a temperatura de síntese de 25° para 0°C a microestrutura do PPy formado aparece alterada. As figuras 44 e 45, mostram a superfície do filme de PPy formado sobre o eléctrodo de ouro. Aquilo que chama mais atenção quando comparamos a figura 42 com a 44 de igual ampliação e ambas captadas através de electrões secundários, é o facto da espessura do filme de PPy formado na síntese a 25°C ser inferior à do filme formado na síntese a 0°C, sendo que este valor aumenta de 218µm para 461µm.

O filme formado a 0°C apresenta-se claramente mais rugoso e mais poroso também, aparentando ainda uma boa homogeneidade.

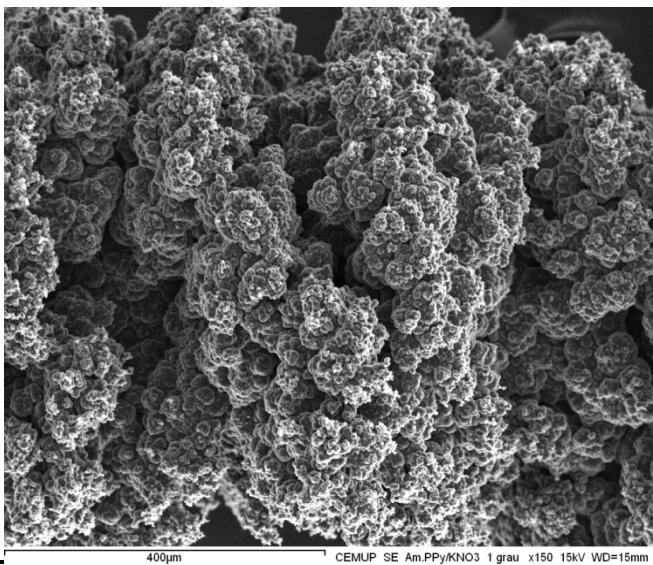


Figura 44. Amostra de PPy/KNO₃ sintetizado a 0°C 150X [electrões secundários].

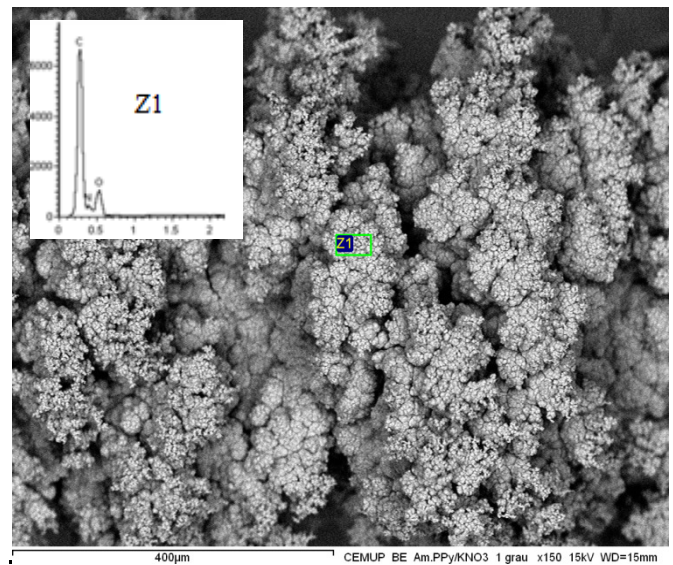


Figura 45. Amostra de PPy/KNO₃ sintetizado a 0°C 150X [electrões retrodifundidos].

As figuras 46 e 47 mostram as micrografias ilustrativas da morfologia do filme polimérico de PPy dopado com nitrato e quando sintetizado a -20°C. Vamos dar mais ênfase a esta situação do que as anteriores, visto que, para os ensaios electroquímicos feitos para todas as diferentes temperaturas de síntese, revelaram que a síntese a -20°C seria aquela que incutia no filme polimérico melhores propriedades eléctricas.

Pela figura 47, observa-se o facto de amostra ser ainda mais porosa, bem mais do que os filmes anteriores, consequentemente terá maior área superficial e a sua capacidade virá também beneficiada. Vemos também algo que não foi possível observar nas situações anteriores mas que certamente também se verificará nelas; o facto de o filme de PPy crescer radialmente, como vemos pela orientação de algumas partes do filme no plano vertical da

microfotografia. Nesta foto vemos também que o filme se apresenta com uma microestrutura homogénea ao longo de toda a sua área.

A figura 46 serve apenas para mostrar que este filme de PPy apresenta uma estrutura semelhante a um “cacho de uvas”, estrutura essa já verificada por outros investigadores em outros projectos.

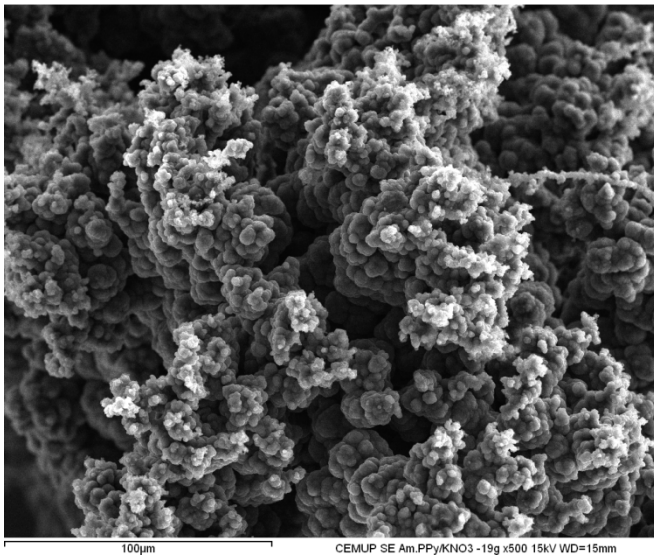


Figura 46. Amostra de PPy/KNO₃ sintetizado a -20°C 500X [electrões secundários].

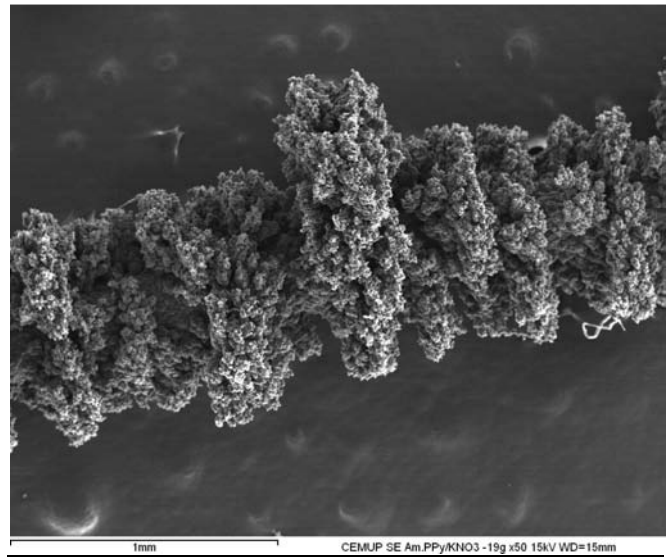


Figura 47. Amostra de PPy/KNO₃ sintetizado a -20°C 50X [electrões retrodifundidos].

Atentando na figura 48 e comparando com as figuras 42 e 44 vemos realmente que o tamanho dos agregados formados diminuiu com a temperatura mas o seu número aumentou. A espessura média do filme de PPy neste caso foi de 643µm, bem superior à dos dois casos anteriores.

Em suma, estas imagens SEM vieram a confirmar os resultados obtidos através de VC e EIS que atribuem as melhores propriedades eléctricas ao filme de PPy dopado com NO₃⁻ e sintetizado a uma temperatura de -20°C. Posto isto, e definida a amostra com melhor desempenho, resolveu-se envelhecer durante 10 dias tal amostra, de forma a ver que efeito iria trazer na sua morfologia.

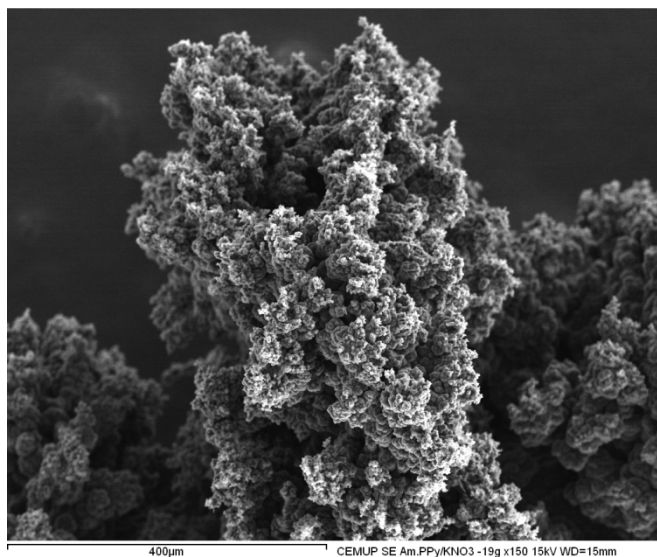


Figura 48. Amostra de PPy/KNO₃ sintetizado a -20°C 150X [electrões secundários].

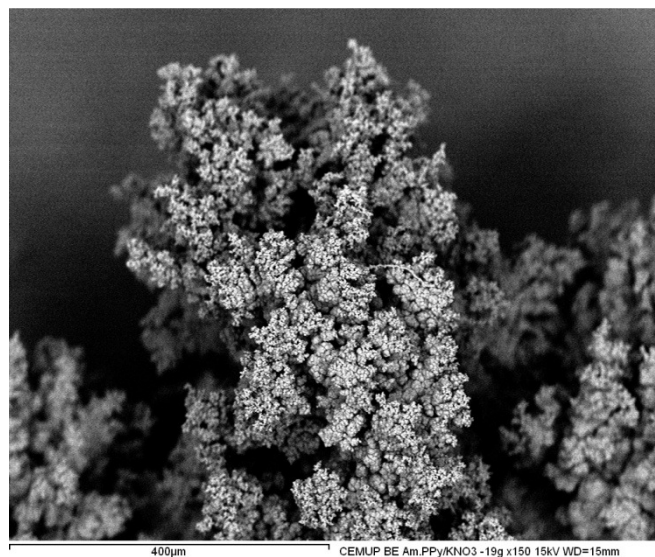


Figura 49. Amostra de PPy/KNO₃ sintetizado a -20°C 150X [electrões retrodifundidos].

A figura 50 mostra que após envelhecimento a amostra perde a sua homogeneidade estrutural apresentando após dez dias dois padrões de cor. As zonas claras correspondem a zonas de acumulação de carga, isto é, zonas isolantes, resultantes da degradação do PPy, o qual se transforma num material não condutor. Ao observar a figura 51 vemos que existem também zonas de maior número atómico, neste caso identificadas com a existência de sódio e potássio.

Ao observar a figura 53 vemos que a morfologia do filme apresenta afinal três zonas distintas. Uma zona mais branca, uma zona acinzentada e outra mais escura. Na zona Z7 vemos que segundo o seu espectro esta contém carbono, oxigénio, azoto e cloro proveniente da nossa solução de envelhecimento. A zona Z5 representa uma zona onde existe muito cloro disseminado e a zona Z6 existe muito sódio. Como vemos, as imagens morfológicas vêm confirmar os resultados de VC e EIS.

A estrutura do tipo “cacho de uvas” já foi verificada em outros artigos científicos, obtendo-se imagens SEM muito semelhantes às do nosso projecto. Jie Wang et al [35] é um exemplo de um artigo que obteve uma estrutura muito semelhante à nossa, à qual o autor define como uma estrutura tipo couve-flor.

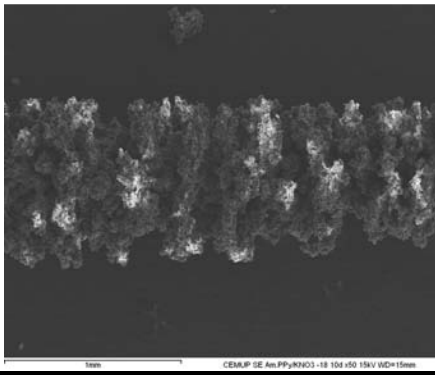


Figura 50. Amostra de PPy/KNO₃ sintetizado a -20°C após 10 dias de envelhecimento 50X [electrões secundários].

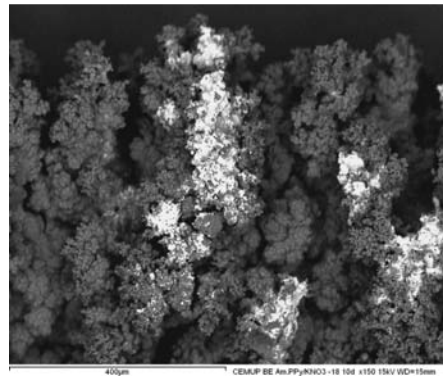


Figura 51. Amostra de PPy/KNO₃ sintetizado a -20°C após 10 dias de envelhecimento 150X [electrões retrodifundidos].

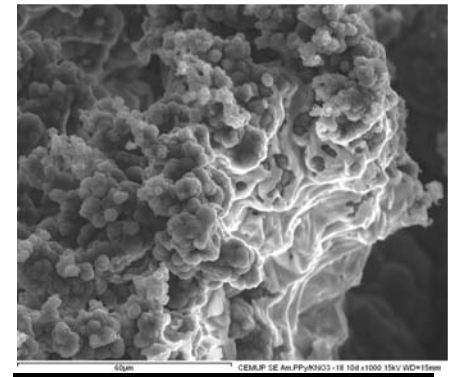


Figura 52. Amostra de PPy/KNO₃ sintetizado a -20°C após 10 dias de envelhecimento 1000X [electrões retrodifundidos].

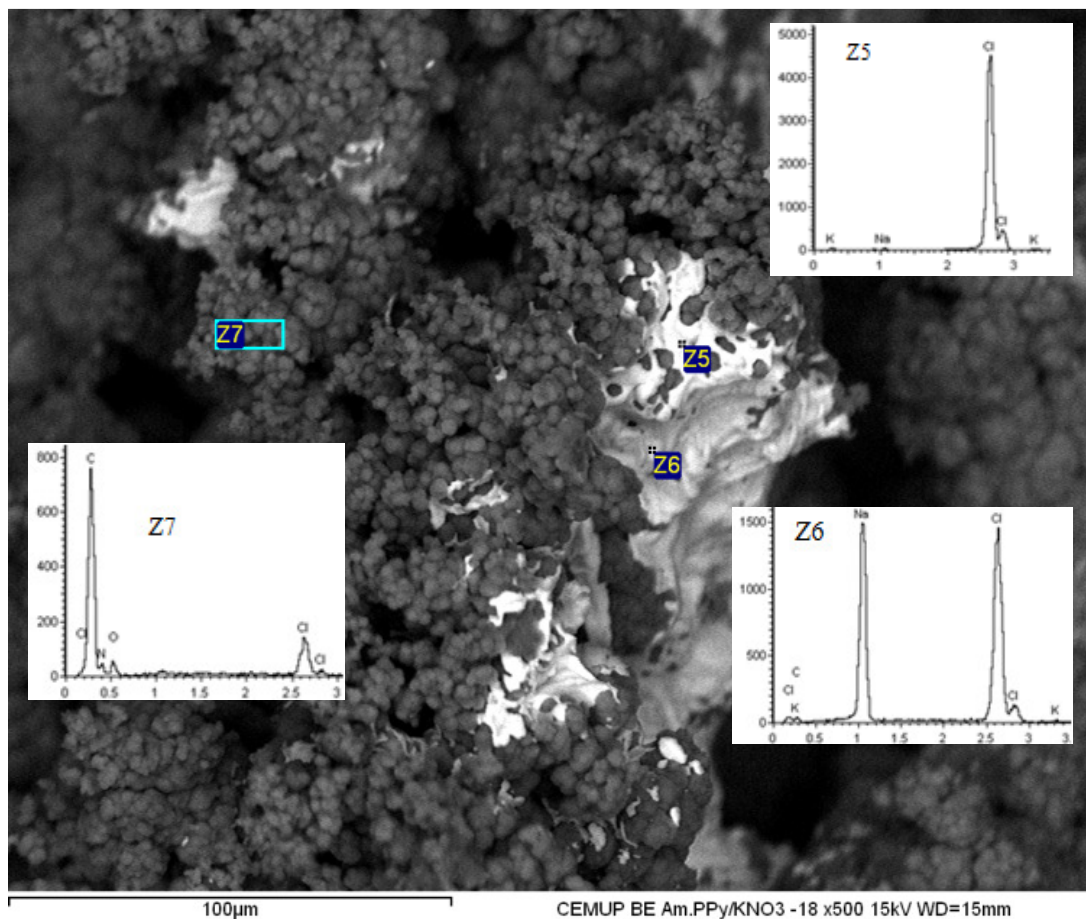


Figura 53. Amostra de PPy/KNO₃ sintetizado a -20°C após envelhecimento de 10 dias 500X [electrões retrodifundidos].

O objectivo da realização da análise FTIR, é o de confirmar que efectivamente estamos na presença de PPy. Por isso, confrontou-se o espectro obtido para o PPy sintetizado a -20°C, dopado com nitrato e envelhecido durante 10 dias, com espectros obtidos por outros

investigadores. Nesta correlação de espectros, procurou-se identificar os picos característicos do PPy e comuns a ambos os espectros.

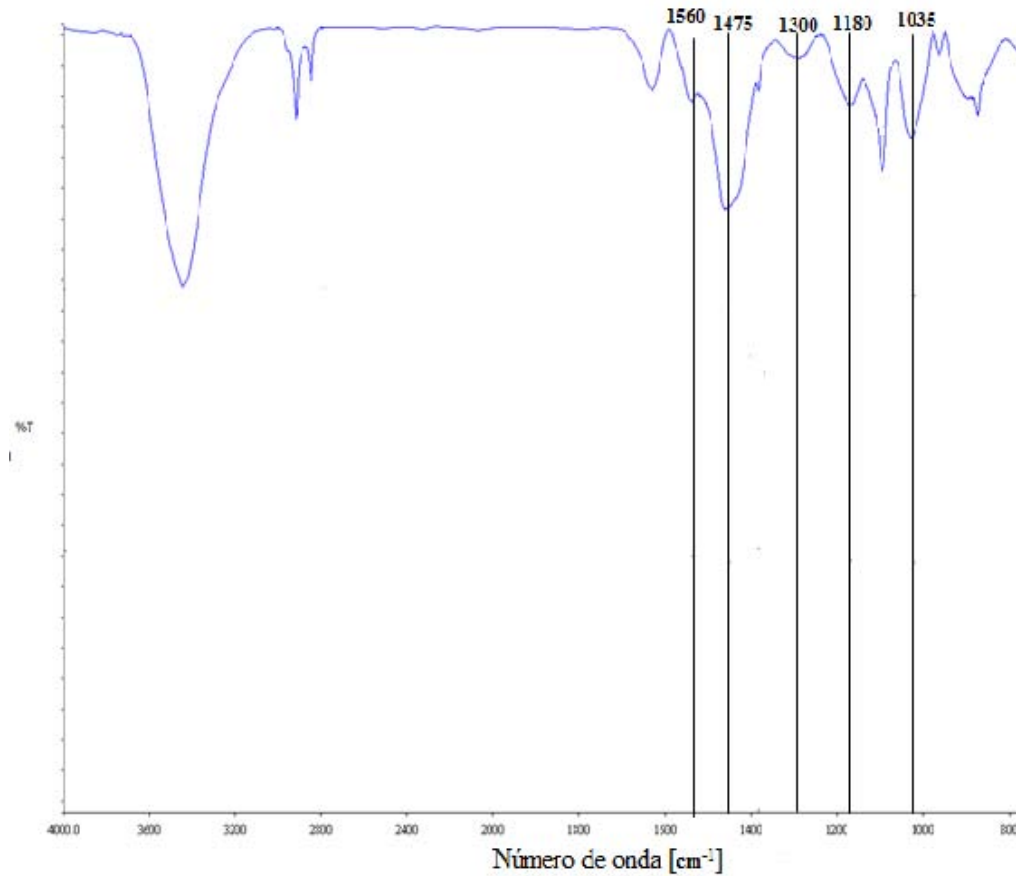


Figura 54. Espectro FTIR obtido para o PPy/ KNO_3 sintetizado a -20°C e depois de envelhecido 10 dias.

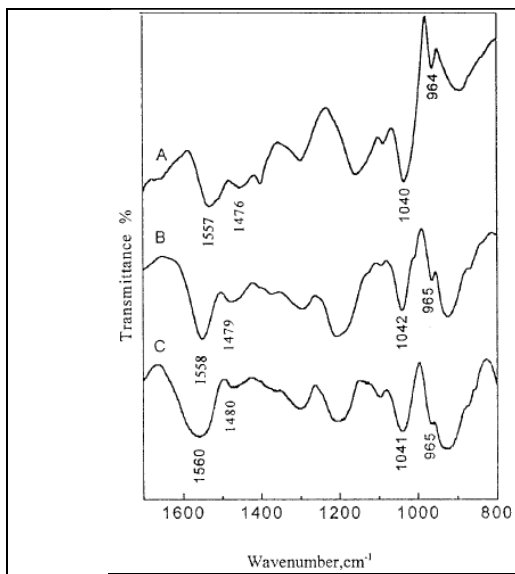


Figura 55. Espectros FTIR referentes ao PPy obtidos por Fen Yan et al [41].

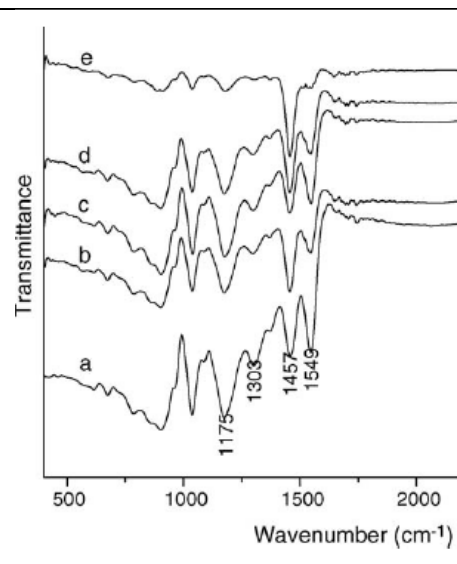


Figura 56. Espectros FTIR referentes ao PPy obtidos por Yang Liu et al [42].

Ao correlacionarmos a figura 54 com as figuras 55 e 56 referentes a espectros FTIR obtidos por Fen Yan et al [41] e Yang Liu et al [42] vemos que o nosso espectro tem cinco picos característicos do PPy, ou seja tem um número de onda similar. Uma análise visual cuidada dos espectros, bem como uma análise bibliográfica dos trabalhos de destes dois investigadores permite-nos constatar que:

1560 cm^{-1} → Estiramento das ligações C-C dos anéis da cadeia de PPy

1475 cm^{-1} → Estiramento das ligações C-N dos anéis da cadeia de PPy

1300 cm^{-1} → Vibrações planares =C-H

1180 cm^{-1} → Estiramento das ligações C-N

1035 cm^{-1} → Vibrações planares =C-H

Apesar desta correspondência entre os picos característicos dos espectros do PPy obtido e da bibliografia, existem diferenças ao nível da intensidade de alguns picos, assim como deslocamentos dos picos. Em suma pode-se afirmar que alguns dos picos característicos do PPy foram identificados, confirmando-se o facto de estarmos na presença de PPy.

5.3 PEDOT – Resultados electroquímicos

Como forma de comparar aos eléctrodos revestidos com PPy, resolveu-se revestir também eléctrodos de ouro com PEDOT. Na figura 57, o eléctrodo de cima corresponde ao PPy sintetizado a -20°C e dopado com NO_3^- , o de baixo ao eléctrodo sintetizado nas mesmas condições do PPy mas onde o monómero era o EDOT. Vemos a olho nu que o filme de PPy é mais poroso que o filme de PEDOT. A tabela 5 vem a confirmar tal facto observado a olho nu, onde vemos que efectivamente a massa de filme de PEDOT depositado para as várias situações de síntese foi muito pequeno quando comparado à massa PPy depositado, exemplificado na tabela 4.



Figura 57. Diferença visual de um eléctrodo de PPy e outro de PEDOT sintetizados sobre as mesmas condições. O primeiro corresponde ao PPy e o segundo ao PEDOT.

Tabela 5. Rendimento⁷ da deposição do PEDOT sobre o ouro.

Situação de síntese	Peso PEDOT depositado [gramas]	Rendimento da deposição %
KNO ₃ -20°C	0.003	15.8
KNO ₃ 0°C	0.0033	17.4
KNO ₃ 25°C	0.0003	1.6
KCl -20°C	0.0005	2.8
KCl 0°C	0.0001	0.6
KCl 25°C	0.0000	0

Na figura 58 abaixo concluímos, pelos gráficos de áreas, que apenas tivemos resultados reprodutíveis para o PEDOT com NO₃⁻ como dopante e síntese a 25°C. Foi também impossível obter capacidades específicas fidedignas pois não é possível, como vemos na figura 59, retirar o declive das curvas de envelhecimento. O facto de o potencial subir muito mais aqui, para a mesma carga fornecida (corrente x tempo), significa que a capacidade eléctrica é efectivamente muito menor.

Para além disso atingem-se potenciais perigosos do ponto de vista da possibilidade de ocorrência de reacções electroquímicas.

⁷ O rendimento foi calculado da mesma forma do rendimento do PPy, e tal pode ser revisto na secção 5.1

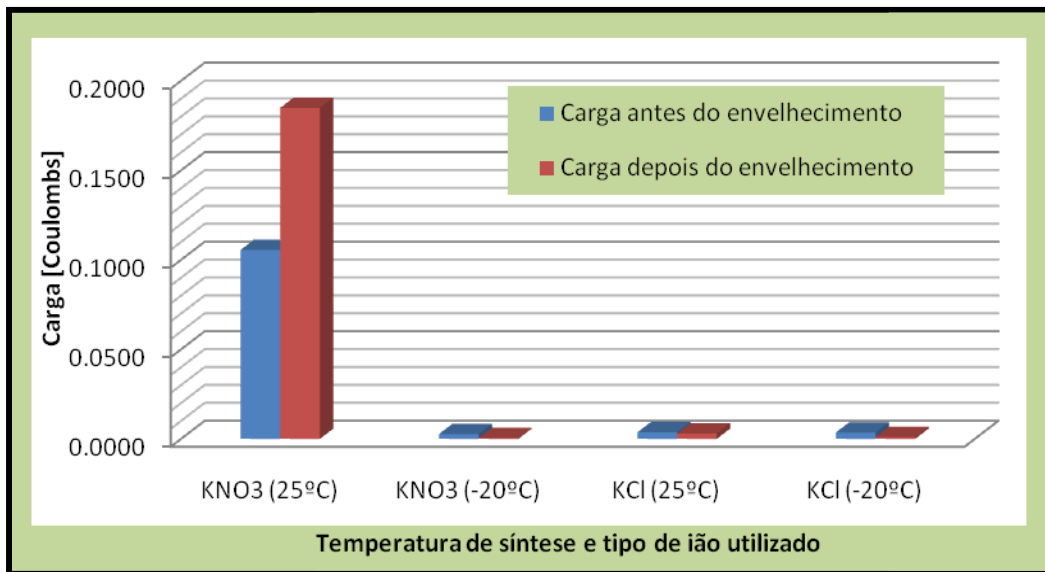


Figura 58. Cargas provenientes das áreas das curvas de voltametria.

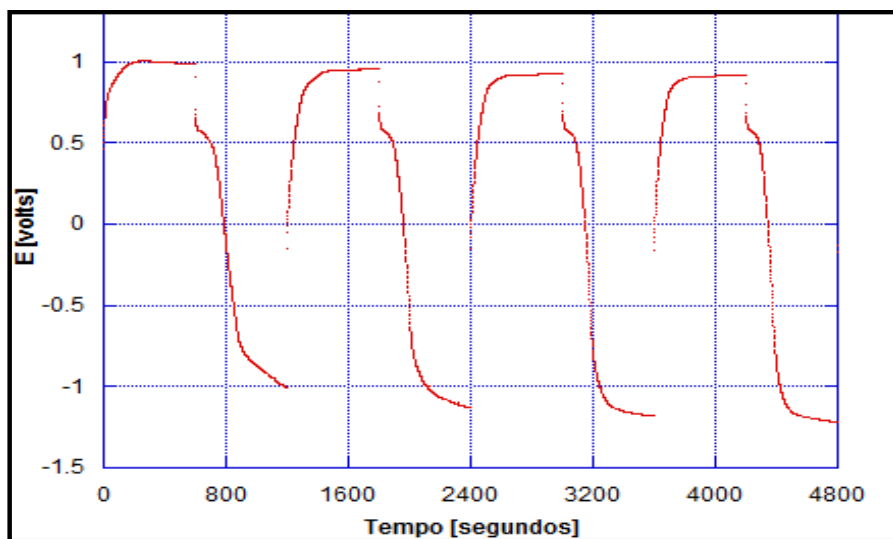


Figura 59. Envelhecimento PEDOT dopado com KCl sintetizado a 25°C.

5.4 PEDOT – Resultados SEM/EDS

Em baixo as fotos ilustrativas da síntese do PEDOT. Na figura 60 a zona Z1 a escuro contem carbono, oxigénio, azoto e enxofre enquanto que na figura 61 as zonas Z2 e Z3 correspondem a zonas escamadas por o filme não ter agarrado muito bem. As imagens mostram igualmente que, ao contrário do PPy, o filme de PEDOT delamina com facilidade.

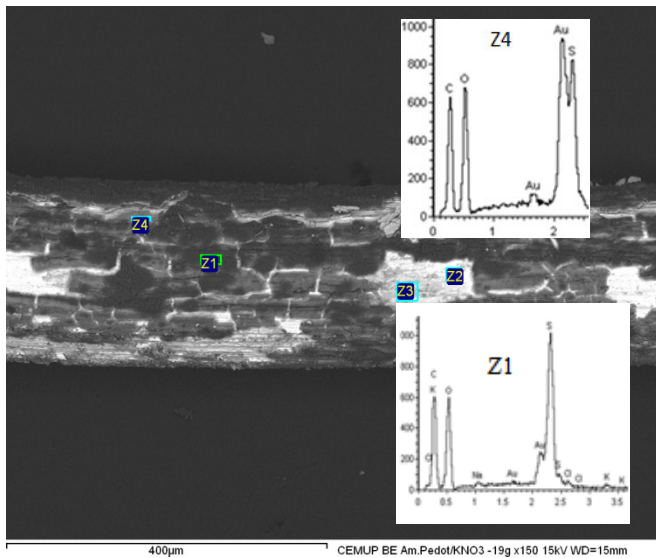


Figura 60. Amostra de PEDOT/KNO₃ sintetizado a -20°C 150X [electrões retrodifundidos].

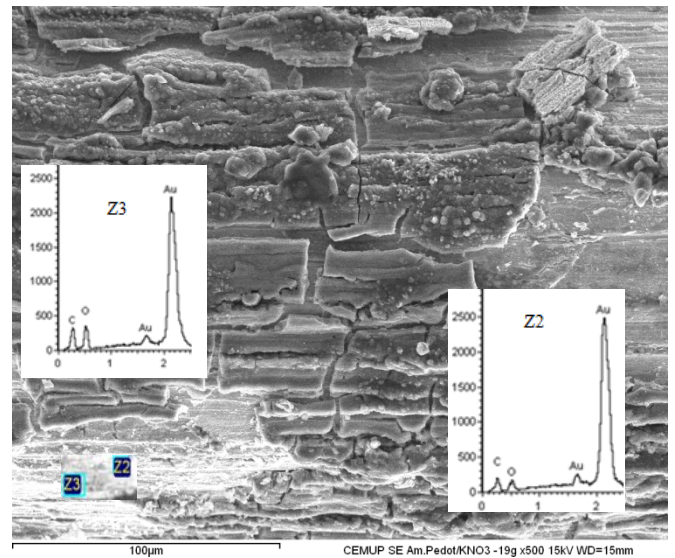


Figura 61. Amostra de PEDOT/KNO₃ sintetizado a -20°C 500X [electrões secundários].

Contrariamente ao que se esperava, e ao que tinha sucedido para o PPy, os melhores resultados de síntese ocorreram para a temperatura ambiente como é visível quando comparamos as imagens 60 e 61 da síntese a -20°C com as imagens 62 e 63 de síntese a 25°C.

Nesta última situação, o PC agarrou perfeitamente ao eléctrodo sendo a sua composição de basicamente três elementos, carbono, oxigénio e enxofre. A parte escamada na figura 62 aconteceu durante a preparação da amostra para SEM. A estrutura em cacho de uva já não se verifica tal como para o PPy. Portanto, o resultado morfológico e microestrutural dos eléctrodos de PEDOT foram tão inconclusivos como os seus ensaios electroquímicos.

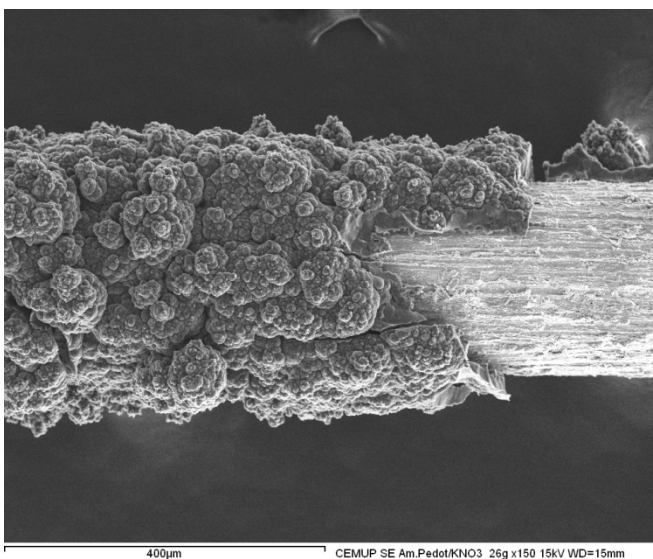


Figura 62. Amostra de PEDOT/KNO₃ sintetizado a 25°C 150X [electrões secundários].

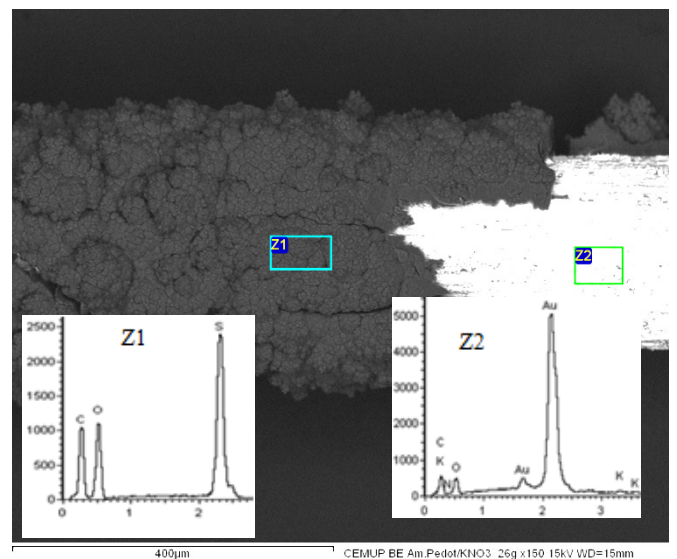


Figura 63. Amostra PEDOT/KNO₃ sintetizado a 25°C 150X [electrões retrodifundidos].

6. Conclusões

A temperatura de síntese tem uma importância crucial nas propriedades eléctricas do PPy obtido. Verificou-se que quanto menor a temperatura de síntese, melhores características eléctricas terá o PPy produzido.

O tipo de anião influencia também nas características eléctricas do PPy obtido embora de forma menos notável do que a temperatura. Para o PPy verifica-se que a sua dopagem com NO_3^- produz melhores propriedades independentemente da temperatura de síntese.

O envelhecimento faz com que o PPy perca propriedades eléctricas. Quanto maior o tempo de envelhecimento, naturalmente maior será essa perda. Um envelhecimento de 17 horas produz uma perda mínima das propriedades do PPy, contudo um envelhecimento de 10 dias faz com que a perda de propriedades seja consideravelmente elevada.

A impedância é inferior antes do envelhecimento em todas as situações estudadas, o que revela que com o aumento do tempo de envelhecimento a resistência eléctrica oferecida pelo PPy é superior.

Os eléctrodos de PPy revestidos com alginato a 0.75% vêm na teoria a sua biocompatibilidade com os tecidos melhorada contudo a sua impedância aumenta cerca de 25%, o que faz com que as propriedades eléctricas do eléctrodo piorem.

A capacidade específica é também beneficiada com a diminuição da temperatura de síntese bem como a utilização do NO_3^- como dopante.

O PEDOT mostrou-se muito pobre nas suas propriedades eléctricas, em especial quando comparado ao PPy, não se obtendo resultados reprodutíveis, sendo por isso impossível retirar qualquer tipo de conclusões consistentes.

7. Sugestões e perspectivas futuras

De forma a dar continuidade a este projecto, seria bom orientar o estudo para uma caracterização mais a fundo dos eléctrodos regenerativos produzidos, nomeadamente os de PPy dopados com NO_3^- , e sintetizados a -20°C . Com o intuito de complementar tal caracterização, o estudo da citotoxicidade do PPy seria muito útil, pois permitiria antever se os eléctrodos concessionados são compatíveis com células neuronais.

O revestimento dos eléctrodos produzidos com diferentes hidrogeis e sua optimização poderia ser também de enorme valor nesta área de investigação. Ao PPy formado sobre o ouro, poderia juntar-se outro composto, conseguindo-se assim um compósito condutor com propriedades eléctricas mais apuradas.

Os eléctrodos poderiam ser também sintetizados a temperatura inferior a -20°C . O estudo do envelhecimento dos eléctrodos poder-se-ia fazer para tempos superiores (15-30 dias) de forma a se poder retirar conclusões mais consistentes.

Tais eléctrodos, poderiam ser produzidos e sujeitos a estudos de estimulação de crescimento neuronal “*in vivo*”. Fabricar os eléctrodos noutra forma, nomeadamente na forma de folha poderia fazer com que estes se adaptassem melhor à ME.

Tentar produzir eléctrodos de PPy dopados com outras substâncias e depositados sobre um substrato diferente do ouro, em especial substratos inteiramente poliméricos, poderia também trazer mais-valias neste campo de investigação.

8. Referências bibliográficas

- [1] John Nolte; “The Human Brain: An Introduction to its Functional Anatomy”; 5ª Edição, Ed: Mosby Elsevier; 2002; Cap. 1, 3, 7-10
- [2] http://www.hivandhepatitis.com/2009icr/easl/docs/052209_c.html acedido pela última vez a 5 de Maio de 2010
- [3] Don W. Fawcett e Ronald P. Jensch; “Bloom and Fawcett: Concise Histology”; 2ª Edição; 2002; Cap. 8
- [4] Walter F. Boron and Emile L.; “Medical Physiology”; 2ª Edição; Ed: Saunders Elsevier, 2009; Cap. 10-13 e 15
- [5] Bruce M. Koeppen e Bruce A. Stanton; “Berne e Levy Physiology”; 6ª Edição; Ed: Mosby Elsevier; 2008; Cap 4-9
- [6] <http://pt.wikipedia.org/wiki/Enc%C3%A9falo> acedido pela última vez a 2 de Junho de 2010
- [7] <http://saude.hsw.uol.com.br/meningite.htm> acedido pela última vez a 30 de Junho de 2010
- [8] Michael J. Aminoff, David A. Greenberg e Roger P. Simon; “Clinical Neurology”; 6ª Edição; Ed: Lange medical books/McGraw-Hill; 2005; Cap. 5 e 6
- [9] John W. McDonald e Cristina Sadowsky; Seminário “Spinal-cord injury”; Jornal científico “The Lancet”; Volume 359; [417-425]

- [10] <https://www.nscisc.uab.edu/> acedido pela última vez a 5 de Maio de 2010
- [11] http://mmspf.msdonline.com.br/pacientes/manual_merck/secao_06/cap_069.html acedido pela última vez a 26 de Abril de 2010
- [12] Jerry Silver e Jared H. Miller; “Regeneration Beyond The Glial Scar”; Revista científica Nature; Volume 5; 2004
- [13] M. Oudega, L.D.F. Moon and R.J. de Almeida Leme; “Schwann cells for spinal cord repair”, Jornal brasileiro de investigação médica e biológica; 2005; [825-835]
- [14] Gourishankar Patnaik; “Spinal cord regeneration”; Indian Journal of Neurotrauma; Volume 7; 2010; [13-18]
- [15] <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/tutorials/spinalcordinjury/nr259103.pdf> acedido pela última vez a 13 de Junho de 2010
- [16] Wolfram Tetzlaff, Elena B. Okon, Soheila Karimi-Abdolrezaee, Caitlin E. Hill, Joseph S. Sparling, Jason R. Plemel, Ward T. Plunet, Eve C. Tsai, Darryl Baptiste, Laura J. Smithson, Michael D. Kawaja, Michael G. Fehlings, e Brian K. Kwon; “A Systematic Review of Cellular Transplantation Therapies for Spinal Cord Injury”; Jornal of Neurotrauma; Volume; 27; 2010; [1-72]
- [17] Scott Shapiro, Richard Borgens, Robert Pascuzzi, Karen Roos, Michael Groff, Scott Purvines, Richard Ben Rodgers, Shannon Hagy and Paul Nelson; “Oscillating field stimulation for complete spinal cord injury in humans: a Phase 1 trial” ; Jornal Neurosurg Spine; Volume 2 ; 2005; [3-10]
- [18] Colin D. McCaig, Ann M. Rajnicek, Bing Song and Min Zhao; “Controlling Cell Behavior Electrically: Current Views and Future Potential”; Revista Physiol N°85; 2005; [943-978]
- [19] Annex I - “Description of Work”; “Development of a bioelectrochemical device for CNS repair”; European project NERBIOS; 2006
- [20] Richard B. Borgens e Debra M. Bohnert; “The Responses of Mammalian Spinal Axons to an Applied DC Voltage Gradient”; Revista Científica Experimental Neurology N°145, 1997; [376–389]

- [21] Alan G. MacDiarmid; “Synthetic Metals”: A Novel Role for Organic Polymers; Volume 40; Ed. Angew. Chem. Int; 2001, [2581-2590]
- [22] Terge A. Skotheim e John R. Reynolds; Conducting Polymers Handbook; “Conjugated Polymers – Processing and applications”; 3ª Edição; 2007; Cap. 1
- [23] Rylie A. Green, Nigel H. Lovell, Gordon G. Wallace, Laura A. Poole-Warren; “Conducting polymers for neural interfaces: Challenges in developing an effective long-term implant”; Artigo científico do jornal Biomaterials; 2008; [1-7]
- [24] Gordon Wallace, Geoffrey Spinks; “Conductive Polymers – Bridging the bionic interface”; Jornal científico “The royal society of chemistry”; Volume 207; [665–671]
- [25] Nathalie K. Guimard, Natalia Gomez, Christine E. Schmidt; “Conducting polymers in biomedical engineering”, Elsevier, 2007 [876–921]
- [26] Elisaveth Smela, “Conjugator Polymer Actuators for Biomedical Applications”; Revista Advanced Materials; Volume 15; 2003; [481-494]
- [27] Gordon G. Wallace, Geoffrey M. Spinks, Leon A.P Kane-Maguire, Peter R. Teasdale; Conductive Electroactive Polymers – Intelligent Materials Systems, 2ª Edição, 2003; [1-97]
- [28] Jack L. Koenig; “Spectroscopy of polymers”, 2ª Edição, Ed. Elsevier, 8 [35-58]; [147-149]; [207-218]
- [29] Mel Swartz; “Smart Materials”; 2008; [24.1]
- [30] M.R. Gandhi, P. Murray, G.M. Spinks, G.G. Wallace; “Mechanism of electromechanical actuation in polypyrrole”; Revista Synthetic Metals N°73; 1995; [247-256]
- [31] Joyce Y. Wong, Robert Langer e Donald E. Ingber; “Electrically conducting polymers can noninvasively control the shape and growth of mammalian cells”; Biological Sciences; 1994; [3201-3204]
- [32] Ze Zhang, Mahmoud Rouabhia, Zhaoxu Wang, Christophe Roberge, Guixin Shi, Phillippe Roche, Jiangming Li, and Lê H. Dao; “Electrically Conductive Biodegradable Polymer Composite for Nerve Regeneration: Electricity-Stimulated Neurite Outgrowth and

Axon Regeneration”; Journal compilation; 2007; International Center for Artificial Organs and Transplantation; [13-23]

[33] Chisthine Schmindt, Venkatram Shastri, Joseph Vacanti, e Robert Langer; “Stimulation of neurite outgrowth using an electrically conducting polymer”; Applied Biological Sciences; Vol. 94; 1997; [8948–8953]

[34] Hitoshi Yamato, Masaki Ohwa, Wolfgang Wernet; “Stability of polypyrrole and poly(3,4_ethylenedioxythiophene) for biosensor application”; Journal of Electroanalytical Chemistry N°397; 1995 [163-170]

[35] Jie Wang, Youlong Xu, Xi Chen, Xianfeng Du; “Electrochemical supercapacitor electrode material based on poly(3,4ethylenedioxythiophene)/polypyrrole composite; Journal of Power Sources, N° 163; 2007; [1120–1125]

[36] Dong-Hwan Kim, Mohammad Abidian, David C. Martin; “Conducting polymers grown in hydrogel scaffolds coated on neural prosthetic devices”; Published online 27 October 2004 in Wiley InterScience

[37] Ratner, Hoffman, Schoen, Lemons; “Biomaterials Science – An introduction to materials in medicine”; 2ª Edição; 2004; [100-107]

[38] B.C. Kim, G.M. Spinks, G.G. Wallace, R. John; “Electroformation of conducting polymers in a hydrogel support matrix” ; Revista científica Polymer; Volume 41; Editora: Elsevier; 2000; [1783–1790]

[39] Chi-Chang Hu and Xi-Xun Lin; “Ideally Capacitive Behavior and X-Ray Photoelectron Spectroscopy Characterization of Polypyrrole - Effects of Polymerization Temperatures and Thickness/Coverage ”; Journal of The Electrochemical Society”; Volume 8; Número 149; 2002

[40] R.K. Sharma, A.C. Rastogi, S.B. Desu; “Pulse polymerized polypyrrole electrodes for high energy density electrochemical supercapacitor”; Revista científica Electrochemistry Communications; Volume 10; Editora: Elsevier; 2008; [268–272]

[41] Feng Yan, Gi Xue, Mingshi Zhou; “Preparation of Electrically Conducting Polypyrrole in Oil/Water Microemulsion”; Journal of Applied Polymer Science; Volume 77; 2000; [135–140]

[42] Yang Liu, Ying Chu, Likun Yang; “Adjusting the inner-structure of polypyrrole nanoparticles through microemulsion polymerization”; Revista científica “Materials Chemistry and Physics”; Volume 98; Editora: Elsevier; 2006; [304-308]