

**15º Congresso Brasileiro de Polímeros**  
**27 a 31 de outubro de 2019**

## **ADESIVO À BASE DE POLIURETANO: UMA ESTRATÉGIA PARA REPARAÇÃO PÓS-CIRÚRGICA DO DISCO INTERVERTEBRAL**

**Lucas Dall Agnol<sup>1,2\*</sup>, Fernanda T.G. Dias<sup>2</sup>, Natália F. Nicoletti<sup>3</sup>, Daniel Marinowic<sup>4</sup>, Sidnei M. Silva<sup>1</sup>, Angel Marcos-Fernández<sup>5</sup>, Asdrubal Falavigna<sup>1,3</sup>, Otávio Bianchi<sup>1,2,6</sup>**

*1 - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul, RS*  
[ldagnol3@ucs.br](mailto:ldagnol3@ucs.br)

*2 - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais (PGMAT), Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul, RS*

*3 - Laboratório de Terapia Celular (LATEC), Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul, RS*

*4 - Instituto do Cérebro do Rio Grande do Sul (BraIns), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS*

*5 - Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros (CSIC), Madrid, Espanha*

*6 - Departamento de Engenharia de Materiais (DEMAT), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS*

**Resumo:** A microdissectomia utilizada para o tratamento de distúrbios do disco intervertebral (DIV) deixa uma incisão aberta no anel fibroso (AF), que deve ser selada para evitar a re-herniação e outras degenerações subsequentes. Neste estudo, é proposto o desenvolvimento de um adesivo de poliuretano (PU), injetável e polimerizável *in situ*, como uma estratégia de reparo pós-cirúrgica de longo prazo do disco. Foram investigados (1) a estrutura química do adesivo à base de uretano, (2) o seu comportamento compressivo, (3) o seu tempo de preparo com base na cinética reacional, (4) a sua adesividade em contato com colágeno, (5) a sua molhabilidade e (6) a sua citotoxicidade *in vitro*. O adesivo formulado apresentou um comportamento viscoelástico, ligou-se covalentemente com o colágeno. Apresentou estabilidade de 18 dias sob umidade, exigiu um tempo de pré-preparo de 10 h a 60 °C e impactou positivamente a proliferação celular após 48 h. Estes resultados confirmaram o potencial de aplicação do adesivo polimérico como selante do AF.

**Palavras-chave:** *adesivo de poliuretano, anel fibroso, selante injetável, microdissectomia, simulação cinética, reatividade com colágeno.*

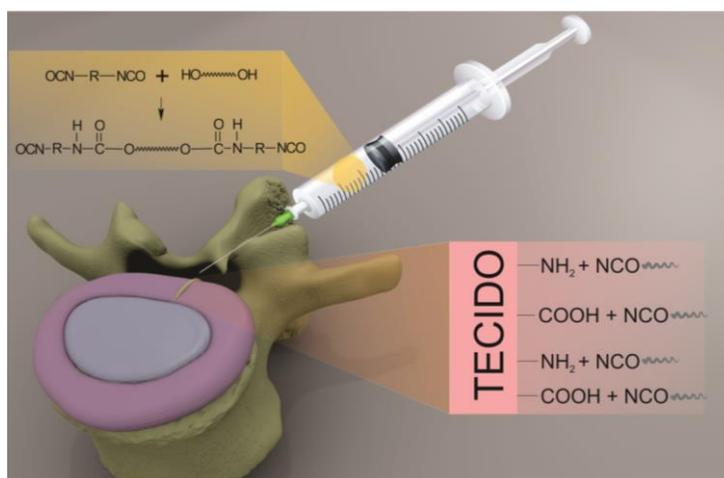
### ***Polyurethane adhesive: A strategy for post-surgical repair of intervertebral disc***

**Abstract:** The microdissectomy used for the treatment of intervertebral disc (IVD) disorders leaves an open incision in the annulus fibrosus (AF), which must be sealed to avoid re-herniation and other subsequent degenerations. In this study, it is proposed the development of an injectable and *in situ*-polymerizable polyurethane (PU) adhesive as a post-surgical long-term disc repair strategy. It was investigated (1) the chemical structure of the urethane-based adhesive, (2) its compressive behavior, (3) its preparation time based on kinetic approach, (4) its adhesiveness to collagen, (5) its wettability, and (6) its *in vitro* cytotoxicity. The adhesive formulated exhibited a viscoelastic behavior, binds covalently with collagen. It presented stability of 18-days under moisture, required a pre-setting time of 10 h at 60 °C, and positively impacted cell proliferation after 48 h. These results confirmed the application potential of the urethane-based adhesive as AF sealant.

**Keywords:** *polyurethane adhesive, annulus fibrosus, injectable sealant, microdissectomy, kinetic simulation, reactivity with collagen.*

## **Introdução**

A dor lombar proveniente do disco intervertebral (DIV) degenerado é uma das causas de incapacidade física em longo prazo para milhões de indivíduos [1]. A incisão feita no anel fibroso (AF) durante o procedimento de microdissectomia permanece aberta em virtude do baixo potencial regenerativo do AF. A presença desta incisão pode resultar em re-herniação, perda de altura e alteração do ambiente biológico do disco, acelerando de forma significativa a degeneração do DIV [2]. Uma solução promissora para o reparo deste defeito no AF é o desenvolvimento de um adesivo polimérico capaz de ser injetado na região degenerada e polimerizável *in situ* quando em contato com os tecidos circundantes (Fig. 1). Ao contrário de um implante rígido, um adesivo injetável é de fácil manuseio e não exige ancoragem ao corpo vertebral. Materiais a base de poliuretano (PU) despertam a atenção e o interesse dos pesquisadores em virtude de sua robustez mecânica, degradação controlada e afinidade celular [3]. Além disso, estes materiais proporcionam aderência ao tecido biológico por meio de ligações covalentes e são passíveis de serem esterilizados [4]. A grande variedade de monômeros e condições de processamento permitem a adaptação das formulações adesivas para uso específico [5]. O adesivo implantado deve ser resistente mecanicamente para suportar as cargas diárias experimentadas pelo DIV e não pode causar alterações na pressão intradiscal [6]. Apesar da biodegradabilidade ser um requisito quase sempre exigido para biomateriais implantáveis, ele não atende à especificidade desta aplicação. Como o microambiente do AF é caracterizado por uma natureza avascular, a escolha de um material polimérico com taxa de degradação controlada se torna tecnicamente mais viável [7]. Ademais, o adesivo permanecerá implantado na coluna por um longo período e, desta forma, a sua estabilidade química deve ser garantida. Portanto, este trabalho tem como objetivo, desenvolver um adesivo de PU e avaliar suas propriedades viscoelásticas, superficiais e citotóxicas, principalmente no que tange ao seu desempenho quanto um selante do AF.



**Figura 1** Representação esquemática do mecanismo de aderência do adesivo uretânico ao tecido biológico

## Experimental

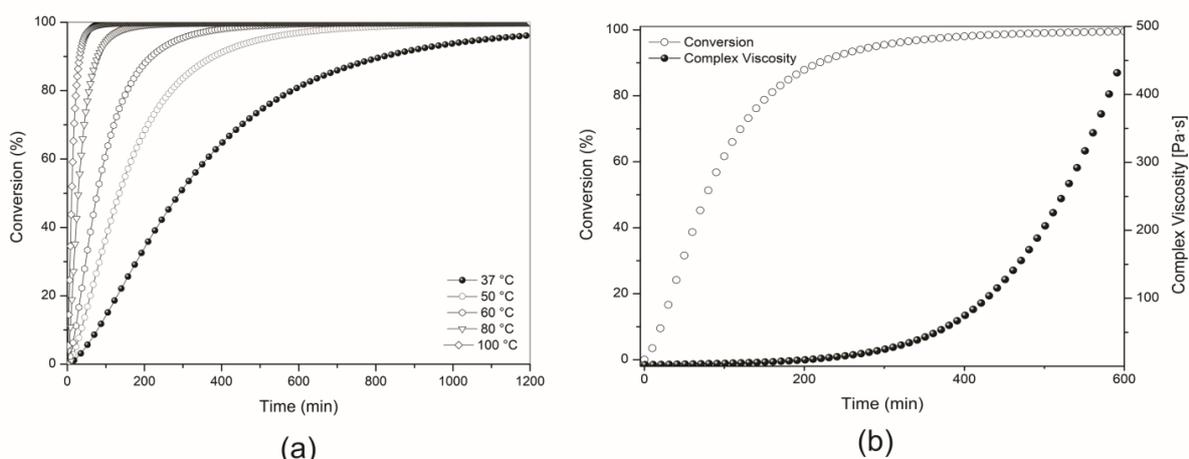
O adesivo a base de poliuretano (PU) foi preparado pelo método *one-shot*, a partir da reação entre os monômeros diisocianato de 1,6-hexametileno (HDI) e policarbonato diol (PCD – 500–2000 g/mol). Razões NCO/OH de 1–5 foram testadas, a fim de assegurar uma quantidade mínima de grupos –NCO livres capazes de reagir com o tecido biológico. A reação de polimerização foi conduzida em diferentes temperaturas (37–100 °C), sem o uso de catalisador ou iniciador. As técnicas de espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR) e cromatografia de permeação em gel (GPC) confirmaram a estrutura do adesivo. O potencial deste material como agente selante do AF foi avaliado por meio de ensaios como: (i) desempenho mecânico, avaliado por meio do comportamento de compressão dinâmica, simulando esforços ligeiramente maiores que o

carregamento fisiológico típico (DMA 242C Netzsch); (ii) efeito da temperatura na velocidade de polimerização por meio da cinética de reação simulado por modelagem matemática das medidas de DSC com diferentes taxas de aquecimento (DSC-50 Shimadzu); (iii) força de aderência entre colágeno e o adesivo, caracterizado por meio da resistência à tração (Emic DL2000 - ASTM F2255-05) usando filmes de gelatina (preparadas por um método de fundição em solução à temperatura ambiente) para simular o colágeno; (iv) energia superficial (método de Owens-Wendt), inchamento (ASTM D570) e estabilidade na presença de umidade (FTIR) e (v) citotoxicidade *in vitro* por meio de teste de MTT com fibroblastos murinos (NIH/3T3) ISO 10993 (2009). A morfologia das células foi verificada por microscopia eletrônica de varredura (FEG-MEV) (Mira 3 Tescan).

## Resultados e Discussão

O adesivo produzido apresentou características promissoras quanto ao comportamento de compressão dinâmica, adesividade ao colágeno, absorção de água e injetabilidade. Após a polimerização, apresentou massa molar de 165022 g/mol, índice de polidispersão de  $\sim 1,59$  e módulo de compressão (DMA) de 3,1 MPa, sendo  $\sim 0,3$  MPa o valor referencial do tecido biológico nativo [8]. O adesivo exibiu resistência à tração superior a 20 MPa quando aderido aos filmes de gelatina (em representação ao colágeno constituinte do tecido biológico). A elevada resistência à tração pode ser justificada pela reação dos grupos  $-NCO$  com os grupos amina e ácido carboxílico do colágeno [9]. A formulação adesiva apresentou estabilidade por 18 dias na presença de umidade e mínima absorção de água (inchamento  $< 1\%$ ), necessitando de um tempo de pré-preparo de 10 horas a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Fig. 2a). Nesta condição, o material exibe uma viscosidade de  $\sim 460$  Pa.s (comportamento semelhante a um líquido) (Fig. 2b), podendo ser injetado com uma seringa sem agulha de 12,34 mm de diâmetro interno. Na temperatura de  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , o material polimeriza lentamente, e a viscosidade de 460 Pa.s só pode ser alcançada após 18 horas de reação. Em relação ao comportamento cinético da reação, observou-se que a energia de ativação se manteve praticamente constante ao longo de toda a reação ( $\sim 49$  kJ/mol), independentemente da massa molar do poliól utilizado [10].

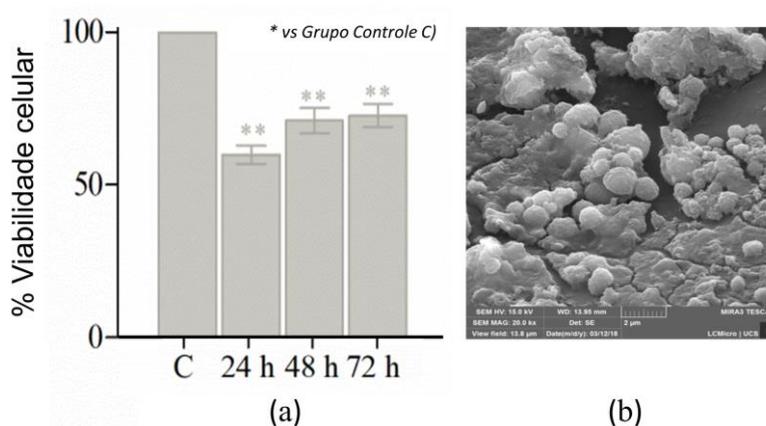
Os parâmetros cinéticos não-isotérmicos foram investigados por meio de regressão não-linear multivariada, utilizando-se os dados de DSC obtidos em diferentes taxas de aquecimento. Uma sobreposição quase perfeita entre os dados experimentais e teóricos foi observada para o modelo proposto por Prout-Tompkins. Este modelo descreve satisfatoriamente a cinética de polimerização do adesivo e é conhecido na literatura por descrever reações autocatalisadas de primeira ordem [11].



**Figura 2** Cinética de cura do adesivo em diferentes temperaturas (a) e perfil reológico em função da conversão (b)

A afinidade das células por um *scaffold* é profundamente afetada pela natureza da superfície do biomaterial. A presença de grupos químicos polares favorecem a afinidade e a adesão de

fibroblastos [9]. A energia superficial do adesivo foi de 61,8 mN/m, valor muito semelhante aos das tensões superficiais do sangue (63,8 mN/m) [12] e do colágeno (46,2mN/m). Isto nos permite inferir que o adesivo apresentará uma dispersibilidade aceitável quando em contato com o tecido biológico. Quando incorporado ao meio de cultura celular, o adesivo contendo grupos –NCO reativos exibiu moderada citotoxicidade nas primeiras 24 horas (Fig. 3a). Curiosamente, esta resposta citotóxica coincide com o tempo requerido pelo pré-polímero para polimerizar, conforme mostrado pelos resultados cinéticos. Durante a polimerização, o pH do ambiente biológico diminui em função da formação de ácido carbâmico, o que afeta negativamente a viabilidade celular [13]. O gás (CO<sub>2</sub>) gerado durante a reação *in situ* também pode prejudicar a sobrevivência das células. Entretanto, após 48 horas de contato direto com o adesivo, os fibroblastos proliferaram e liberaram matriz extracelular (Fig. 3b). Vale ressaltar que, quando o adesivo é exposto ao meio biológico, os grupos de –NCO reagem com a água presente nos tecidos/fluidos corpóreos, no entanto, espera-se que a polimerização *in situ* do adesivo ocorra muito mais rápida, uma vez que, a reatividade do isocianato em contato com aminas (–NH<sub>2</sub>) presentes no colágeno é 1000 vezes mais rápida que sua reatividade quando em contato com água ou hidroxilas primárias [14]. Além disso, a reação entre os grupos –NCO e amino é termodinamicamente favorável à temperatura ambiente e não precisa ser catalisada.



**Figura 3** Resultados de citotoxicidade em células NIH/3T3 (a) e morfologia celular após 48 h (b)

## Conclusões

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um adesivo à base de PU como estratégia de reparo de defeitos do AF remanescentes do procedimento de microdissectomia. A potencialidade deste adesivo quanto selante do AF foi atestada por ensaios físico-químicos, mecânicos, cinéticos, reológicos e biológicos. O adesivo apresentou propriedades interessantes em relação ao comportamento dinâmico-mecânico, à adesividade ao colágeno e à injetabilidade. A ausência de efeitos citotóxicos após a total polimerização o torna um excelente candidato ao reparo do AF. Outros requisitos essenciais a este adesivo, como o seu comportamento biomecânico em um modelo *ex vivo* e a sua esterilizabilidade, estão sendo investigados.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Agência Brasileira de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES (cód. 001), a Financiadora de Inovação e Pesquisa – FINEP (01.13.0359.00) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (308241 / 2015-0).

## Referências

1. D. Sakai; J. Schol *J. Orthop. Translat.* 2017, 9, 8.

2. P. Grunert; B.H. Borde; S.B. Towne *et al. Acta Biomater.* 2015, 26, 215.
3. S. Balcioglu; H. Parlakpinar; N. Vardi *et al. ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2016, 8, 4456.
4. R.T. Agger *In. J Adhes Adhes* 1984, 4, 151.
5. F. Scognamiglio; A Travan; Rustighi I *et al. J Biomed Mater Res Part B.* 2016, 104, 626.
6. L.D. Agnol; F.T.G. Dias; N.F. Nicoletti *et al. Regen Med.* 2018, 13, 611.
7. Y.C. Huang; J.P. Urban; K.D. Luk *Nat Rev Rheumatol.* 2014, 10, 561.
8. B.A. Best; F. Guilak; L.A. Setton *et al. Spine.* 1994, 19, 212.
9. P. Ferreira; A.F.M. Silva; M.I. Pinto *et al. J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2008, 19, 111.
10. B.F. d'Arlas; L. Rueda; P.D. Stefani *et al. Thermochim Acta.* 2007, 459, 94.
11. M. Erceg; I. Krešić; N.S. Vrandečić *et al. J Therm Anal Calorim.* 2018, 131, 325.
12. A. Kratochvil; E. Hrcir *Physiol Res.* 2001, 50, 433.
13. Y. Li; Y. Huang *J Appl Polym Sci* 2006, 99, 1832.
14. L.H. Chan-Chan, G. González-García, R.F. Vargas-Coronado *et al. Eur. Polym. J.* 2017, 92, 27.