

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA CAMPUS I - CAMPINA GRANDE CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DEPARTAMENTO DE QUÍMICA CURSO DE GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM QUÍMICA

DÉBORA DE SOUSA LOPES

SÍNTESE DE HIDROGEL DE BARREIRA ANTIADERENTE PÓS-LAMINECTOMIA À BASE DE POLISSACARÍDEOS E RETICULANTE AZUL

CAMPINA GRANDE- PB 2024

DÉBORA DE SOUSA LOPES

SÍNTESE DE HIDROGEL DE BARREIRA ANTIADERENTE PÓS-LAMINECTOMIA À BASE DE POLISSACARÍDEOS E RETICULANTE AZUL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Química da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciado em Química.

Área de concentração: Química dos materiais.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Roberta de Oliveira Pinto.

CAMPINA GRANDE- PB 2024 É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto em versão impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que, na reprodução, figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

L864s Lopes, Debora de Sousa.
Síntese de hidrogel de barreira antiaderente póslaminectomia à base de polissacarídeos e reticulante azul [manuscrito] / Debora de Sousa Lopes. - 2024. 73 f. : il. color.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2024.
"Orientação : Prof. Dra. Maria Roberta de Oliveira Pinto, Departamento de Química - CCT".
1. Fibrose epidural. 2. Laminectomia - complicações. 3. Hidrogel. 1. Título
21. ed. CDD 660.284

Elaborada por Lêda Cristina Diniz Andrade - CRB - 15/1032

BC

DEBORA DE SOUSA LOPES

SÍNTESE DE HIDROGEL DE BARREIRA ANTIADERENTE PÓS-LAMINECTOMIA À BASE DE POLISSACARÍDEOS E RETICULANTE AZUL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Química da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciada em Química

Aprovada em: 13/11/2024.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado eletronicamente por:

- Maria Roberta de Oliveira Pinto (***.733.154-**), em 22/11/2024 13:18:40 com chave 6fa753cca8ed11ef99fb2618257239a1.
- Deoclecio Ferreira de Brito (***.403.587-**), em 22/11/2024 16:47:44 com chave a4a9cf6aa90a11efb89906adb0a3afce.
- Milena Costa da Silva Barbosa (***.895.774-**), em 22/11/2024 13:42:32 com chave c4f87fcea8f011ef865a06adb0a3afce.

Documento emitido pelo SUAP. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QrCode ao lado ou acesse https://suap.uepb.edu.br/comum/ autenticar documento/ e informe os dados a seguir. Tipo de Documento: Folha de Aprovação do Projeto Final Data da Emissão: 31/03/2025 Código de Autenticação: 6fb454



AGRADECIMENTOS

Manifesto minha profunda gratidão a Deus por todas as oportunidades que permitiram a conclusão deste TCC. Ao meu pai, Edilson da Silva Lopes, registro um agradecimento especial por seu constante incentivo aos meus estudos e por ser meu alicerce em todos os momentos. Às minhas irmãs, Bruna e Nathália, dedico este trabalho, com a esperança de que meus esforços encham vocês de orgulho.

Ao meu noivo, Thyago, minha eterna gratidão por estar sempre ao meu lado, torcendo por mim, oferecendo apoio e conselhos tanto acadêmicos quanto de vida. Agradeço também pela paciência e por sempre me fazer sorrir, mesmo nos momentos mais tensos da faculdade.

Aos meus colaboradores, Milena Costa, Henrique Nunes e Roberta, sou profundamente grata pela orientação, dedicação e cuidado com minha formação, assim como pelo apoio e estímulo à pesquisa. Estendo meu agradecimento a todo o corpo docente do curso de Licenciatura em Química da Universidade Estadual da Paraíba, que ampliou meu conhecimento por meio de debates e ensinamentos.

Ao Laboratório CertBIO, especialmente ao Prof. Marcos Vinícius e à Prof. Suedina, expresso minha gratidão pelo apoio e pela oportunidade de participar de pesquisas de ponta, experiência que certamente contribuiu para meu crescimento profissional e para a expansão da minha criatividade.

RESUMO

A fibrose epidural é uma complicação frequente após laminectomias, marcada pela formação de tecido fibroso aderido às raízes nervosas, resultando em dor persistente. Diversas abordagens foram desenvolvidas para mitigar essa fibrose, mas os resultados permanecem variáveis e insatisfatórios. Este estudo propõe uma solução inovadora para prevenir aderências pós-operatórias em cirurgias de laminectomia, utilizando hidrogéis à base de polissacarídeos, como O-carboximetilquitosana (O-CMCS) e hialuronato de sódio oxidado (HA-O), combinados com um reticulante azul (RA). Foram realizados ensaios comparativos entre o hidrogel O-CMCS/HA-O/RA, o O-CMCS/HA-O e o hidrogel formado a partir do pó comercial de antiadesão Starsil. A caracterização desses materiais abrangeu ensaios de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), injetabilidade, análise reológica, grau de intumescimento, biodegradabilidade, citotoxicidade in vitro, atividade antimicrobiana e resistência à ruptura. A partir dos resultados temos que o FTIR confirmou a formação da base de Schiff e a interação eletrostática entre o reticulante azul e os hidrogéis. A análise reológica indicou que os hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA exibiram comportamento típico de sólidos viscoelásticos. Além disso, os hidrogéis contendo reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA) apresentaram maior viscosidade dinâmica em resposta à variação da taxa de deformação. Os resultados indicaram que a adição do reticulante correlacionou-se a um menor grau de intumescimento e a um maior tempo de biodegradação em comparação com o hidrogel sem reticulante. Os hidrogéis com reticulante azul possuem boa injetabilidade. Nenhum dos hidrogéis apresentou toxicidade, conforme evidenciado no ensaio de citotoxicidade in vitro. Além disso, os hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA exibiram atividade antimicrobiana moderada e resistência à ruptura superior a amostra comercial. Nos ensaios comparativos, o hidrogel O-CMCS/HA-O/RA apresentou maior pressão de ruptura em relação ao O-CMCS/HA-O e ao Starsil. Esses resultados indicam seu potencial como barreira pós-operatória eficaz, capaz de prevenir aderências e melhorar os resultados clínicos em casos de fibrose epidural.

Palavras-Chave: fibrose epidural; biomaterial; hidrogel; antiadesão.

ABSTRACT

Epidural fibrosis is a common complication following laminectomies, characterized by the formation of fibrous tissue that adheres to nerve roots, resulting in persistent pain. Various approaches have been developed to mitigate this fibrosis, but the results remain inconsistent and often unsatisfactory. This study proposes an innovative solution to prevent postoperative adhesions in laminectomy surgeries using polysaccharide-based hydrogels, such as O-carboxymethyl chitosan (O-CMCS) and oxidized sodium hyaluronate (HA-O), combined with a blue crosslinker (RA). Comparative assays were performed between the O-CMCS/HA-O/RA hydrogel, O-CMCS/HA-O, and a commercial anti-adhesion powder hydrogel, Starsil. The characterization of these materials included Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), injectability, rheological analysis, swelling degree, biodegradability, in vitro cytotoxicity, antimicrobial activity, and rupture resistance. FTIR results confirmed the formation of Schiff bases and the electrostatic interaction between the blue crosslinker and the hydrogels. Rheological analysis showed that both O-CMCS/HA-O and O-CMCS/HA-O/RA hydrogels exhibited viscoelastic solid behavior. Additionally, hydrogels containing the blue crosslinker (O-CMCS/HA-O/RA) demonstrated higher dynamic viscosity with changes in strain rate. The results indicated that adding the crosslinker was associated with lower swelling degree and increased biodegradation time compared to the hydrogel without the crosslinker. The hydrogels with the blue crosslinker also showed good injectability. None of the hydrogels exhibited toxicity, as evidenced by the in vitro cytotoxicity assay. Furthermore, both O-CMCS/HA-O and O-CMCS/HA-O/RA hydrogels displayed moderate antimicrobial activity and higher rupture resistance compared to the commercial sample. In comparative tests, the O-CMCS/HA-O/RA hydrogel showed higher rupture pressure than both O-CMCS/HA-O and Starsil. These findings suggest its potential as an effective postoperative barrier, capable of preventing adhesions and improving clinical outcomes in cases of epidural fibrosis.

Keywords: epidural fibrosis; biomaterial; hydrogel; anti-adhesion.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Imagem representativa da coluna vertebral
Figura 2- Representação de uma coluna vertebral antes e depois após a
laminectomia18
Figura 3- Estrutura do hialuronato de sódio
Figura 4- Síntese do hidrogel O-CMCS/HA-O29
Figura 5- Reação do hialuronato de sódio hidrolisado com periodato de sódio,
gerando o hialuronato de sódio oxidado (HA-O)
Figura 6- Pó de HA-O após (a) liofilização em placas de Petri e pulverizado (b)35
Figura 7- Reticulante Azul derivado do ácido glutâmico e genipina
Figura 8- Reação entre a genipina (G) e o ácido glutâmico (Glu) para obtenção do
reticulante azul (RA)
Figura 9- Espectros do FTIR dos pós de hialuronato de sódio (HA) e do hialuronato
de sódio oxidado (HA-O)
Figura 10- Espectros do FTIR do reticulante azul a base de genipina (G) e ácido
glutâmico (Glu)
Figura 11- Espectros do FTIR dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA.40
Figura 12- Hidrogéis com diferentes proporções de reticulante azul: (a) O-CMCS/HA-
O/RA1,5; (b) O-CMCS/HA-O/RA1,0; (c) O-CMCS/HA-O/RA0,5. Sem reticulante azul:
(d) O-CMCS/HA-O
Figura 13- Reação de reticulação dos hidrogéis O-CMCS/HA-O com reticulante azul
(RA)
Figura 14- Curva de viscosidade (Pa.s) versus Taxa de deformação dos hidrogéis
com e sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA)43
Figura 15- Curva de G' e G" (Pa) versus Frequência angular (Hz) dos hidrogéis com
e sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA)45
Figura 16- Imagens de MO dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA antes
e após a autorreparação47
Figura 17- Gráfico do grau de intumescimento do hidrogel reticulado com reticulante
azul (O-CMCS/A-O/RA) e não reticulado (O-CMCS/A-O) em solução de soro
fisiológico, PBS e PBS/lisozima48

Figura 18- Gráfico de biodegradação do hidrogel reticulado com reticulante azul (O-
CMCS/A-O/RA) e não reticulado (O-CMCS/A-O) em solução de soro fisiológico, PBS
e PBS/lisozima50
Figura 19- Gráfico de injetabilidade dos hidrogéis com reticulante azul (O-CMCS/HA-
O/RA)
Figura 20- Imagens de Microscopia Ótica (a) controle positivo e (b) controle negativo.
Figura 21- Ausência de descoramento ao redor e sob as amostras do (a) hidrogel sem
reticulante azul (O-CMCS/HA-O) e (b) hidrogel com reticulante azul (O-CMCS/HA-
O/RA)
Figura 22- Pressão suportado pelo hidrogel não reticulado (O-CMCS/HA-O), hidrogel
com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA) e do hidrogel derivado do pó comercial
Starsil
Figura 23- Esquema representativo do teste de pressão de ruptura

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição dos hidrogéis sem e com reticulante azul. 29
Tabela 2- Critérios da ISO-10993-5, para a pontuação de reatividade do ensaio de
difusão em ágar34
Fabela 3- Dados de pH e tempo de gelificação dos hidrogéis sem e com reticulante
azul43
Tabela 4- Medidas das zonas de inibição (mm) dos hidrogéis O-CMCS/HA-O sen
reticulante azul (O-CMCS/HA-O) e com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA)52
Fabela 5- Resultados do teste de difusão em ágar53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APO	Aderências pós-operatórias
BCRC 10451	Cepas Gram-positivas
BCRC 11634	Cepas Gram-negativas
Certbio	Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais
DO	Densidade óptica
DP	Desvio padrão
FBS	Soro Fetal Bovino
FBSS	Síndrome da coluna falhada
FTIR	Infravermelho por Transformada de Fourier
GlcN	β-(1→4)-2-amino-2-deoxi-D-glucosamina
Glu	Ácido glutâmico
HA	Hialuronato de Sódio
HA-O	Hialuronato de Sódio oxidado
Hz	Hertz
LB	Luria-Bertani
MO	Microscópio óptico
N-CMCS	N-carboximetilquitosana
N,O-CMCS	N,O-carboximetilquitosana
O-CMCS	O-carboximetilquitosana
Ра	Pascal
PBS	Tampão fosfato salino
рН	Potencial hidrogeniônico
PEG	Polietileno glicol
RA	Reticulante Azul
SCI	Lesões da medula espinal
SUS	Sistema Único de Saúde

LISTA DE SÍMBOLOS

- % Porcentagem
- Marca Registrada
- ω Frequência angular
- δ Ângulo de fase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO13
2.1	Anatomia da coluna15
2.2	Tratamentos, Riscos e Sequelas16
2.3	Adesão Pós-Operatória (APO)18
2.4	Materiais Poliméricos para Prevenção de Adesão Pós-Operatória19
2.5	Carboximetilquitosana (CMCS)20
2.6	Hialuronato de sódio (HA)21
2.7	Genipina24
2.8	Base de Schiff25
3	MATERIAS E METODOLOGIA27
3.1	Materiais27
3.2	Síntese do hialuronato de sódio Oxidado (HA-O)27
3.3	Síntese do Reticulante Azul (RA)28
3.4	Síntese do hidrogel de O-CMCS/HA-O com e sem Reticulante Azul28
3.5	Caracterização29
3.5.1	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)29
3.5.2	Teste de Tempo de Gelificação30
3.5.3	Teste de Autorreparação30
3.5.4	Análise Reológica30
3.5.5	Grau de Intumescimento in Vitro31
3.5.6	Biodegradação in Vitro31
3.5.7	Atividade Antibacteriana32
3.5.8	Injetabilidade32
3.5.9	Citotoxicidade in Vitro33
3.5.10	Teste de Pressão de Ruptura34
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO35

4.1.1	FTIR do hialuronato de sódio oxidado (HA-O)37
4.1.2	FTIR do Reticulante Azul RA38
4.1.3	FTIR dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA
4.2	Tempo de Gelificação dos Hidrogéis de O-CMCS/HA-O42
4.3	Propriedades Viscoelásticas e de Fluxo dos Hidrogéis de O-CMCS/HA-C
4.4	Autoreparação dos Hidrogéis de O-CMCS/HA-O46
4.5	Grau de Intumescimento <i>in vitro</i> 47
4.6	Biodegradação in vitro49
4.7	Injetabilidade50
4.8	Ensaio antimicrobiano <i>in vitro</i> 51
4.9	Ensaio Citotoxicidade <i>in vitro</i> 53
4.10	Teste de Pressão de Ruptura58
5	CONCLUSÃO
	REFERÊNCIAS

1 INTRODUÇÃO

A laminectomia é uma cirurgia que envolve a remoção de uma parte da lâmina vertebral, localizada na região posterior da vértebra. Este procedimento é frequentemente indicado para aliviar a compressão da medula espinhal ou das raízes nervosas, que pode resultar de condições como hérnias de disco, estenose espinhal ou tumores. A laminectomia pode ser realizada de forma total, com a remoção completa da lâmina, ou parcial, com a remoção apenas de uma parte dela (Schoeggl; Reddy & Matula, 2002).

Após a laminectomia, a fibrose epidural é uma complicação comum que pode levar à síndrome da coluna falhada, caracterizada por dor persistente e disfunção neurológica (Cemil *et al.*, 2009). A fibrose pode restringir a mobilidade das raízes nervosas e complicar a recuperação, aumentando o risco de necessidade de nova intervenção cirúrgica (Wang *et al.*, 2018). Portanto, a gestão eficaz das aderências pós-cirúrgicas é essencial para diminuir a morbidade e os custos relacionados a reoperações e hospitalizações (Jia *et al.*, 2023).

Diversas abordagens têm sido exploradas para mitigar essas complicações, incluindo técnicas cirúrgicas avançadas, tratamentos farmacológicos e barreiras físicas antiadesão (Ouaïssi *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2019; Melnychenko e Kvashnina, 2020; Soltany, 2021). Entre essas estratégias, os hidrogéis se destacam como uma opção promissora devido à sua capacidade de formar barreiras viscoelásticas e biocompatíveis (Klopp *et al.*, 2008; Klopp *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2017a; Stapleton *et al.*, 2019; Aksakal *et al.*, 2021; Jia *et al.*, 2023; Pan *et al.*, 2024).

A carboximetilquitosana (CMCS) é um derivado da quitosana que possui uma estrutura molecular semelhante ao hialuronato de sódio e aos glicosaminoglicanos, além de oferecer excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade, atividade antimicrobiana e capacidade de retenção de umidade. A CMCS tem sido estudada em áreas como engenharia de tecidos, cicatrização de feridas e liberação de fármacos (Gonçalves *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2022; Sharifi *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2013).

O hialuronato de sódio (HA) é um biopolímero natural amplamente utilizado para tratar regiões vasculares, cartilaginosas, ósseas e de pele, devido às suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e analgésicas. Suas aplicações dependem da viscosidade e da viscoelasticidade do HA (Dovedytis *et al.*, 2020; Gupta

et al., 2019a). Para prolongar a duração *in vivo* do HA, frequentemente são realizadas reticulações ou outras modificações da molécula (Volpi *et al.*, 2009). Hidrogéis convencionais podem ser danificados por forças mecânicas, comprometendo sua integridade. Hidrogéis auto-reparáveis, que podem prolongar a vida útil e aumentar a durabilidade dos géis, apresentam-se como uma alternativa promissora (Liu *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2022).

Apesar dos avanços alcançados, são escassos ou inexistentes na literatura os estudos sobre hidrogéis de carboximetilquitosana (CMCS), hialuronato de sódio (HA) e reticulantes à base de genipina e ácido glutâmico. Pesquisas anteriores examinaram uma variedade de hidrogéis antiaderentes para tratamento pós-laminectomia, incluindo ácido hialurônico oxidado/adipato de hidrazida, ácido hialurônico reticulado com 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE), PLGA-PEG, seda-PEG, quitosana-g-glicidil metacrilato-xantana e hidroxietilmetacrilato (HEMA) (Wang et al., 2015; Hu et al., 2017; Keskin et al., 2021; Wu et al., 2016; Elizalde-Peña et al., 2017; Bhatia et al., 1995). Embora essas soluções sejam promissoras, o uso de reticulantes à base de genipina e ácido glutâmico na prevenção de aderências póscirúrgicas ainda é pouco explorado. Essa lacuna merece atenção, especialmente considerando o potencial desses materiais em aliar biocompatibilidade com eficácia na prevenção da fibrose epidural.

Neste trabalho, o hialuronato de sódio (HA) foi oxidado com periodato de sódio para formar hialuronato de sódio oxidado (HA-O), que foi associado à CMCS por meio de reações de base de Schiff entre os grupos amina da CMCS e os grupos aldeído do HA-O (Li *et al.*, 2017b; Zheng *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2024). Além disso, foi explorado o uso de um reticulador azul, à base de genipina e ácido glutâmico, para melhorar as propriedades reológicas e mecânicas dos hidrogéis.

A proposta deste estudo foi o desenvolvimento de um novo biomaterial em forma de hidrogel, baseado em O-carboximetilquitosana e hialuronato de sódio oxidado, reticulado com genipina e ácido glutâmico. O objetivo foi desenvolver um material de baixo custo, biodegradável e biocompatível, capaz de formar uma barreira rápida e eficaz contra aderências pós-cirúrgicas, oferecendo uma solução prática e acessível para procedimentos na área da coluna vertebral. Essa abordagem visa melhorar a eficácia das barreiras antiaderentes, reduzir a necessidade de reoperação e tornar o tratamento mais acessível (Carvalho e Bianchi, 2016; Zhong *et al.*, 2021).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Anatomia da coluna

A coluna vertebral é uma estrutura essencial do corpo humano, composta por várias vértebras que se sobrepõem e são conectadas por ligamentos, discos intervertebrais e articulações facetárias. Ela oferece suporte ao tronco, protege a medula espinal e permite grande mobilidade e flexibilidade. A coluna tem uma forma ligeiramente curva e é dividida em quatro seções principais: cervical, torácica, lombar e sacral (Muto *et al.*, 2017; Cramer & Darby,1995).

A seção cervical é a parte superior da coluna e contém sete vértebras, permitindo que a cabeça se mova para cima, para baixo e de lado a lado. A seção torácica é composta por doze vértebras que se articulam com as costelas, formando a cavidade torácica. A seção lombar é a mais forte e robusta, com cinco vértebras que suportam a maioria do peso do corpo. A coluna pélvica inclui a seção sacral e o cóccix. A seção sacral é formada pelo sacro, que é uma fusão de cinco vértebras, e se conecta com os ossos ilíacos da pelve. O cóccix consiste em quatro a cinco vértebras pequenas fundidas, servindo como ponto de ancoragem para os ligamentos e músculos do assoalho pélvico (Figura 1) (Muto *et al.*, 2017; Johnson *et al.*, 1975; Mahadevan, 2016).

A medula espinal é um cordão alongado de tecido nervoso que corre ao longo da coluna vertebral, dentro do canal vertebral. Ela transmite mensagens entre o cérebro e o resto do corpo, controlando funções motoras, sensoriais e autonômicas (Burns *et al.*, 2012).

A anatomia da coluna e da medula espinal é fundamental para entender as lesões da medula espinal (SCI) e o processo de reparo. Lesões na coluna podem resultar em danos à medula espinal, levando a uma série de complicações, como perda de movimento, sensação e função autonômica (Johnson *et al.*, 1975).



Figura 1- Imagem representativa da coluna vertebral.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

2.2 Tratamentos, Riscos e Sequelas

As doenças e lesões relacionadas à coluna vertebral requerem abordagens terapêuticas diversificadas, incluindo medicamentos, fisioterapia, intervenções cirúrgicas e terapias de reabilitação. Esses tratamentos visam minimizar a dor, melhorar a funcionalidade e aumentar a qualidade de vida dos pacientes. A escolha da abordagem terapêutica depende da gravidade e da natureza da condição, e a pesquisa contínua é essencial para desenvolver tratamentos mais eficazes e inovadores. (Schoenfeld *et al.*, 2019; Hodges *et al.*, 2019; Watters *et al.*, 2009; Jensen *et al.*, 2001).

Os métodos tradicionais de tratamento, como o uso de medicamentos antiinflamatórios, descompressão cirúrgica, fixação espinal e reabilitação, muitas vezes não são suficientes para promover a regeneração completa do sistema nervoso central (Schoenfeld *et al.*, 2019; Watters *et al.*, 2009). A laminectomia é um procedimento cirúrgico que envolve a remoção de uma parte da lâmina vertebral, a porção posterior da vértebra. Este procedimento é frequentemente realizado para aliviar a compressão da medula espinhal ou das raízes nervosas causada por condições como hérnias de disco, estenose espinhal ou tumores (Deyo *et al.*, 2015). A laminectomia pode ser total, onde toda a lâmina é removida, ou parcial, onde apenas uma parte é retirada. Apesar de sua eficácia, a laminectomia pode resultar em complicações, sendo a fibrose epidural uma das mais comuns. A fibrose epidural pode levar à síndrome da coluna falhada (FBSS), caracterizada por dor persistente e disfunção neurológica. A formação de fibrose (APO) pode restringir a mobilidade das raízes nervosas e causar dor, complicando a recuperação e aumentando o risco de necessidade de reintervenção cirúrgica (Sun *et al.*, 2023).

As aderências pós-laminectomia são uma complicação comum, levando a várias consequências clínicas significativas. Essas aderências, ou cicatrizes, se formam na área da cirurgia e podem afetar a durabilidade dos resultados cirúrgicos, bem como a qualidade de vida dos pacientes. Uma das principais consequências das aderências epidurais é a FBSS. As aderências epidurais resultam da infiltração de fibroblastos no espaço epidural, criando cicatrizes que podem comprimir a medula espinhal e os nervos adjacentes (Wang *et al.*, 2018).

Além disso, as aderências podem causar dor persistente e incapacitação funcional, complicando a recuperação pós-operatória. Estudos indicam que cicatrizes epidurais resultam em compressão das raízes nervosas, provocando dor que pode ser severa e debilitante (Manchikanti *et al.*, 1999). A presença de aderências epidurais também aumenta o risco de complicações durante cirurgias de revisão, tornando mais difícil a dissecação e a manipulação dos tecidos, e aumentando o risco de danos à medula espinhal e às raízes nervosas (Ellis, 2001).

As aderências epidurais estão associadas à inflamação crônica, o que pode levar a uma maior proliferação de fibroblastos e formação de tecido cicatricial. Isso resulta em uma reação em cadeia onde a inflamação perpetua a formação de cicatrizes e vice-versa (Chen *et al.*, 2014).

As aderências pós-laminectomia são uma complicação significativa que pode levar a dor crônica, necessidade de cirurgias de revisão e diminuição da eficácia da descompressão inicial. Métodos para prevenir e tratar essas aderências são cruciais para melhorar os resultados cirúrgicos e a qualidade de vida dos pacientes (Beukel *et al.*, 2017; Ahn *et al.*, 2019; Gerszten *et al.*, 2003; Manchikanti *et al.*, 1999).

Uma inovação promissora no tratamento SCI é o uso de hidrogéis. Após a laminectomia, o hidrogel pode ser colocado diretamente no local da lesão da medula espinhal. Isso significa que, após a remoção das lâminas vertebrais para expor a medula espinhal, o hidrogel é introduzido na área lesada, preenchendo o espaço

resultante da lesão, fornecendo suporte e promovendo a regeneração do tecido nervoso (Li *et al.*, 2023; Lee *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022). A Figura 2 ilustra uma representação da coluna vertebral antes e após a laminectomia.

Figura 2- Representação de uma coluna vertebral antes e depois após a laminectomia.



Fonte: Adaptado de Top Doctors, 2024.

Essas abordagens, aliadas a avanços tecnológicos e a pesquisas contínuas, trazem esperança para aprimorar os resultados dos pacientes com lesões na coluna vertebral. A combinação de tratamentos tradicionais e inovadores é essencial para abordar as complexidades dessas condições e melhorar a qualidade de vida dos pacientes afetados (Li *et al.*, 2023).

2.3 Adesão Pós-Operatória (APO)

As aderências pós-operatórias (APO) são uma forma de hiperplasia tecidual anormal que se desenvolve entre órgãos ou entre órgãos e tecidos adjacentes após traumas cirúrgicos, resultando na fixação de tecidos que normalmente se moveriam livremente entre si. Esse fenômeno é frequentemente associado a lesões graves, isquemia, hipóxia e infecções, que provocam uma resposta inflamatória prolongada e a subsequente formação de aderências através do crescimento de fibroblastos e angiogênese (Ward e Panitch, 2011; Li *et al.*, 2021; Liao *et al.*, 2023; Wang, M. *et al.*, 2023).

A incidência de APO é estimada entre 67% e 93% e as manifestações clínicas podem surgir desde semanas até anos após a cirurgia (Ozmen *et al.*, 2002; Diamond *et al.*, 2012). Diversas estratégias têm sido propostas para prevenir essas aderências,

incluindo tratamentos farmacológicos e o uso de barreiras físicas para cobrir os tecidos lesionados durante o procedimento cirúrgico (Wang *et al.*, 2019).

Certos biomateriais têm demonstrado eficácia como barreiras antiadesivas, sendo essenciais para prevenir APO ao separar tecidos adjacentes, inibir a proliferação de fibroblastos, prevenir a adesão de proteínas e reduzir a inflamação. Esses materiais devem ser biodegradáveis e não provocar reações adversas (Back *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2022). Exemplos de materiais comerciais incluem a solução de ácido hialurônico (Sepracoat®), a celulose regenerada oxidada (Interceed®) e os filmes de hialuronato de sódio-carboximetilcelulose (Seprafilm®) (Cunningham, 1999; Jang *et al.*, 2008; Diamond *et al.*, 2012).

As cirurgias são a principal causa de aderências pós-operatórias (APO), que podem se desenvolver em diversos tecidos moles, como o peritônio e o pericárdio, além de ocorrer em pacientes cirúrgicos com infecções e malignidades (Sasaki *et al.*, 2005; Ward e Panitch, 2011; Kaya *et al.*, 2014; Feng *et al.*, 2019; Leprince *et al.*, 2019; Penzias *et al.*, 2019; Stapleton *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2020; Cai *et al.*, 2022; Carmichael *et al.*, 2022; Sudirman *et al.*, 2022; Tanaka *et al.*, 2022; Zhou, M. *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2023).

Li et al. (2021) ressaltam a importância de que as barreiras de adesão apresentem propriedades de autocura rápida, formem hidrogéis que se adaptem a defeitos teciduais e sejam biocompatíveis, evitando reações adversas e favorecendo a mobilidade dos tecidos. A pesquisa contínua busca materiais e técnicas mais eficazes para a prevenção de APO. Estudos como os de Mengging et al. (2020) e Yeo et al. (2006) mostram a eficácia de membranas de PLGA e hidrogéis de ácido hialurônico. respectivamente, redução aderências pós-operatórias. na de Adicionalmente, Lopes et al. (2010) e Li, Ling et al. (2014) exploraram a utilização de quitosana e ácido hialurônico em hidrogéis, demonstrando potencial antiadesivo significativo.

2.4 Materiais Poliméricos para Prevenção de Adesão Pós-Operatória

Os materiais poliméricos têm se destacado como elementos fundamentais na prevenção de Aderências Pós-Operatórias (APO), desempenhando um papel importante em procedimentos cirúrgicos, especialmente em cirurgias da coluna vertebral. Para prevenir essas complicações, os materiais poliméricos funcionam como barreiras físicas antiaderência, bloqueando a interação direta entre superfícies de tecidos lesionados durante o processo de cicatrização. A eficácia desses materiais está associada a suas propriedades físicas e químicas, como biocompatibilidade, biodegradabilidade e resistência mecânica, além da capacidade de liberar fármacos de forma controlada. A escolha do polímero adequado depende do tipo de cirurgia e das características do tecido envolvido (Kaushal *et al.*, 2011; Li, Jiannan *et al.*, 2017; Kang *et al.*, 2021).

Entre os polímeros naturais usados em forma de hidrogéis, destacam-se o ácido hialurônico, a gelatina, a celulose, o dextrano, a icodextrina, a carboximetilcelulose e a quitosana, que oferecem alta biocompatibilidade e biodegradabilidade, sendo metabolizados pelo organismo sem causar inflamação ou toxicidade (Bhatia, 2016; Balaji *et al.*, 2018, Li *et al.*, 2017a). Além disso, materiais como a quitosana e a gelatina aderem eficazmente aos tecidos, cobrindo áreas lesionadas e reduzindo significativamente a formação de APO (Bhatia, 2016).

Em cirurgias de coluna, onde a prevenção de aderências é particularmente desafiadora, materiais como o ácido hialurônico e o polietileno glicol (PEG) são amplamente utilizados. Esses polímeros formam hidrogéis que funcionam como barreiras antiaderência, eficazes na prevenção de aderências em cirurgias mais invasivas (Liu *et al.*, 2005; Yeo *et al.*, 2007; Kaya *et al.*, 2014; Zheng *et al.*, 2013; Cai *et al.*, 2018). Essa abordagem integrada aprimora os resultados cirúrgicos e favorece uma recuperação mais rápida e segura, destacando o papel essencial desses materiais na medicina moderna (Schnüriger *et al.*, 2011; Shi *et al.*, 2015; Liao *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2024).

2.5 Carboximetilquitosana (CMCS)

A carboximetilquitosana (CMCS) é um derivado da quitosana, um polissacarídeo natural encontrado em várias fontes como exoesqueletos de crustáceos e paredes celulares de fungos, sendo o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza. A quitosana se forma a partir da quitina por meio de uma

reação de desacetilação, que rompe ligações N-acetil, gerando β-(1 \rightarrow 4)-2-amino-2deoxi-D-glucosamina (GlcN) (Fiorese et al., 2020; Wang, M. et al., 2023).

A modificação química da quitosana ocorre através do processo de carboximetilação, que resulta em diferentes tipos de carboximetilquitosana, como O-Carboximetilquitosana (O-CMCS), N-Carboximetilquitosana (N-CMCS) e N,O-Carboximetilquitosana (N,O-CMCS). Essas modificações dependem das reatividades dos grupos –OH e –NH₂ e são influenciadas pelo uso de álcali, como o hidróxido de sódio (NaOH), na reação com ácido monocloracético (Baumann e Faust, 2001; Silva, 2011a).

A CMCS destaca-se por suas propriedades como a biodegradabilidade, solubilidade em água e biocompatibilidade. Além disso, apresenta atividades antioxidantes, antibacterianas e antifúngicas superiores às da quitosana, o que a torna promissora em diversas aplicações biomédicas. Essas incluem cicatrização de feridas (Pang *et al.*, 2020; Huan *et al.*, 2022), liberação de fármacos (Li *et al.*, 2019), engenharia de tecidos (Upadhyaya *et al.*, 2013), bioimagem (Wang *et al.*, 2021), e até mesmo ações antitumorais (Jiang *et al.*, 2020; Raza *et al.*, 2021).

Além disso, a CMCS promove o crescimento de fibroblastos e possui potencial para aplicação em barreiras biomédicas, agentes hemostáticos e na prevenção de adesões pós-cirúrgicas (Kennedy *et al.*, 1996; Diamond *et al.*, 2003; Ward e Panitch, 2011; Zheng *et al.*, 2013; Mogoşanu e Grumezescu, 2014; Cheng *et al.*, 2019a; Carmichael *et al.*, 2022; Guo *et al.*, 2023).

2.6 Hialuronato de sódio (HA)

A fórmula química do hialuronato de sódio, que corresponde ao sal de sódio do ácido hialurônico, é (C₁₄H₂₀NaO₁₁)_n. Sua estrutura é composta por unidades repetidas de dissacarídeos, que consistem em ácido glucurônico e N-acetilglicosamina, sendo que o próton ácido do ácido hialurônico é substituído por um íon de sódio. Devido à presença de múltiplos grupos hidroxila (-OH) e carboxilato (-COO⁻) em sua estrutura, o hialuronato de sódio apresenta alta afinidade pela água, formando ligações de hidrogênio com as moléculas de água. Essa característica confere à substância a capacidade de absorver grandes quantidades de água, tornando-a um agente

hidratante amplamente utilizado em cosméticos e tratamentos médicos para lubrificação (Wang *et al.*, 2017; Pelletier *et al.*, 2000).

Em condições biológicas, a estrutura do hialuronato de sódio pode assumir uma conformação anfifílica, exibindo tanto domínios hidrofóbicos quanto hidrofílicos. Derivados anfifílicos de hialuronato podem formar redes tridimensionais em solução aquosa devido a interações hidrofóbicas, resultando em uma estrutura gelificada com propriedades específicas que podem ser utilizadas no reparo de cartilagem (Pelletier *et al.*, 2001). Além disso, a estrutura do hialuronato pode organizar-se em conformações helicoidais, incluindo a forma de hélice dupla, dependendo de variáveis como temperatura e umidade, conforme revelado por estudos de difração de raios X (Atkins & Sheehan, 1973). Na Figura 3 temos a representação da estrutura do hialuronato em forma de hélice dupla.

Figura 3- Estrutura do hialuronato de sódio.



Fonte: Kearns et al., (2022).

А estrutura do hialuronato de sódio solução em comporta-se predominantemente como uma cadeia aleatória em meio aquoso, influenciada por interações intermoleculares e intramoleculares, bem como pela presença de íons. Essas cadeias demonstram um grau de flexibilidade, com segmentos rígidos inseridos nas cadeias flexíveis, o que contribui para suas propriedades viscoelásticas (Darke et al., 1975). Além disso, a presença de íons pode modificar a conformação das moléculas, resultando na contração das cadeias em altas concentrações de sal devido à formação de estruturas temporárias (Kutálková et al., 2020).

O hialuronato de sódio é amplamente utilizado em diversas áreas médicas devido às suas propriedades biocompatíveis e eficazes. Ele é empregado em injeções intra-articulares para tratamento da osteoartrite, proporcionando alívio da dor e melhorando a função articular. Na oftalmologia, é utilizado como substituto do humor

vítreo em cirurgias oculares e no tratamento do olho seco, promovendo cicatrização e alívio dos sintomas. Adicionalmente, facilita a remoção de lentes subluxadas durante procedimentos cirúrgicos e é utilizado como material de scaffolding em engenharia de tecidos, promovendo a regeneração da cartilagem sem efeitos colaterais indesejados (Cohen *et al.*, 2008; Gomes *et al.*, 2004).

A degradação do hialuronato de sódio ocorre de forma gradual e pode ser mediada tanto por reações enzimáticas quanto não enzimáticas. Reações enzimáticas, como as catalisadas por hialuronidases, resultam na clivagem do hialuronato em fragmentos menores, afetando suas propriedades viscoelásticas. Reações não enzimáticas, como a oxidação, também contribuem significativamente para a degradação do hialuronato, especialmente em condições inflamatórias, onde radicais livres gerados pela oxidação podem induzir a quebra da molécula (Zheng *et al.*, 2012).

O hialuronato de sódio, um derivado do ácido hialurônico – um glicossaminoglicano encontrado naturalmente no corpo humano –, é a forma de sal deste composto. Enquanto o ácido hialurônico está presente diretamente na matriz extracelular de tecidos como o fluido sinovial e o humor vítreo, o hialuronato de sódio, devido à sua maior estabilidade e solubilidade, é amplamente utilizado em aplicações médicas e cosméticas. Esse derivado é particularmente útil em produtos farmacêuticos e cosméticos por suas propriedades de hidratação e cicatrização de feridas (Kulicke *et al.*, 2008; Volpi *et al.*, 2009).

O uso do hialuronato de sódio como barreira antiaderente em procedimentos cirúrgicos tem sido extensivamente estudado. Pesquisas demonstraram que a solução de hialuronato de sódio e carboximetilcelulose é eficaz na redução da formação de aderências pós-operatórias, comparada a filmes de barreira convencionais, apresentando melhores resultados em procedimentos abdominais múltiplos (Park *et al.*, 2011). Outro estudo mostrou que o gel de hialuronato de sódio reticulado é eficaz na prevenção de aderências em cirurgias ginecológicas, com uma quantidade mínima de aderências observadas em análises laparoscópicas subsequentes (Mettler *et al.*, 2013). Esses resultados sugerem que o hialuronato de sódio é uma ferramenta promissora para a prevenção de complicações pós-cirúrgicas relacionadas a aderências. A presença de um agente reticulante, como a genipina, foi adicionado ao sistema em estudo, com o objetivo de aprimorar as propriedades do hialuronato de sódio, potencializando ainda mais sua eficácia na prevenção de aderências.

2.7 Genipina

A genipina é um agente reticulante natural multifuncional derivado do fruto da planta *Gardenia jasminoides*. Reconhecida por sua baixa citotoxicidade, ela encontra diversas aplicações nos campos biomédico e de engenharia de tecidos. Sua habilidade em formar ligações cruzadas estáveis com proteínas e polissacarídeos contribui para o aumento da resistência mecânica e da estabilidade de biomateriais, tornando-a um componente adequado para a engenharia de tecidos e sistemas de liberação de fármacos. A interação da genipina com diferentes biomateriais, como quitosana, colágeno e gelatina, aprimora suas propriedades físicas e os torna apropriados para aplicações em regeneração tecidual (Muzzarelli, 2009; Wang, S. S. S. et al., 2013; Fessel et al., 2014; Muzzarelli et al., 2015).

O uso da genipina como reticulante natural tem sido extensivamente investigado, destacando-se por sua resistência à degradação enzimática, características que a posicionam como uma alternativa promissora aos reticulantes sintéticos tradicionais. Biomateriais reticulados com genipina têm demonstrado eficácia na administração de medicamentos, com aplicações que abrangem desde terapias oculares até a entrega de agentes anti-inflamatórios, graças à sua biocompatibilidade e estabilidade estrutural (Hwang *et al.*, 2011; Wang, M. *et al.*, 2013; Montemurro *et al.*, 2017).

Derivados de quitosana reticulados com genipina têm sido explorados em diversas áreas da saúde, incluindo regeneração de cartilagem e osso, onde comprovadamente suportam a viabilidade e proliferação celular. Além disso, têm sido aplicados em sistemas de liberação controlada de medicamentos e na criação de scaffolds para engenharia de tecidos (Wang, M. *et al.*, 2013; Fessel *et al.*, 2014; Muzzarelli *et al.*, 2015; Yu *et al.*, 2021; Masri *et al.*, 2022).

Hidrogéis de quitosana reticulados com genipina mostraram eficácia no controle da adesão e migração celular, bem como na manutenção do fenótipo, aspectos essenciais para aplicações em regeneração tecidual. Adicionalmente, a genipina tem sido utilizada para melhorar as propriedades mecânicas de cartilagens e protegê-las contra degradação inflamatória, indicando seu potencial na reparação de tecidos cartilaginosos (Muzzarelli, 2009; Hwang *et al.*, 2011).

A combinação da genipina com ácido hialurônico tem sido objeto de diversos estudos. Nath *et al.* (2015) desenvolveram um complexo polieletrólito (PEC) de quitosana e ácido hialurônico reticulado com genipina, capaz de imobilizar e controlar eficazmente a liberação de medicamentos por um período superior a 30 dias, favorecendo a diferenciação osteogênica. Gilarska *et al.* (2018) criaram hidrogéis injetáveis baseados em colágeno, quitosana e ácido hialurônico reticulado com genipina, os quais demonstraram potencial significativo para aplicações em regeneração tecidual, especialmente em procedimentos de reconstrução óssea.

Em outro estudo, Chang *et al.* (2019) desenvolveram membranas compostas por gelatina e ácido hialurônico reticuladas com genipina. Essas membranas exibiram notável atividade antibacteriana e excelente biocompatibilidade, tornando-as adequadas para aplicações em regeneração de tecidos orais e cirurgias faciais.

2.8 Base de Schiff

A reação da base de Schiff foi descoberta em 1864 pelo químico alemão Hugo Schiff, que deu seu nome a essa reação. As bases de Schiff podem ser encontradas tanto na natureza quanto sintetizadas em laboratório, apresentando uma ampla variedade de substituintes alquila ou arila. Essas bases são iminas, caracterizadas por uma ligação dupla entre carbono e nitrogênio (-C=N-), formadas a partir da reação de condensação entre grupos amina (RNH₂) e grupos aldeído (COH) (Chaturvedi & Kamboj, 2016; Tacias-Pascacio *et al.*, 2019).

As bases de Schiff têm sido amplamente investigadas devido às suas diversas aplicações. Entre essas aplicações, destacam-se sensores químicos ópticos para a detecção de íons metálicos e ânions em diferentes meios ambientais e biológicos (Berhanu *et al.*, 2019). Elas também são estudadas por suas propriedades ópticas não lineares, que são importantes para o desenvolvimento de dispositivos fotônicos (Derkowska-Zielinska *et al.*, 2020).

Os complexos de bases de Schiff com metais de transição são analisados por suas propriedades químicas, eletrônicas, magnéticas e ópticas, sendo aplicados em dispositivos como diodos emissores de luz orgânicos e células solares sensibilizadas por corantes (Hussain *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2018).

Além das suas aplicações em química, as bases de Schiff também têm se destacado por suas atividades biológicas, mostrando eficácia em propriedades

antifúngicas, antibacterianas, antimaláricas, antiproliferativas, anti-inflamatórias, antivirais e antipiréticas (Silva *et al.*, 2011b; Cui *et al.*, 2012; Hameed *et al.*, 2017; Berhanu *et al.*, 2019). No campo biomédico, as bases de Schiff são relevantes na criação de hidrogéis auto-reparáveis que respondem a estímulos biológicos, sendo úteis em aplicações como a liberação de medicamentos, regeneração de tecidos e cicatrização de feridas (Xu *et al.*, 2019).

3 MATERIAS E METODOLOGIA

3.1 Materiais

Pó de carboximetilquitosana, com um grau de acetilação (AD) de aproximadamente 82% e uma massa molar viscosimétrica média (Mv) de 270 kDa, foi fornecido pelo Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste - Certbio (Campina Grande, PB, Brasil). Hialuronato de sódio foi fornecido pela Farmácia de Manipulação Roval (Campina Grande, Brasil). Etileno glicol e o cloreto de cálcio foram adquiridos da Nuclear (São Paulo, Brasil). Periodato de sódio (NalO₄) foi obtido da ACs Científica (São Paulo, Brasil). Genipina, lisozima e tampão fosfato salino (PBS) (pH 7,2 a 25°C) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Rio de Janeiro, Brasil). Ácido glutâmico foi obtido da Dinâmica (São Paulo, Brasil). O soro fisiológico foi obtido da Triane e o pó comercial da Starsil® Hemostat.

3.2 Síntese do hialuronato de sódio Oxidado (HA-O)

O hialuronato de sódio (HA) foi dissolvido em água ultrapura à temperatura ambiente e oxidado com periodato de sódio (NaIO₄) seguindo adaptações de metodologias previamente descritas na literatura (Jia *et al.*, 2004; Jha *et al.*, 2009; Kristiansen *et al.*, 2010; Tan *et al.*, 2010; Nair *et al.*, 2011). Neste sentido, 5 mL de NaIO₄ (0,5 mol/L) foram adicionados à solução de HA previamente preparada (10 mg/mL). A mistura foi agitada mecanicamente a uma velocidade constante de 2500 rpm por 2 horas a 25 ± 1°C e mantida na ausência de luz por 24 horas. Em seguida, 1 mL de etileno glicol foi adicionado para interromper a reação de oxidação e a solução foi agitada por mais uma hora. A solução foi então transferida para uma membrana de diálise de látex dialisada por 3 dias a 25°± 1°C em um recipiente com água ultrapura, com trocas periódicas de água. A solução resultante de HA-O foi congelada e submetida à liofilização a -45°C por 72 horas. O produto liofilizado foi então pulverizado em um almofariz, passado por uma peneira de malha 100 e o pó resultante de HA-O com tamanho médio de partícula inferior a 0,1 mm foi armazenado em um dessecador.

Na reação entre etilenoglicol e periodato, o etilenoglicol sofre oxidação, resultando na formação de um complexo intermediário. Durante este processo, as

interações entre as moléculas de etilenoglicol e periodato levam à formação de ligações específicas envolvendo átomos de carbono, oxigênio e iodo. Este complexo é naturalmente instável e subsequentemente se decompõe, facilitando a clivagem oxidativa da ligação carbono-carbono dentro do etilenoglicol. Esta clivagem resulta na formação de duas moléculas de formaldeído (CH₂O) e ácido iodoso (HIO₃) (Kołodziejczyk *et al.*, 2023).

3.3 Síntese do Reticulante Azul (RA)

A síntese do reticulante azul (RA) foi realizada com base na adaptação de metodologias previamente descritas na literatura (Paik *et al.*, 2001; Cho *et al.*, 2006; Bentes, 2016; Ahmed *et al.*, 2023). Inicialmente, foi preparada uma solução de ácido glutâmico (Glu) a 7 mM em água. Paralelamente, foi preparada uma solução de genipina (G) em tampão fosfato pH 7,0, com concentração de 0,7 mM. Volumes iguais das duas soluções foram então misturados em um Erlenmeyer vedado e mantidos sob agitação magnética a 70°C em banho termostático por 5 horas para formar o reticulante azul (RA).

3.4 Síntese do hidrogel de O-CMCS/HA-O com e sem Reticulante Azul

Para a preparação dos hidrogéis de O-carboximetilquitosana (O-CMCS) e hialuronato de sódio oxidado (HA-O), utilizou-se uma proporção de massa 1/1 entre O-CMCS e HA-O. Para os hidrogéis de O-carboximetilquitosana, hialuronato de sódio oxidado e reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA), foram utilizadas proporções volumétricas distintas de O-CMCS/RA de 1/0,05, 1/0,1 e 1/0,15, respectivamente, mantendo-se fixa a proporção 1/1 de O-CMCS/HA-O. Essas formulações foram preparadas para investigar o efeito do RA na reticulação do hidrogel.

Os hidrogéis de O-carboximetilquitosana com hialuronato de sódio oxidado (O-CMCS/HA-O) foram obtidos a partir da dissolução da O-CMCS em água ultrapura, seguida pela adição do pó de HA-O. Inicialmente, o pó de O-CMCS foi colocado em um tubo Falcon (Figura 4a), seguido pela adição de 10 mL de água ultrapura (Figura 4b). Em seguida, o pó de HA-O foi incorporado à solução, e a mistura foi agitada em um vórtex (VX-38-BI) por 3 minutos, resultando em um hidrogel homogêneo (Figura 4c, d). Os hidrogéis de O-carboximetilquitosana com hialuronato de sódio oxidado e reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA) foram preparados de forma semelhante, na proporção de 1/1. Após a obtenção do hidrogel de O-CMCS/HA-O, volumes distintos de reticulante azul foram adicionados às amostras e homogeneizados no vórtex por três minutos. A composição das formulações preparadas está exibida na Tabela 1.

Amostra	O-CMCS (g/mL)	HA-O (g/mL)	RA (mL)
O-CMCS/HA-O	2%	2%	-
O-CMCS/HA-O/RA 0,5	2%	2%	0,5
O-CMCS/HA-O/RA 1	2%	2%	1,0
O-CMCS/HA-O/RA 1,5	2%	2%	1,5

Tabela 1- Composição dos hidrogéis sem e com reticulante azul.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024

Figura 4- Síntese do hidrogel O-CMCS/HA-O



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024

3.5 Caracterização

3.5.1 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A O-carboximetilquitosana (O-CMCS), o hialuronato de sódio oxidado (HA-O), o reticulante azul (RA) e os hidrogéis de O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA foram caracterizados utilizando a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Os espectros das amostras foram coletados na faixa de 650 a 4000 cm⁻¹, com 16 varreduras e uma resolução de 4 cm⁻¹. O equipamento utilizado para essas medições foi o espectrômetro Spectrum 400 FT Mid-IR da Perkin Elmer.

3.5.2 Teste de Tempo de Gelificação

O tempo de gelificação dos hidrogéis, foi avaliado utilizando o método de inversão de tubo Falcon. As soluções dos hidrogéis sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O) e com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA 0,5, O-CMCS/HA-O/RA1,0, e O-CMCS/HA-O/RA1,5) foram preparadas em tubos Falcon e monitoradas por inversão dos tubos. O tempo de gelificação foi registrado quando as soluções de hidrogel cessaram o fluxo. Os ensaios foram conduzidos conforme a metodologia descrita por Lü *et al.* (2015).

3.5.3 Teste de Autorreparação

Os hidrogéis foram caracterizados quanto à autorreparação de forma microscópica de acordo com metodologia adaptada de You *et al.* (2018). A análise foi realizada para observar a integridade estrutural e a coesão dos hidrogéis após serem submetidos a danos mecânicos. A avaliação microscópica, conduzida com o uso de um microscópio óptico Hirox, permitiu uma observação detalhada das microestruturas e dos processos de autorreparação nas amostras danificadas. O objetivo dessas análises foi verificar a capacidade de recuperação espontânea dos hidrogéis, fundamental para aplicações biomédicas onde a regeneração e manutenção da integridade do material são críticas.

3.5.4 Análise Reológica

A viscoelasticidade dos hidrogéis foi avaliada a partir de ensaios reológicos com objetivo de verificar a viscosidade, módulo de armazenamento (G') e o módulo de perda (G"). Foi utilizado um Reômetro Haake Mars III, equipado com geometria de placas paralelas e um sistema com banho térmico para controle de temperatura. Foi utilizada a temperatura constante de 25° C. Os hidrogéis foram caracterizados

reologicamente utilizando um reômetro HAAKE [™] MARS[™] (Thermo Fisher Scientific), equipado com um rotor PP35TiL com geometria de placa-placa e um gap de 0,5 mm. Foi realizada uma varredura de frequência de 0,1 a 100 Hz. A análise de curva de viscosidade (Pa.s) em função da taxa de deformação dos hidrogéis foi realizada na faixa de 0,1 a 10Hz.

3.5.5 Grau de Intumescimento in Vitro

O grau de intumescimento dos hidrogéis, foi avaliado na presença de soro fisiológico, solução PBS e solução PBS/lisozima. Os testes foram realizados de acordo com as metodologias adaptadas de Bian *et al.* (2024) e Li, Ling *et al.* (2014). Inicialmente, os hidrogéis foram liofilizados por 72 horas e, em seguida, pesados (Wo). Posteriormente, foram imersos em cada um dos meios (soro fisiológico, solução PBS e solução PBS/lisozima). Em intervalos de 24 horas, as amostras foram retiradas dos meios, em seguida pesadas (Wt). Utilizando a Equação 1, foi calculado o grau de intumescimento de cada amostra ao longo do tempo (t).

Equação 1

Onde, Wt é o peso da amostra no tempo t e Wo é o peso inicial da amostra.

3.5.6 Biodegradação in Vitro

A avaliação da biodegradação dos hidrogéis, foi conduzida em condições fisiológicas, utilizando o método de perda de massa, de acordo com as metodologias adaptadas de Bian *et al.* (2024) e Li, Ling *et al.* (2014). As amostras dos hidrogéis (1 mL cada), dispostas em moldes e liofilizadas por 72 horas, foram divididas em três grupos (Grupo I, Grupo II e Grupo III). O Grupo I foi imerso em 10 mL de solução PBS (pH 7,4), enquanto o Grupo II foi imerso em 10 mL de solução PBS (pH 7,4), enquanto o Grupo II foi imerso em 10 mL de solução PBS (pH 7,4), contendo 1 mg/mL de lisozima e o Grupo III foi imerso em 10mL de soro fisiológico (pH 5,0). Os meios de degradação, mantidos a 37 °C, foram atualizados diariamente para garantir a atividade enzimática contínua. Em tempos pré-determinados (7, 14, 21 e 28 dias), as amostras foram cuidadosamente retiradas do meio de degradação, colocadas na

estufa por 24 horas a 37 °C e, em seguida, pesadas. A porcentagem de perda de peso $(\Delta W\%)$ em cada intervalo de tempo foi determinada utilizando a Equação 2.

Onde: Wo é o peso inicial de cada amostra.

A taxa de degradação dos hidrogéis nos diferentes meios foi determinada pela relação entre a porcentagem de perda de massa e o tempo de degradação. Os resultados foram obtidos a partir de três experimentos independentes e expressos como média ± desvio padrão (DP).

3.5.7 Atividade Antibacteriana

A atividade antibacteriana dos hidrogéis, foi avaliada por testes contra cepas Gram-positivas de Staphylococcus aureus (BCRC 10451) e Gram-negativas de Escherichia coli (BCRC 11634). Ambas as cepas foram cultivadas em 10 ml de caldo Luria-Bertani (LB) em tubos estéreis até atingir densidade óptica (DO) de $0,7 \pm 0,01$. As amostras foram colocadas na superfície de ágar e incubados com as bactérias a 37 °C por 1 dia. A atividade antibacteriana de cada amostra contra ambas as cepas foi medida a partir da área da zona de inibição (cm²) ao redor da amostra usando o software ImageJ (n = 6), conforme metodologia adotada por (Prabha *et al.*, 2021; Butt *et al.*, 2024).

3.5.8 Injetabilidade

A força necessária para injetar o hidrogel da seringa foi determinada usando uma máquina INSTRON 3366 Universal MechanicalTesting configurada em modo compressivo com uma velocidade de cruzeta de 20mm/min, o curso da cruzeta foi definido para 10mm e uma célula de carga de 500N foi usada. Uma pré-compressão de 0,5N foi aplicada para acomodar melhor o material dentro da seringa e remover quaisquer bolhas de ar aprisionadas. Os hidrogéis foram submetidos em triplicatas em seringas de 5 mL contendo as amostras. A injetabilidade do hidrogel também foi previamente avaliada manualmente, onde uma seringa com 3 mL do material estudado foi injetada através de uma agulha 18G.

3.5.9 Citotoxicidade in Vitro

O ensaio de difusão em ágar foi conduzido para avaliar a citotoxicidade dos hidrogéis conforme a ISO 10993-5. Extratos foram preparados a partir dos hidrogéis, sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O) e com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA), na proporção de 0,1 g/mL de solvente para extração (água ultrapura), e autoclavados a 121 °C ± 2 °C por 1 h. Papéis de filtro com uma área de 100 mm² (10 mm x 10 mm) foram embebidos com os extratos.

Células L929 obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro e preservadas no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste - CERTBIO (Brasil) foram cultivadas em placas de 6 poços com 35 mm de diâmetro em meio RPMI 1640 contendo 10% de Soro Fetal Bovino (FBS) em estufas umidificadas a 37 °C ± 1 °C em uma atmosfera com 5 % ± 1 % de CO2. As suspensões celulares com concentração de 1,1 a 1,1 x 10⁵ células/mL foram preparadas utilizando um contador celular automático (Introven – Thermo Fisher). As placas foram usadas para o ensaio quando uma monocamada celular uniforme com confluência superior a 80% foi estabelecida após 48 horas do início do cultivo. Após este período, as culturas foram incubadas com os extratos dos hidrogéis preparados em PBS na concentração de 0,1 g/mL por 24 horas a 37 °C. Antes do ensaio, amostras e controles positivos (látex para garrote) e negativos (papel de filtro Whatman n.01) foram esterilizados por radiação ultravioleta em uma cabine de fluxo laminar BIOGREEN por 30 minutos. Após a aspiração do meio de cultura e a adição de 1 mL de meio de cobertura, o meio foi substituído por 1 mL de meio ágar preparado contendo 1,8% de ágar, 0,01% de solução vermelha neutra e MEM (Meio Essencial Mínimo) 2x concentrado. Após a solidificação do ágar (10 min), os papéis filtrantes embebidos nos extratos dos hidrogéis foram colocados na superfície do ágar, assim como os controles positivo (látex) e negativo (filtro Whatman n.01). As amostras foram realizadas em duplicata no centro de cada placa. Após 24 h de incubação, o índice de descoloração (formação de halo) e o índice de morte celular (lise) foram avaliados usando um microscópio óptico. A morte celular foi definida como a perda da integridade da membrana celular, visível sob o microscópio de luz invertida (NIKON TS100 digital, Tóquio, Japão) com o recurso de ampliação de imagem do software NISElements. A morte celular foi classificada de acordo com a Tabela 2.

Grau	Reatividade	Descrição da zona de reatividade
0	Nenhum	Nenhuma zona detectável em torno ou abaixo do
4	1	espécime
1	Leve	Algumas celulas mai formadas ou degeneradas sob espécime
2	Suave	Zona limitada à área sob espécime
3	Moderado	Tamanho da amostra de extensão da zona até 1,0 cm
4	Severo	Zona que se estende além de 1,0 cm além da amostra

Tabela 2- Critérios da ISO-10993-5, para a pontuação de reatividade do ensaio de difusão em ágar.

Fonte: ISSO-10993-5.

3.5.10 Teste de Pressão de Ruptura

O ensaio de ruptura foi realizado com adaptações de métodos previamente descritos na literatura (Azuma et al., 2015; Gowda et al., 2020). Um orifício de 4 mm de diâmetro foi feito em pele de porco fresca, que foi montada em um cilindro conectado a uma seringa com PBS e a um monitor de pressão. Para o teste, 2 mL dos hidrogéis O-CMCS/HA-O, O-CMCS/HA-O/RA e da amostra comercial Starsil (4% m/v) foram aplicados para selar o orifício na pele durante 30 minutos. Em seguida, a pressão foi aumentada por meio da injeção de PBS utilizando uma bomba de extrusão, com uma taxa de fluxo de 10 mL/min. A pressão máxima registrada foi considerada a pressão de ruptura.
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 5 apresenta a reação entre o hialuronato de sódio hidrolisado e o periodato de sódio, resultando na formação de hialuronato de sódio oxidado (HA-O).

O ácido hialurônico oxidado (HA-O) sintetizado e obtido na forma de pó, apresentou-se de cor amarelada (Figura 6) e como um material duro, áspero e inodoro.

Figura 5- Reação do hialuronato de sódio hidrolisado com periodato de sódio, gerando o hialuronato de sódio oxidado (HA-O).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.





Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Durante a síntese do reticulante à base de genipina (G) e ácido glutâmico (Glu), denominado reticulante azul (RA), observou-se sua característica cor azul (Figura 7). A reação de formação do reticulante azul é apresentada na Figura 8. Após a síntese, o reticulante azul foi congelado e liofilizado por 72 horas (Liotop modelo L108), para obter o material na forma de pó e posteriormente seguir com a caracterização.

Figura 7- Reticulante Azul derivado do ácido glutâmico e genipina.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 8- Reação entre a genipina (G) e o ácido glutâmico (Glu) para obtenção do reticulante azul (RA).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

4.1 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

4.1.1 FTIR do hialuronato de sódio oxidado (HA-O)

A Figura 9 apresenta os espectros de FTIR dos pós de hialuronato de sódio hidrolisado (HA) e do hialuronato de sódio oxidado (HA-O).

Figura 9- Espectros do FTIR dos pós de hialuronato de sódio (HA) e do hialuronato de sódio oxidado (HA-O).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

O espectro de FTIR do HA exibe bandas de absorção em 3285 cm⁻¹, atribuídas ao alongamento do grupo N-H em combinação com C=O. A banda em 2897 cm⁻¹ indica o alongamento do grupo C–H, enquanto um pico agudo em 1605 cm⁻¹ é referente ao alongamento assimétrico C=O. Além disso, o alongamento de C -N é observado em 1322 cm⁻¹. A banda em 1377 cm⁻¹ foi atribuída à deformação dos grupos CH, CH₂ e CH₃. O pico em 1032 cm⁻¹ foi atribuído à presença do grupo C–O–C e à deformação dos grupos carbonila e hidroxila (Astm, 2008; Weis *et al.*, 2018; Maiz-Fernández, S. *et al.*, 2022; Wójcik-Pastuszka *et al.*, 2022).

No espectro de FTIR do HA-O (Figura 8), observa-se uma maior intensidade dos picos e bandas, sem diferenças relevantes em relação ao HA. Há um pico em 2923 cm⁻¹, indicando o alongamento das ligações C-H, e um pico em 1151 cm⁻¹, referente às ligações glicosídicas (C–O–C, ponte O), corroborando com resultados reportado por Li, Ling *et al.* (2014). No entanto, em 1721 cm⁻¹, apareceu um ombro correspondente à vibração simétrica C=O da porção aldeído, o que validou a reação de modificação do hialuronato de sódio hidrolisado (HA) e a obtenção do hialuronato de sódio oxidado (HA-O). Conforme Nguyen *et al.* (2018), a dificuldade em visualizar o sinal do grupo aldeído na cadeia do HA-O se deve à formação de hemiacetais. No entanto, na amostra de HA-O sintetizada foi possível visualizar o sinal do grupo aldeído a reação de oxidação do HA pelo periodato de sódio. Resultados semelhantes foram obtidos por outros pesquisadores, reforçando a eficácia do método utilizado (Li *et al.*, 2019; Maiz-Fernández, Sheila *et al.*, 2022).

4.1.2 FTIR do Reticulante Azul RA

De acordo com os espectros (Figura 10), observa-se o pico de absorção em 3032 cm⁻¹ corresponde às vibrações do grupo amina primária (–NH₂) presente no ácido glutâmico (Glu) (Lin, 2011). Os picos em 1506 cm⁻¹ e 750-850 cm⁻¹ são atribuídos à deformação angular N-H da amina primária do Glu (Moritz, 1962; Colthup *et al.*, 1990; Silverstein e Kiemle, 2006; Lin, 2011). O pico em 2741 cm⁻¹ representa o alongamento C-H do Glu. O forte pico de absorção em 1638 cm⁻¹ indica o estiramento C=O do grupo ácido carboxílico do Glu. A presença do alongamento C-O é confirmada pelo pico em 1123 cm⁻¹, correspondente ao ácido carboxílico. O pico em 802 cm⁻¹ é atribuído à deformação planar O-H (Dhanasekaran *et al.*, 2012; Golovnev *et al.*, 2013; Golovnev *et al.*, 2016; Palanisamy e Karuppannan, 2016; Golovnev *et al.*, 2017)

O espectro da genipina (G) mostra um pico em 1620 cm⁻¹, relacionado às vibrações de estiramento fora do plano C=C. O pico em 1105 cm⁻¹ pode ser atribuído às vibrações de estiramento C-O do álcool primário na estrutura da genipina (Touyama *et al.*, 1994; Socrates, 2001; Arteche *et al.*, 2013). Além disso, foram observados o estiramento assimétrico C-O-C em 1300 cm⁻¹ e a flexão do éster metílico CH₃ em 1445 cm⁻¹. A absorção em 1159 cm⁻¹ corresponde às vibrações do éter cíclico (Dimida *et al.*, 2017).

No espectro do reticulante azul (RA) à base de genipina (G) e ácido glutâmico (Glu) foi registrado o desaparecimento parcial das bandas em 1506 cm⁻¹ e 750-850 cm⁻¹, que correspondem à deformação angular N-H da amina primária do ácido glutâmico (Glu). Isso indica a formação do reticulante azul através da reação entre a amina primária do ácido glutâmico e o grupo éter da genipina, resultando na formação de uma amina terciária e na eliminação da amina primária do Glu. Além disso, o pico em 1142 cm⁻¹ pode ser atribuído à sobreposição dos picos em 1159 cm⁻¹ e 1123 cm⁻¹, relacionados às vibrações do éter cíclico da genipina e ao pico C-O do ácido carboxílico presente no Glu. É importante destacar que houve uma redução desse pico, indicando um decréscimo no éter cíclico, parte do processo de formação do reticulante azul.

Figura 10- Espectros do FTIR do reticulante azul a base de genipina (G) e ácido glutâmico (Glu).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

4.1.3 FTIR dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA

Os espectros dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA (Figura 11) apresentam bandas de absorção em 3386 cm⁻¹, atribuídas às vibrações de estiramento das ligações OH e NH. A absorção na região de 2879 cm⁻¹ refere-se à

característica da tensão angular das ligações NH dos grupos amino. Ambos os hidrogéis exibem um pico em torno de 1585 cm⁻¹, que de acordo com Nguyen *et al.* (2018), é atribuído ao alongamento C=N, indicando a presença da ligação de base de Schiff (–CH=N–) nos hidrogeis obtidos. Esta ligação é formada pela interação entre O-CMCS e HA-O, conforme indicado por Maiz-Fernández, S. *et al.* (2022).

Figura 11- Espectros do FTIR dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

As bandas identificadas em 1409 e 1033 cm⁻¹ correspondem às vibrações de estiramento assimétrico do grupo carboxila (Gonçalves *et al.*, 2021). A banda em 1318 cm⁻¹, referente às deformações axiais em -CH e ao estiramento de –CO do ácido carboxílico do RA. A banda em 1409 cm⁻¹, correspondente ao ácido carboxílico, onde possivelmente ocorreu interação eletrostática com os grupos OH- do hidrogel O-CMCS/HA-O, levando ao decaimento parcial desta banda no espectro O-CMCS/HA-O/RA (Peña *et al.*, 2012). O pico em 887 cm⁻¹, atribuído à deformação planar O-H, perdeu intensidade, indicando uma interação eletrostática, conforme mencionado anteriormente (Dhanasekaran *et al.*, 2012; Golovnev *et al.*, 2013; Golovnev *et al.*, 2016; Palanisamy e Karuppannan, 2016; Golovnev *et al.*, 2017). O espectro do

reticulante azul (RA) apresenta bandas de aminas na região de 784-718 cm⁻¹, que também estão presentes nos hidrogéis O-CMCS/HA-O/RA (Silverstein e Kiemle, 2006; Moura *et al.*, 2011).

As imagens dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA são apresentadas na Figura 12, enquanto a reação de reticulação está ilustrada na Figura 13. Os hidrogéis contendo reticulante azul demonstraram tempos de reticulação mais curtos, sendo que o hidrogel com maior concentração de reticulante azul exibiu o menor tempo de reticulação.

Figura 12- Hidrogéis com diferentes proporções de reticulante azul: (a) O-CMCS/HA-O/RA1,5; (b) O-CMCS/HA-O/RA1,0; (c) O-CMCS/HA-O/RA0,5. Sem reticulante azul: (d) O-CMCS/HA-O.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 13- Reação de reticulação dos hidrogéis O-CMCS/HA-O com reticulante azul (RA).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

4.2 Tempo de Gelificação dos Hidrogéis de O-CMCS/HA-O

Os tempos de gelificação dos hidrogéis, com e sem a presença do reticulante azul (O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA), foram avaliados à temperatura ambiente (25 ± 5 °C), como mostrado na Tabela 3. Observou-se que o tempo de gelificação foi significativamente impactado pela concentração de reticulante azul. A formulação com maior concentração de reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA1,5) reduziu o tempo de gelificação para aproximadamente 10 segundos, acelerando consideravelmente o processo.

Além disso, o pH do hidrogel O-CMCS/HA-O/RA1,5 foi mantido entre 7 e 7,5, garantindo a estabilidade em um ambiente próximo ao fisiológico. Esses resultados indicam que a presença do reticulante azul desempenhou um papel chave na aceleração da gelificação e na manutenção de condições ideais para uso biomédico. A rápida gelificação é especialmente vantajosa em intervenções pós-laminectomia, onde o hidrogel pode atuar como uma barreira eficaz para prevenir aderências e promover uma recuperação mais rápida e eficiente (Fang *et al.*, 2023).

Tabela 3- Dados de pH e tempo de gelificação dos hidrogéis sem e com reticulante azul.

Amostra	рН	Tempo de gelificação (segundos)
O-CMCS/HA-O	7,0-7,5	30-40
O-CMCS/HA-O/RA 0,5 O-CMCS/HA-O/RA 1 O-CMCS/HA-O/RA 1,5	7,0-7,5 7,0-7,5 7,0-7,5	20-30 20-30 10-20

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

4.3 Propriedades Viscoelásticas e de Fluxo dos Hidrogéis de O-CMCS/HA-O

As propriedades reológicas dos hidrogéis de O-carboximetilquitosana com hialuronato de sódio oxidado com e sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O, O-CMCS/HA-O/RA) foram analisados.

Figura 14- Curva de viscosidade (Pa.s) versus Taxa de deformação dos hidrogéis com e sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

A Figura 14 ilustra a curva de viscosidade (Pa.s) em função da taxa de deformação dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA com diferentes concentrações de reticulante azul (1,5; 1,0; 0,5). Observou-se que, para este hidrogel, a viscosidade foi de 40 Pa.s em 0,2s⁻¹ e 70 Pa.s a uma taxa de deformação de 3,0 s⁻¹. Este resultado indica uma menor resistência à deformação em comparação com os hidrogéis contendo reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA0,5, O-CMCS/HA-O/RA1,0 e O-CMCS/HA-O/RA1,5), sugerindo uma possível redução na viscosidade e coesão em relação ao hidrogel reticulado.

Inicialmente, os hidrogéis O-CMCS/HA-O/RA1,5 e O-CMCS/HA-O/RA1,0 exibiram valores de viscosidade próximos a uma taxa de deformação de 0,2 s⁻¹, com valores específicos de 250 Pa.s e 180 Pa.s, respectivamente. Já o hidrogel O-CMCS/HA-O/RA0,5 mostrou uma viscosidade menor de 120 Pa.s na mesma taxa de deformação, sugerindo menor resistência à deformação e maior capacidade de fluxo ou adaptação à taxa de deformação. Já na frequência de 3,0s⁻¹ O-CMCS/HA-O/RA1,5 teve o valor da viscosidade dinâmica de 111 Pa.s, O-CMCS/HA-O/RA1,0 91 Pa.s e O-CMCS/HA-O/RA0,5 68 Pa.s.

Segundo Mensitieri *et al.* (1995) e Mazzucco *et al.* (2002), a viscosidade depende da taxa de deformação. Em baixas taxas de cisalhamento, o desacoplamento das macromoléculas do hidrogel é equilibrado pelo acoplamento induzido por movimentos térmicos moleculares aleatórios, mantendo a viscosidade constante. Conforme ilustrado na Figura 15, o aumento da taxa de deformação resulta na diminuição da densidade de ligações cruzadas não covalentes ou físicas. As redes tornam-se rapidamente desembaraçadas, fornecendo menos resistência ao fluxo e, consequentemente, reduzindo a viscosidade.

Os estudos de Kitazaki&Griffin (1997) e Zhou *et al.* (2014) apontam que a coluna vertebral humana varia sua faixa de frequência de aproximadamente 4 a 8 Hz. Essa faixa é onde a coluna apresenta maior resposta a vibrações verticais, aumentando o risco de desconforto e possíveis lesões para indivíduos expostos a esses níveis de frequência em longos períodos. Neste sentido, a análise curva de viscosidade (Pa.s) em função da taxa de deformação dos hidrogéis foram analisados até 10Hz (Figura 14).

Figura 15- Curva de G' e G" (Pa) versus Frequência angular (Hz) dos hidrogéis com e sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

A Figura 15 apresenta o comportamento viscoelástico dos hidrogéis de O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA, evidenciado pelos módulos G' e G" a 25 °C. O módulo de armazenamento G' indica a elasticidade ou a energia armazenada na amostra durante a deformação. Em contraste, o módulo de perda G" descreve o caráter viscoso do material, ou seja, a energia dissipada na forma de calor (Von Lospichl *et al.*, 2017).

Para a amostra O-CMCS/HA-O, observou-se uma predominância elástica ao longo de todo o intervalo de tempo estudado, com o módulo de armazenamento G' superior ao módulo de perda G", indicando que o hidrogel comportou-se como um sólido viscoelástico (Huang *et al.*, 2021). As curvas de G' e G" não se cruzam e são paralelas em um gráfico log-log da dependência dos módulos com a frequência angular (ω).

Os hidrogéis com reticulante azul, o módulo G' também predominou sobre o G", até aproximadamente 10 Hz, comportando-se como sólidos viscoelásticos. No entanto, ocorreu o cruzamento das curvas G' e G", indicando uma transição para um comportamento mais viscoso em frequências mais elevadas. Para todos os hidrogéis com reticulante azul, tanto G' quanto G" aumentaram com o aumento dos valores de frequência angular (ω) até 10 Hz. Esse aumento sugere uma resposta dinâmica do hidrogel às variações na frequência, demonstrando uma dependência viscoelástica.

O ângulo de fase (δ) representa a capacidade de um material de converter energia mecânica aplicada em calor, refletindo seu comportamento viscoelástico

(Taboadai et al., 2008). O parâmetro Tan δ é utilizado para caracterizar esse comportamento: materiais com tan δ < 1 possuem predominância elástica, exibindo características de gel, enquanto materiais com tan δ > 1 apresentam maior viscosidade, comportando-se como líquidos viscosos. No presente estudo, os valores de Tan δ obtidos na frequência de 10 Hz foram: 0,65 para o hidrogel O-CMCS/HA-O, 0,75 para O-CMCS/HA-O/RA0,5, 0,45 para O-CMCS/HA-O/RA1,0 e 0,38 para O-CMCS/HA-O/RA1,5. Esses resultados indicam um comportamento predominantemente elástico para todos os hidrogéis analisados.

4.4 Autoreparação dos Hidrogéis de O-CMCS/HA-O

Os hidrogéis, com e sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA), foram avaliados quanto à autorreparação microscópica, com o objetivo de verificar sua integridade estrutural e coesão após danos mecânicos. Para isso, os hidrogéis foram cortados em fragmentos e dispostos em placas de Petri, sendo reunidos sem aplicação de força externa e analisados ao microscópio óptico (MO).

As observações em MO (Figura 16) mostraram que a presença do reticulante azul (RA) influenciou de maneira significativa a capacidade de autorreparação. O hidrogel com menor concentração de RA (O-CMCS/HA-O/RA0,5) (Figura 16b) apresentou um tempo de autorreparação semelhante ao hidrogel sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O), cerca de 50 segundos. No entanto, com o aumento da concentração de RA, houve uma redução notável no tempo de autorreparação. Esse comportamento pode ser explicado pela reconstituição das ligações de imina quando as superfícies fragmentadas entram em contato, promovendo a autorreparação, conforme descrito por You *et al.* (2018).

A capacidade de autorreparação é fundamental para a aplicação do hidrogel em procedimentos pós-laminectomia, pois garante a integridade e a funcionalidade do material como barreira contra aderências. O hidrogel com maior concentração de RA (O-CMCS/HA-O/RA1,5) (Figura 16d) apresentou os menores tempos de gelificação e autorreparação entre as formulações testadas, com a gelificação ocorrendo em aproximadamente 30 segundos. A adição do reticulante azul foi determinante para acelerar esses processos, além de assegurar a coesão do material e manter o pH estável em torno de 7,5. Esses resultados indicam que a combinação de HA-O com o reticulante azul RA não apenas melhorou as propriedades de gelificação e autorreparação, mas também garantiu a integridade estrutural essencial para o desempenho como uma barreira eficaz contra aderências pós-laminectomia. Por esse motivo, a formulação O-CMCS/HA-O/RA1,5 foi escolhida para as próximas etapas de caracterização e, a partir deste ponto, será referida simplesmente como O-CMCS/HA-O/RA.

Figura 16- Imagens de MO dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA antes e após a autorreparação.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

4.5 Grau de Intumescimento in vitro

O grau de intumescimento dos hidrogéis sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O) e com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA), em diferentes soluções (PBS pH 7,4, PBS/lisozima pH 7,4 e soro fisiológico pH 5,0), foi determinado, conforme ilustrado na Figura 17.

As amostras testadas em soro fisiológico apresentaram uma menor capacidade de intumescimento ao longo do tempo quando comparadas às testadas em solução

PBS e PBS/lisozima, evidenciando uma diminuição progressiva na taxa de intumescimento conforme o pH diminuía. Isso sugere que o intumescimento dos hidrogéis em soro fisiológico foi limitado devido à formação de ligações de hidrogênio entre os grupos -COOH e -OH. Este efeito foi especialmente evidente na amostra reticulada (O-CMCS/HA-O/RA), que ainda apresenta grupos amino primários, resultando em uma redução mais significativa da repulsão eletrostática comparada ao hidrogel não reticulado (O-CMCS/HA-O) (Li *et al.*, 2014).

Em todas as condições avaliadas (soro fisiológico, solução de PBS e PBS/Lisozima), as amostras com reticulante (O-CMCS/HA-O/RA) apresentaram valores de intumescimento menores quando comparadas às amostras sem reticulante (O-CMCS/HA-O). As taxas de intumescimento alcançadas para as amostras reticuladas foram de 30,6±0,9 g/g, 33,2±0,7 g/g e 36,2±0,6 g/g no período de 180 segundos em soro fisiológico, PBS e PBS/lisozima, respectivamente (Figura 17).

Em condições neutras (nas soluções de PBS e PBS/lisozima), os grupos de ácido carboxílico nas amostras de O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA ionizaram-se progressivamente (-COO⁻), resultando em um aumento considerável no intumescimento devido à repulsão eletrostática entre esses grupos carregados negativamente na O-CMCS e HA-O (Li *et al.*, 2014).

Estes resultados indicam que a capacidade de intumescimento dos hidrogéis é significativamente influenciada pelo pH da solução e pela presença de reticulação.

Figura 17- Gráfico do grau de intumescimento do hidrogel reticulado com reticulante azul (O-CMCS/A-O/RA) e não reticulado (O-CMCS/A-O) em solução de soro fisiológico, PBS e PBS/lisozima.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

4.6 Biodegradação in vitro

A biodegradabilidade é importante para o desempenho de agentes de barreira *in vitro*. Degradações muito rápidas podem comprometer a proteção, enquanto degradações lentas podem interferir na cicatrização e gerar inflamação (Ogihara *et al.*, 2009; Cramer *et al.*, 2016; Bian *et al.*, 2024; Cho *et al.*, 2012; Spencer *et al.*, 2012; Ereth *et al.*, 2009).

Avaliamos a degradação dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA em soro fisiológico, PBS e PBS/Lisozima (Figura 18). O hidrogel O-CMCS/HA-O perdeu 19,2±6,6% de sua massa após 21 dias em soro, 11,4±4,7% em PBS e foi totalmente degradado em PBS/Lisozima. O O-CMCS/HA-O/RA, por sua vez, perdeu 29,2±4,7% em soro, 17,2±3,1% em PBS e 12,3±7% em PBS/Lisozima, demonstrando uma degradação mais lenta. Após 28 dias, o O-CMCS/HA-O/RA ainda manteve 21,6±3,8% de sua massa em soro, 9,5±2,8% em PBS e foi totalmente degradado em PBS/Lisozima.

Esses resultados sugerem que o hidrogel O-CMCS/HA-O/RA, devido à sua estrutura mais reticulada, apresenta uma taxa de degradação mais controlada e adequada para fornecer proteção prolongada sem interferir no processo de cicatrização, ao contrário do O-CMCS/HA-O, que degrada mais rapidamente. Assim, o hidrogel O-CMCS/HA-O/RA equilibra de forma eficiente a necessidade de intumescimento prolongado com a segurança clínica, minimizando riscos inflamatórios e facilitando a cicatrização (Lin *et al.*, 2015).

Figura 18- Gráfico de biodegradação do hidrogel reticulado com reticulante azul (O-CMCS/A-O/RA) e não reticulado (O-CMCS/A-O) em solução de soro fisiológico, PBS e PBS/lisozima.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

4.7 Injetabilidade

Inicialmente, foi avaliada a força de injeção necessária para extrudar o hidrogel a partir de uma seringa plástica de 5 mL, com calibre de agulha 18G, utilizando uma máquina de ensaio mecânico universal. Conforme observado na Figura 19, a força de injeção tende a se estabilizar com o tempo. Variações inesperadas, como aumentos ou diminuições na força, podem estar relacionadas à presença de bolhas no hidrogel. Figura 19- Gráfico de injetabilidade dos hidrogéis com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Os valores de força de injeção obtidos para os hidrogéis O-CMCS/HA-O/RA0,5, O-CMCS/HA-O/RA1,0 e O-CMCS/HA-O/RA1,5 foram de 29 \pm 0,5 N, 35 \pm 1,3 N e 37 \pm 0,6 N, respectivamente.

De acordo com Rungseevijitprapa & Bodmeier (2008), em estudos in vitro e in vivo sobre a injetabilidade de formulações, as forças de injeção in vitro foram classificadas como: entre 0 e 10 N (muito fácil de injetar), entre 11 e 25 N (fácil de injetar) e entre 26 e 50 N (injetável). Comparando os resultados deste estudo com esses parâmetros, todos os hidrogéis avaliados podem ser classificados como injetáveis. No entanto, vale ressaltar que a injetabilidade real pode depender não apenas da força aplicada, mas também da ergonomia da seringa e da resistência oferecida pelo tecido durante a aplicação.

4.8 Ensaio antimicrobiano in vitro

O efeito antimicrobiano dos hidrogéis sintetizados sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O) e com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA) foi avaliado contra dois microorganismos representativos dos grupos Gram-positivo e Gram-negativo:

Staphylococcus aureus e Escherichia coli. Os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 4.

A atividade antimicrobiana dos hidrogéis foi comparada com um controle positivo, que apresentou zonas de inibição significativas, confirmando a sensibilidade dos microrganismos ao antimicrobiano utilizado, e um controle negativo, que não mostrou zonas de inibição, indicando ausência de contaminação ou atividade antimicrobiana indesejada (Tabela 4).

Os resultados indicam que os hidrogéis sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O) e com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA) têm atividade moderada contra Staphylococcus aureus e Escherichia coli. Ambos hidrogéis apresentaram diâmetros de zonas de inibição semelhantes para o hidrogel sem reticulante azul (6,3 mm para ambos os microorganismos), com um ligeiro aumento no diâmetro da zona de inibição para o hidrogel com reticulante azul (6,7 mm para Escherichia coli e 6,0 mm para Staphylococcus aureus).

É interessante notar que o hidrogel com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA) mostrou um aumento na atividade antimicrobiana contra Escherichia coli, enquanto houve uma diminuição na atividade contra Staphylococcus aureus em comparação com o hidrogel sem o reticulante (O-CMCS/HA-O).

A atividade antimicrobiana dos hidrogéis é importante para prevenir infecções teciduais, que são consideradas um dos fatores que contribuem para a adesão bacteriana. Infecções bacterianas podem desencadear uma resposta inflamatória e prejudicar o processo de cicatrização de feridas, tornando a atividade antimicrobiana uma vantagem adicional dos hidrogéis de barreira pós-cirúgica (Zhou, J. *et al.*, 2022; Zhang, H. *et al.*, 2023).

Tabela 4- Medidas das zonas de inibição (mm) dos hidrogéis O-CMCS/HA-O sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O) e com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA).

Amostra	Zona de Inibição (mm)	Zona de Inibição (mm)
O-CMCS/HA-O	6,3	6,3
O-CMCS/HA-O/RA	6,7	6,0
Controle positivo	20	18,5
Controle negativo	0,0	0,0

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

4.9 Ensaio Citotoxicidade in vitro

A citotoxicidade in vitro dos hidrogéis preparados com os hidrogéis de O-CMCS/HA-O sem reticulante azul e com reticulante azul em células L929 foi avaliada pelo método de difusão em ágar. A citotoxicidade foi determinada medindo o tamanho do halo ao redor de cada material após 24 horas de incubação. Os resultados qualitativos para os controles positivo e negativo, bem como para os hidrogéis, foram obtidos com base na análise do halo e descoloração das células com valores médios registrados na Tabela 5.

Amostra	Zona de Inibição (mm)	Zona de Inibição (mm)	
O-CMCS/HA-O	0,0	Não citotóxico	
O-CMCS/HA-O/RA	0,0	Não citotóxico	
Controle positivo	0,7	Citotoxicidade moderada	
Controle negativo	0,0	Não citotóxico	

Tabela 5- Resultados do teste de difusão em ágar.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Conforme apresentado na Tabela 5, o controle positivo apresentou alto índice de descoloração e lise celular. De acordo com a ISO 10993-5 (Tabela 2), um halo com tamanho entre 0,45 e 1,0 cm indica uma citotoxicidade moderada (grau 3). Assim, considerando que o tamanho da zona de branqueamento do controle positivo foi de 0,70 cm, sua citotoxicidade é classificada como moderada. Além disso, observou-se na Figura 20(a) a descoloração do controle positivo referente a morte celular e a coloração vermelho claro no ágar foram causadas pela deposição de vermelho neutro na placa após a morte celular e formação de halo.

No controle negativo, verificou-se a presença do vermelho neutro no citoplasma celular (Figura 20b), sem indicação de morte celular e formação de halo, sendo classificado como não citotóxico.

Figura 20- Imagens de Microscopia Ótica (a) controle positivo e (b) controle negativo.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Os resultados dos testes de citotoxicidade para os hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA mostraram que a linhagem celular L929 não apresentou formação de halo ao redor das amostras, ou descoloração e não foram observadas alterações na morfologia celular (Figura 21(a) e (b)), de maneira semelhante aos controles negativos (Figura 20(b)). Esses resultados sugerem que os hidrogéis com e sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA) não são tóxicos para as células L929, indicando seu potencial uso como material de barreira pós-cirúrgica.

Esta conclusão está em consonância com estudos anteriores que também não encontraram citotoxicidade em materiais à base de carboximetilquitosana (Peng & Mu, 2010), hialuronato de sódio oxidado (Weng *et al.*, 2008; Lai e Ma, 2017) e genipina (Sung *et al.*, 1999; Tsai *et al.*, 2000). Resultados semelhantes foram reportados por Li, L. *et al.* (2014), que desenvolveram um hidrogel injetável de HA-O com N, O-carboximetilquitosana para prevenção de adesão pós-operatória, e concluíram que esses hidrogéis não apresentavam citotoxidade.

Figura 21- Ausência de descoramento ao redor e sob as amostras do (a) hidrogel sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O) e (b) hidrogel com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Esses achados reforçam a segurança e a biocompatibilidade dos materiais desenvolvidos, corroborando sua adequação para aplicações biomédicas. A ausência de citotoxicidade é um indicativo promissor para o avanço na utilização desses materiais em contextos clínicos, oferecendo uma alternativa segura e eficaz para a prevenção de aderências pós-cirúrgicas.

4.10 Teste de Pressão de Ruptura

A força de adesão do hidrogel é um dos fatores mais importantes para formar uma barreira antiadesão entre os tecidos, pois o hidrogel precisa aderir rapidamente para interromper a formação de fibroblastos entre eles. Esse teste é relevante para investigar a capacidade desses hidrogéis de suportar a pressão arterial, enquanto aderem rapidamente às paredes do tecido (Figura 23) (Hong *et al.*, 2019). **Figura 22-** Pressão suportado pelo hidrogel não reticulado (O-CMCS/HA-O), hidrogel com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA) e do hidrogel derivado do pó comercial Starsil.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Figura 23- Esquema representativo do teste de pressão de ruptura.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

O hidrogel com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA) apresentou a maior resistência à ruptura, suportando uma pressão média de aproximadamente 450 mmHg antes de falhar. Este resultado indica que a adição do reticulante azul à base de genipina (RA) ao hidrogel de O-CMCS/HA-O aumenta significativamente sua capacidade de adesão. O hidrogel O-CMCS/HA-O, sem o aditivo RA, apresentou uma resistência à ruptura intermediária, suportando uma pressão média de aproximadamente 375 mmHg (Figura 22). A maior eficiência dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA, em comparação à amostra comercial Starsil, é atribuída à presença de bases de Schiff, que conferem maior estabilidade estrutural e adesão ao tecido (Chen *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2022). Além disso, os grupos hidroxila, amina e carboxila nas cadeias dos polímeros O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA podem interagir com grupos hidroxila, carboxila e amina no tecido para formar ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas (Figura 13) (Fan *et al.*, 2021; Xia *et al.*, 2021).

O hidrogel derivado do pó comercial Starsil apresentou a menor resistência à ruptura, suportando uma pressão média de aproximadamente 225 mmHg antes de falhar (Figura 22). Este resultado sugere que tanto o O-CMCS/HA-O quanto o O-CMCS/HA-O/RA são superiores ao produto comercial em termos de capacidade de adesão.

Os resultados mostram que os hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA superam a pressão arterial normal (120 mmHg) (Azuma et al., 2015), demonstrando serem bons materiais de barreira pós-operatória, eficientes para prevenir aderências pós-cirúrgicas.

5 CONCLUSÃO

A síntese dos materiais, incluindo O-carboximetilquitosana (O-CMCS), hialuronato de sódio oxidado (HA-O) e o reticulante azul à base de genipina e ácido glutâmico (RA), foi bem-sucedida. Os resultados demostraram que o hidrogel O-CMCS/HA-O/RA possui propriedades superiores de gelificação e autorreparação em comparação ao hidrogel sem o reticulante azul, além de apresentar um comportamento pseudoplástico conforme revelado pela análise reológica. Os testes de citotoxicidade confirmaram a biocompatibilidade do material, evidenciando que os hidrogéis não são tóxicos para as células L929 e reforçando seu potencial para uso como material de barreira pós-cirúrgica. Além disso, o hidrogel O-CMCS/HA-O com reticulante azul mostrou rápida gelificação, eficiente autorreparação, estabilidade estrutural, propriedades antimicrobianas, facilidade de ser injetado e excelente capacidade adesiva. Essas características fazem deste hidrogel uma solução promissora para barreiras de aderências pós-cirúrgicas, representando uma inovação significativa na área de biomateriais clínicos. Sua formulação otimizada e pH compatibilidade com tecidos biológicos ressaltam seu potencial para melhorar os resultados clínicos pós-laminectomia e a qualidade de vida dos pacientes.

REFERÊNCIAS

AHMED, R.; UL AIN HIRA, N.; WANG, M.; IQBAL, S.; YI, J.; HEMAR, Y. Genipin, a natural blue colorant precursor: Source, extraction, properties, and applications. **Food chemistry**, p. 137498, 2023.

AHN, J. H.; KIM, S.; LEE, K. H.; SHIN, D. E. Epidural Adhesion Prevention with Biodegradable Barriers: A Review. **European Spine Journal**, v. 28, n. 3, p. 412-423, 2019.

ARTECHE PUJANA, M.; PÉREZ-ÁLVAREZ, L.; CESTEROS ITURBE, L. C.; KATIME, I. Biodegradable chitosan nanogels crosslinked with genipin. **Carbohydrate Polymers,** v. 94, n. 2, p. 836-842, 2013.

ASTM. Standard Guide for Characterization and Testing of Hyaluronan as Starting Materials Intended for Use in Biomedical and Tissue Engineered Medical Product Applications., n. 1–8, 2008.

ATKINS, E., & SHEEHAN, J. Hyaluronates: Relation between Molecular Conformations. **Science**, n. 179,p. 562-564, 1973. https://doi.org/10.1126/science.179.4073.562.

AZUMA, K.; NISHIHARA, M.; SHIMIZU, H.; ITOH, Y.; TAKASHIMA, O.; OSAKI, T.; ITOH, N.; IMAGAWA, T.; MURAHATA, Y.; TSUKA, T.; IZAWA, H.; IFUKU, S.; MINAMI, S.; SAIMOTO, H.; OKAMOTO, Y.; MORIMOTO, M. Biological adhesive based on carboxymethyl chitin derivatives and chitin nanofibers. **Biomaterials,** v. 42, p. 20-29, 2015.

BACK, J. H.; CHO, W. J.; KIM, J. H.; PARK, I. K.; KWON, S. W. Application of hyaluronic acid/sodium alginate-based microparticles to prevent tissue adhesion in a rabbit model. **Surg Today**, v. 46, p. 501-508, 2016.

BACK, J. H.; KWON, W. J. C.; KIM, J. H.; PARK, I. K.; WON, S. Application of hyaluronic acid sodium alginate-based.pdf. **Surg Today**, v. 46, p. 501-508, 2016.

BALAJI, A. B.; PAKALAPATI, H.; KHALID, M.; WALVEKAR, R.; SIDDIQUI, H. Natural and synthetic biocompatible and biodegradable polymers. In: SHIMPI, N. G. (Ed.). **Biodegradable and Biocompatible Polymer Composites**: Woodhead Publishing, 2018. p. 3-32. ISBN 978-0-08-100970-3.

BAUMANN, H.; FAUST, V. Concepts for improved regioselective placement of. **Carbohydrate Research,** v. 331, p. 43-57, 2001.

BHATIA, S., BERGETHON, P., BLEASE, S., KEMPER, T., ROSIELLO, A., ZIMBARDI, G., FRANZBLAU, C., & SPATZ, E. A synthetic dural prosthesis constructed from hydroxyethylmethacrylate hydrogels. **Journal of neurosurgery**, v.83, ed. 5, p. 897-902, 1995.

BENTES, A. S. Avaliação do Potencial de Obtenção de Pigmento Azul a partir de frutos de Jenipapo (Genipa americana L.) verdes. 2016.

BERHANU, A. L.; GAURAV; MOHIUDDIN, I.; MALIK, A. K.; AULAKH, J. S.; KUMAR, V.; KIM, K. H. J. T. T. I. A. C. A review of the applications of Schiff bases as optical chemical sensors. 2019.

BEUKEL, A.; CASTELLVÍ, A. O.; DEVEZA, E.; LLEBERIA, J.; LOPEZ, E.; PINAUD, J. Efficacy of Different Barriers for Preventing Epidural Adhesions: A Comparative Experimental Study. **Spine Journal**, v. 17, n. 1, p. 130-139, 2017.

BHATIA, S. Natural Polymers vs Synthetic Polymer. In: BHATIA, S. (Ed.). **Natural Polymer Drug Delivery Systems: Nanoparticles, Plants, and Algae**. Cham: Springer International Publishing, 2016. p. 95-118. ISBN 978-3-319-41129-3.

BIAN, D.; CHEN, Z.; OUYANG, Y.; WANG, S.; WANG, M.; CHEN, W. Ultrafast selfgelling, sprayable, and adhesive carboxymethyl chitosan/poly-γ-glutamic acid/oxidized dextran powder for effective gastric perforation hemostasis and wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 254, p. 127960, 2024.

BURNS, S., BIERING-SØRENSEN, F., DONOVAN, W., GRAVES, D., JHA, A., JOHANSEN, M., JONES, L., KRASSIOUKOV, A., KIRSHBLUM, S., MULCAHEY, M., READ, M., & WARING, W. International standards for neurological classification of spinal cord injury, revised 2011. **Topics in spinal cord injury rehabilitation**, v. 1, p. 85-99, 2012.

BUTT, M. S.; MALIK, Z.; GHAFFAR, R.; BALUCH, A. H.; SALEEM, M.; GHAFFAR, A. Moringa oleifera/chitosan-coated silk sutures for improved wound healing. **Materials Chemistry and Physics,** v. 313, p. 128737, 2024.

CAI, C.; ZHANG, X.; LI, Y.; LIU, X.; WANG, S.; LU, M.; YAN, X.; DENG, L.; LIU, S.; WANG, F. Self-healing hydrogel embodied with macrophage-regulation and responsive-gene-silencing properties for synergistic prevention of peritendinous adhesion. **Advanced Materials,** v. 34, n. 5, p. 2106564, 2022.

CAI, X.; HU, S.; YU, B.; CAI, Y.; YANG, J.; LI, F.; ZHENG, Y.; SHI, X. J. C. P. Transglutaminase-catalyzed preparation of crosslinked carboxymethyl chitosan/carboxymethyl cellulose/collagen composite membrane for postsurgical peritoneal adhesion prevention. v. 201, p. 201-210, 2018.

CARMICHAEL, S. P.; SHIN, J.; VAUGHAN, J. W.; CHANDRA, P. K.; HOLCOMB, J. B.; ATALA, A. J. Regenerative Medicine Therapies for Prevention of Abdominal Adhesions: A Scoping Review. **Journal of Surgical Research**, v. 275, p. 252-264, 2022.

CARVALHO, R.; BIANCHI, E. Enfermagem em centro cirúrgico e recuperação. . In: BARUERI, M. e (Ed.). Sec. Est. Saúde SP: Monografia em Português 2016. p. 70-76.

CEMIL, B., TUN, K., KAPTANOĞLU, E., KAYMAZ, F., CEVIRGEN, B., COMERT, A., & TEKDEMIR, I. Use of pimecrolimus to prevent epidural fibrosis in a postlaminectomy rat model.. **Journal of neurosurgery**. Spine , v. 11, n. 6, p. 758-63, 2009.

CHANG, K.-C.; LIN, D.-J.; WU, Y.-R.; CHANG, C.-W.; CHEN, C.-H.; KO, C.-L.; CHEN, W.-C. Characterization of genipin-crosslinked gelatin/hyaluronic acid-based hydrogel membranes and loaded with hinokitiol: In vitro evaluation of antibacterial activity and biocompatibility. **Materials Science and Engineering: C,** v. 105, p. 110074, 2019.

CHATURVEDI, D.; KAMBOJ, M. Role of Schiff Base in Drug Discovery Research. **Chemical Sciences Journal,** v. 7, n. 2, p. 1-2, 2016.

CHEN, H.; SAIF UR RAHMAN, M.; HUANG, S.; LI, S.; WANG, J.; LI, K.; WU, Y.; LIU, Y.; XU, S. Sandwich-like scaffold for effective hemostasis and anti-adhesion in cardiac injury. **Materials and Design,** v. 225, p. 111533-111533, 2023.

CHENG, F.; WU, Y.; LI, H.; YAN, T.; WEI, X.; WU, G.; HE, J.; HUANG, Y. Biodegradable N, O-carboxymethyl chitosan/oxidized regenerated cellulose composite gauze as a barrier for preventing postoperative adhesion. **Carbohydrate Polymers,** v. 207, p. 180-190, 2019a.

CHEN, Y.; CHEN, L.; ZHANG, Y.; ZHU, Z.; WANG, C.; CHEN, D. Influence of Epidural Adhesions on the Outcome of Lumbar Disc Herniation Surgery: A Retrospective Cohort Study. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, v. 9, p. 1-7, 2014.

CHO, Y. J.; KIM, S. Y.; KIM, J.; CHOE, E. K.; KIM, S. I.; SHIN, H. J. One-step enzymatic synthesis of blue pigments from geniposide for fabric dyeing. **Biotechnology and Bioprocess Engineering,** v. 11, p. 230-234, 2006.

COLTHUP, N. B.; DALY, L. H.; WIBERLEY, S. E. CHAPTER 11 - AMINES, C=N, AND N=O COMPOUNDS. In: COLTHUP, N. B.;DALY, L. H., *et al* (Ed.). **Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy (Third Edition)**. San Diego: Academic Press, 1990. p. 339-354. ISBN 978-0-12-182554-6.

CRAMER, G., & DARBY, S. Basic and clinical anatomy of the spine, spinal cord, and ANS. 1995. https://doi.org/10.1016/c2009-0-42801-0.

COHEN, M., ALTMAN, R., HOLLSTROM, R., HOLLSTROM, C., SUN, C., & GIPSON, B. Safety and Efficacy of Intra-articular Sodium Hyaluronate (Hyalgan®) in a Randomized, Double-Blind Study for Osteoarthritis of the Ankle. **Foot & Ankle International**, v. 29, p. 657 - 663, 2008.

CUI, Y.; DONG, X.; LI, Y.; LI, Z.; CHEN, W. Synthesis, structures and urease inhibition studies of Schiff base metal complexes derived from 3,5-dibromosalicylaldehyde. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, p. 323-331, 2012.

CUNNINGHAM, S. Sepracoat reduced post-surgical de novo adhesions at pelvic sites not surgically treated during laparotomy. **Evidence-based Obstetrics and Gynecology**, v. 1, n. 3, p. 89-89, 1999.

DARKE, A., FINER, E., MOORHOUSE, R., & REES, D. Studies of hyaluronate solutions by nuclear magnetic relaxation measurements. Detection of covalently-defined, stiff segments within the flexible chains.. **Journal of molecular biology**, v. 99, n. 3, p. 477-86, 1975.

DERKOWSKA-ZIELINSKA, B.; BARWIOŁEK, M.; CASSAGNE, C.; BOUDEBS, G. J. O.; TECHNOLOGY, L. Nonlinear optical study of Schiff bases using Z-scan technique. v. 124, p. 105968, 2020.

DEYO, R. A.; NACHEMSON, A.; MIRZA, S. K. Spinal-fusion surgery—the case for restraint. **The New England Journal of Medicine**, v. 350, p. 722-726, 2015.

DHANASEKARAN, P.; SRINIVASAN, K. J. C. R.; TECHNOLOGY. Synthesis, growth, morphology of the semiorganic nonlinear optical crystal L-glutamic acid hydrochloride and its structural, **thermal and SHG characterizations**. v. 47, 2012.

DIAMOND, M. P.; BURNS, E. L.; ACCOMANDO, B.; MIAN, S.; HOLMDAHL, L. Seprafilm® adhesion barrier: (2) A review of the clinical literature on intraabdominal use. **Gynecological Surgery**, v. 9, n. 3, p. 247-257, 2012.

DIAMOND, M. P.; LUCIANO, A.; JOHNS, D. A.; DUNN, R.; YOUNG, P.; BIEBER, E. Reduction of postoperative adhesions by N,O-carboxymethylchitosan: A pilot study. **Fertility and Sterility,** v. 80, n. 3, p. 631-636, 2003.

DIMIDA, S.; BARCA, A.; CANCELLI, N.; BENEDICTIS, V. M. D.; RAUCCI, M. G.; DEMITRI, C. J. I. J. O. P. S. Effects of Genipin Concentration on Cross-Linked Chitosan Scaffolds for Bone Tissue Engineering: Structural Characterization and Evidence of Biocompatibility Features. v. 2017, p. 1-8, 2017.

DOVEDYTIS, M.; LIU, Z. J.; BARTLETT, S. Hyaluronic acid and its biomedical applications: A review. **Engineered Regeneration**, v. 1, p. 102-113, 2020.

ELLIS, H. Medicolegal Consequences of Postoperative Intra-Abdominal Adhesions. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 94, p. 331-332, 2001.

ELIZALDE-PEÑA, E., QUINTERO-ORTEGA, I., ZÁRATE-TRIVIÑO, D., NUÑO-LICONA, A., GOUGH, J., SANCHEZ, I., MEDINA, D., & LUNA-BÁRCENAS, G. (Chitosan-g-glycidyl methacrylate)-xanthan hydrogel implant in Wistar rats for spinal cord regeneration. **Materials science & engineering. C, Materials for biological applications**, v. 78, p. 892-900, 2017.

FANG, Y.; ZHANG, L.; CHEN, Y.; WU, S.; WENG, Y.; LIU, H. Polysaccharides based rapid self-crosslinking and wet tissue adhesive hemostatic powders for effective hemostasis. **Carbohydrate Polymers,** v. 312, n. March, p. 120819-120819, 2023.

FENG, B.; WANG, S.; HU, D.; FU, W.; WU, J.; HONG, H.; DOMIAN, I. J.; LI, F.; LIU, J. Bioresorbable electrospun gelatin/polycaprolactone nanofibrous membrane as a barrier to prevent cardiac postoperative adhesion. **Acta Biomaterialia**, v. 83, p. 211-220, 2019.

FESSEL, G.; CADBY, J.; WUNDERLI, S.; VAN WEEREN, R.; SNEDEKER, J. G. Dose- and time-dependent effects of genipin crosslinking on cell viability and tissue mechanics – Toward clinical application for tendon repair. **Acta Biomaterialia**, v. 10, n. 5, p. 1897-1906, 2014.

FIORESE, C. H. U.; CADE, B. V.; FONTES, C. D. S.; MEDEIROS, F. M. C.; AZEVEDO, O. D. A.; SILVA-FILHO, G.; BINDELI, G. M. Produção de quitosana a partir da quitina extraída de exoesqueletos de crustáceos para diversas aplicações humanas: uma proposta de sustentabilidade ambiental. **Multidisciplinary Reviews**, v. 3, n. 1, 2020.

GERSZTEN, P. C.; FLYNN, J. M.; GHOSH, S.; SPENCER, D. L.; DICKMAN, C. A. Prevention of Peridural Fibrosis: An Experimental Study in the Rat Model. Journal of Neurosurgery: Spine, v. 99, n. 3, p. 271-276, 2003.

GILARSKA, A.; LEWANDOWSKA-ŁAŃCUCKA, J.; HORAK, W.; NOWAKOWSKA, M. Collagen/chitosan/hyaluronic acid – based injectable hydrogels for tissue engineering applications – design, physicochemical and biological characterization. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 170, p. 152-162, 2018.

GOLOVNEV, N. N.; MOLOKEEV, M. S.; LESNIKOV, M. K.; ATUCHIN, V. V. First outer-sphere 1,3-diethyl-2-thiobarbituric compounds [M(H2O)6](1,3-diethyl-2-

thiobarbiturate)2·2H2O (M=Co2+, Ni2+): Crystal structure, spectroscopic and thermal properties. **Chemical Physics Letters,** v. 653, p. 54-59, 2016.

GOLOVNEV, N. N.; MOLOKEEV, M. S.; LESNIKOV, M. K.; STERKHOVA, I. V.; ATUCHIN, V. V. Thiobarbiturate and barbiturate salts of pefloxacin drug: Growth, structure, thermal stability and IR-spectra. **Journal of Molecular Structure**, v. 1149, p. 367-372, 2017.

GOLOVNEV, N. N.; MOLOKEEV, M. S.; VERESHCHAGIN, S. N.; ATUCHIN, V. V. Calcium and strontium thiobarbiturates with discrete and polymeric structures. **Journal of Coordination Chemistry,** v. 66, n. 23, p. 4119-4130, 2013.

GOMES, J., AMANKWAH, R., POWELL-RICHARDS, A., & DUA, H. (2004). Sodium hyaluronate (hyaluronic acid) promotes migration of human corneal epithelial cells in vitro. **British Journal of Ophthalmology**, v. 88, p. 821-825, 2004. https://doi.org/10.1136/bjo.2003.027573.

GONÇALVES, R. C.; SIGNINI, R.; ROSA, L. M.; DIAS, Y. S. P.; VINAUD, M. C.; LINO, R. D. S. Carboxymethyl chitosan hydrogel formulations enhance the healing process in experimental partial-thickness (second-degree) burn wound healing. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 36, n. 3, p. e360303, 2021.

GOWDA, A. H. J.; BU, Y.; KUDINA, O.; KRISHNA, K. V.; BOHARA, R. A.; EGLIN, D.; PANDIT, A. Design of tunable gelatin-dopamine based bioadhesives. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 164, p. 1384-1391, 2020.

GUO, H.; SHEN, H.; MA, J.; WANG, P.; YAO, Z.; ZHANG, W.; TAN, X.; CHI, B. Versatile Injectable Carboxymethyl Chitosan Hydrogel for Immediate Hemostasis, Robust Tissue Adhesion Barrier, and Antibacterial Applications. **ACS applied materials & interfaces**, v. 15, n. 45, p. 52290-52304, 2023.

GUPTA, R. C.; LALL, R.; SRIVASTAVA, A.; SINHA, A. Hyaluronic Acid: Molecular Mechanisms and Therapeutic Trajectory. **Front Vet Sci**, v. 6, p. 192, 2019.

HAMEED, A.; AL-RASHIDA, M.; UROOS, M.; ABID ALI, S.; KHAN, K. M. J. E. O. O. T. P. Schiff bases in medicinal chemistry: a patent review (2010-2015). v. 27, p. 63 - 79, 2017.

HIRAIZUMI, Y., TRANSFELDT, E., FUJIMAKI, E., & NAMBU, M. Application of Polyvinyl Alcohol Hydrogel Membrane as Anti-adhesive Interposition After Spinal Surgery. **Spine**, v. 20, p. 2272–2277, 1995.

HODGES, P. W.; TUCKER, K. Moving differently in pain: a new theory to explain the adaptation to pain. **Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy**, v. 49, p. 177-189, 2019.

HONG, Y.; ZHOU, F.; HUA, Y.; ZHANG, X.; NI, C.; PAN, D.; ZHANG, Y.; JIANG, D.; YANG, L.; LIN, Q.; ZOU, Y.; YU, D.; ARNOT, D. E.; ZOU, X.; ZHU, L.; ZHANG, S.; OUYANG, H. A strongly adhesive hemostatic hydrogel for the repair of arterial and heart bleeds. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 2060, 2019.

HU, M., YANG, K., SUN, Y., CHEN, Y., YANG, S., LIN, F., & LIN, F. Hidrogel de ácido hialurônico oxidado/di-hidrazida de ácido adípico formando in situ para prevenção de fibrose epidural após laminectomia. **European cells & materials**, v.34, p.307-320, 2017.

HUAN, Y.; KONG, Q.; TANG, Q.; WANG, Y.; MOU, H.; YING, R.; LI, C. Antimicrobial peptides/ciprofloxacin-loaded O-carboxymethyl chitosan/self-assembling peptides

hydrogel dressing with sustained-release effect for enhanced anti-bacterial infection and wound healing. **Carbohydrate Polymers,** v. 280, n. November 2021, p. 119033-119033, 2022.

HUSSAIN, Z.; YOUSIF, E.; AHMED, A.; ALTAIE, A. Synthesis and characterization of Schiff's bases of sulfamethoxazole. **Org Med Chem Lett,** v. 4, n. 1, p. 1, 2014.

HWANG, Y.-J.; LARSEN, J.; KRASIEVA, T. B.; LYUBOVITSKY, J. G. Effect of Genipin Crosslinking on the Optical Spectral Properties and Structures of Collagen Hydrogels. **ACS applied materials & interfaces,** v. 3, n. 7, p. 2579-2584, 2011.

JANG, C. H.; PARK, H.; CHO, Y. B.; CHOI, C. H. The effect of Interceed for reducing adhesion as a middle ear packing agent: An experimental study. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 72, n. 10, p. 1517-1521, 2008.

JHA, A. K.; HULE, R. A.; JIAO, T.; TELLER, S. S.; CLIFTON, R. J.; DUNCAN, R. L.; POCHAN, D. J.; JIA, X. Structural Analysis and Mechanical Characterization of Hyaluronic Acid-Based Doubly Cross-Linked Networks. **Macromolecules**, v. 42, n. 2, p. 537-546, 2009.

JIA, X.; COLOMBO, G.; PADERA, R.; LANGER, R.; KOHANE, D. S. Prolongation of sciatic nerve blockade by in situ cross-linked hyaluronic acid. **Biomaterials**, v. 25, n. 19, p. 4797-4804, 2004.

JIA, Y.; FENG, J.; FENG, Z.; LIU, J.; YANG, Y.; LI, X.; LEI, M.; GUO, H.; WEI, Z.; LV, Y. An endoscopically compatible fast-gelation powder forms Janus-adhesive hydrogel barrier to prevent postoperative adhesions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 120, n. 6, p. e2219024120, 2023.

JIANG, L.; YAO, F.; ZHANG, E.; YU, Q.; YU, C.; CHEN, Z.; CHEN, J.; YUE, Z.; CHE, P.; LI, J. Combined treatment of xyloglucan derivative hydrogel and anti-C5a receptor antibody in preventing peritoneal adhesion. **Acta Biomaterialia**, v. 151, p. 163-173, 2022.

JIANG, Z.; WANG, S.; HOU, J.; CHI, J.; WANG, S.; SHAO, K.; LIU, W.; SUN, R.; HAN, B. Effects of carboxymethyl chitosan oligosaccharide on regulating immunologic function and inhibiting tumor growth. **Carbohydrate Polymers,** v. 250, n. June, p. 116994-116994, 2020.

JOHNSON, R., CRELIN, E., WHITE, A., PANJABI, M., & SOUTHWICK, W. Some new observations on the functional anatomy of the lower cervical spine. **Clinical orthopedics and related research**, v. 111, p. 192-200, 1975.

KANG, S.; PARK, S.; BAEK, I.; SONG, Y.; KIM, S.; CHOI, D.; KIM, J.; LEE, Y. Development of poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) films coated with biomembranemimicking polymers for anti-adhesion activity. **Materials Science and Engineering: C**, v. 120, p. 111780, 2021.

KAUSHAL, S.; PATEL, S. K.; GOH, S.-K.; SOOD, A.; WALKER, B. L.; BACKER, C. L. A novel combination of bioresorbable polymeric film and expanded polytetrafluoroethylene provides a protective barrier and reduces adhesions. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, v. 141, n. 3, p. 789-795, 2011.

KAYA, C.; SEVER, N.; CENGIZ, H.; YILDIZ, Ş.; EKIN, M.; YAŞAR, L. A randomized controlled study of the efficacy of misoprostol and hyaluronic acid in preventing adhesion formation after gynecological surgery: A rat uterine horn model. **European**

Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology, v. 176, n. 1, p. 44-49, 2014.

KEARNS, O.; CAMISASCA, A.; GIORDANI, S. Hyaluronic Acid-Conjugated Carbon Nanomaterials for Enhanced Tumour Targeting Ability. **Molecules**, v. 27, 2022.

KESKIN, E., AYDIN, H., KALAYCI, M., IŞIK, E., ÖZGEN, U., ŞIMŞEK, K., BAKLACI, D., & GÖKÇE, M. The histopathological effects of reabsorbable polyethylene glycol hydrogel (Coseal) on epidural fibrosis in an experimental postlaminectomy model in rats. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v.51, p.1512 - 1519, 2021.

KENNEDY, R.; COSTAIN, D. J.; MCALISTER, V. C.; LEE, T. D. G. Prevention of experimental postoperative peritoneal adhesions by N,O- carboxymethyl chitosan. **Surgery,** v. 120, n. 5, p. 866-870, 1996.

KITAZAKI, S; GRIFFIN, MJ. Resonance behaviour of the seated human body and effects of posture. **J Biomech**, v. 31, n. 2, p. 143-9, 1998.

KOŁODZIEJCZYK, A.; BŁAZIAK, M.; PODGÓRNIAK, K.; JEZIERSKA, A.; BŁAZIAK, K. The Malaprade reaction mechanism for ethylene glycol oxidation by periodic acid based on density functional theory (DFT). **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 25, n. 32, p. 21448-21455, 2023.

KRISTIANSEN, K. A.; POTTHAST, A.; CHRISTENSEN, B. E. Periodate oxidation of polysaccharides for modification of chemical and physical properties. **Carbohydrate Research**, v. 345, n. 10, p. 1264-1271, 2010.

KUTÁLKOVÁ,E.; HRNČIŘÍK, J.;WITASEK,R.; INGR, M. Effect of solvent and ions on the structure and dynamics of a hyaluronan molecule, **Carbohydrate Polymers**, v. 234, 2020.

KULICKE, W., MEYER, F., BINGÖL, A., & LOHMANN, D. Visco-Elastic Properties of Sodium Hyaluronate Solutions, n. 1027, p. 585-587, 2008.

LAI, J.-Y.; MA, D. H.-K. Ocular biocompatibility of gelatin microcarriers functionalized with oxidized hyaluronic acid. **Materials Science and Engineering: C,** v. 72, p. 150-159, 2017.

LEE, S. H.; CHOI, S. M.; YANG, H.; LEE, H.; LIM, J. Y.; KIM, J. H. Injectable Hydrogels for Enhancing the Regenerative Capacity of Neural Tissues After Spinal Cord Injury. **Advanced Materials**, v. 31, n. 26, p. 1805436, 2019.

LEPRINCE, S.; HUBERLANT, S.; ALLEGRE, L.; WAREMBOURG, S.; LETEUFF, I.; BETHRY, A.; PANIAGUA, C.; TAILLADES, H.; DE TAYRAC, R.; COUDANE, J. Preliminary design of a new degradable medical device to prevent the formation and recurrence of intrauterine adhesions. **Communications Biology,** v. 2, n. 1, p. 196, 2019.

LI, H.; WEI, X.; YI, X.; TANG, S.; HE, J.; HUANG, Y.; CHENG, F. Antibacterial, hemostasis, adhesive, self-healing polysaccharides-based composite hydrogel wound dressing for the prevention and treatment of postoperative adhesion. **Materials Science and Engineering C,** v. 123, n. February, p. 111978-111978, 2021.

LI, J.; FENG, X.; LIU, B.; YU, Y.; SUN, L.; LIU, T.; WANG, Y.; DING, J.; CHEN, X. Polymer materials for prevention of postoperative adhesion. **Acta Biomaterialia**, v. 61, p. 21-40, 2017a.

LI, J.; ZHU, J.; HE, T.; LI, W.; ZHAO, Y.; CHEN, Z.; ZHANG, J.; WAN, H.; LI, R. Prevention of intra-abdominal adhesion using electrospun PEG/PLGA nanofibrous membranes. **Materials Science and Engineering: C,** v. 78, p. 988-997, 2017b.

LI, L.; WANG, N.; JIN, X.; DENG, R.; NIE, S.; SUN, L.; WU, Q.; WEI, Y.; GONG, C. Biodegradable and injectable in situ cross-linking chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for postoperative adhesion prevention. **Biomaterials**, v. 35, n. 12, p. 3903-17, 2014.

LI, S.; HU, L.; LI, D.; WANG, X.; ZHANG, P.; WANG, J.; YAN, G.; TANG, R. Carboxymethyl chitosan-based nanogels via acid-labile ortho ester linkages mediated enhanced drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 129, p. 477-487, 2019.

LI, X.; ZHANG, Y.; ZOU, X.; SUN, H.; CHEN, L.; WANG, C.; WU, H.; XU, X.; XU, J. Hydrogel-Based Local Drug Delivery Systems for Spinal Cord Injury. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 11, n. 9, p. 1223-1234, 2023.

LIN, C. Y.; PENG, H. H.; CHEN, M. H.; SUN, J. S.; LIU, T. Y.; CHEN, M. H. In situ forming hydrogel composed of hyaluronate and polygalacturonic acid for prevention of peridural fibrosis. **J Mater Sci Mater Med**, v. 26, n. 4, p. 168, 2015.

LIU, Y.; HU, J.; XIAO, Z.; JIN, X.; JIANG, C.; YIN, P.; TANG, L.; SUN, T. Dynamic behavior of tough polyelectrolyte complex hydrogels from chitosan and sodium hyaluronate. **Carbohydrate Polymers,** v. 288, p. 119403, 2022.

LIAO, J.; LI, X.; FAN, Y. Prevention strategies of postoperative adhesion in soft tissues by applying biomaterials: Based on the mechanisms of occurrence and development of adhesions. **Bioactive Materials**, v. 26, p. 387-412, 2023.

LIU, Y.; LI, H.; SHU, X. Z.; GRAY, S. D.; PRESTWICH, G. D. Crosslinked hyaluronan hydrogels containing mitomycin C reduce postoperative abdominal adhesions. **Fertility and Sterility**, v. 83, n. 4 SUPPL., p. 1275-1283, 2005.

LOPES, J. B.; DALLAN, L. A. O.; MOREIRA, L. F. P.; CAMPANA FILHO, S. P.; GUTIERREZ, P. S.; LISBOA, L. A. F.; DE OLIVEIRA, S. A.; STOLF, N. A. G. Synergism between keratinocyte growth factor and carboxymethyl chitosan reduces pericardial adhesions. **The Annals of thoracic surgery,** v. 90, n. 2, p. 566-572, 2010.

LÜ, S.; GAO, C.; XU, X.; BAI, X.; DUAN, H.; GAO, N.; FENG, C.; XIONG, Y.; LIU, M. Injectable and Self-Healing Carbohydrate-Based Hydrogel for Cell Encapsulation. **ACS applied materials & interfaces,** v. 7, n. 23, p. 13029-13037, 2015.

MAHADEVAN, V. Anatomy of the thorax, p. 5-9, 2016.

MAIZ-FERNÁNDEZ, S.; PÉREZ-ÁLVAREZ, L.; SILVÁN, U.; VILAS-VILELA, J. L.; LANCEROS-MÉNDEZ, S. Dynamic and self-healable chitosan/hyaluronic acid-based in situ-forming hydrogels. **Gels**, v. 8, n. 8, p. 477, 2022.

MANCHIKANTI, L., PAMPATI, V., BAKHIT, C., & PAKANATI, R. Non-endoscopic and endoscopic adhesiolysis in post-lumbar laminectomy syndrome: a one-year outcome study and cost effectiveness analysis.. **Pain physician**, v. 2, n. 3, p. 52-8, 1999.

MASRI, S.; MAAROF, M.; MOHD, N. F.; HIRAOKA, Y.; TABATA, Y.; FAUZI, M. B. Injectable Crosslinked Genipin Hybrid Gelatin-PVA Hydrogels for Future Use as Bioinks in Expediting Cutaneous Healing Capacity: Physicochemical Characterisation and Cytotoxicity Evaluation. **Biomedicines**, v. 10, n. 10, 2022.

MELNYCHENKO, M. G.; KVASHNINA, A. A. Pathogenetic aspects of post-surgical adhesions prevention (review of literature). **Journal of Education, Health and Sport,** v. 10, n. 5, p. 380-393, 2020.

MENGQING, S.; RUIZHE, T.; PENG, L.; PENG, Z. Study on Prevention of Postoperative Abdominal Adhesions with PLGA Nanofiber Membrane. **Journal of Physics: Conference Series,** v. 1676, n. 1, 2020.

METTLER, L., SAMMUR, W., SCHOLLMEYER, T., & ALKATOUT, I. Cross-linked sodium hyaluronate, an anti-adhesion barrier gel in gynaecological endoscopic surgery. **Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies**, v. 22, p. 260-265, 2013. https://doi.org/10.3109/13645706.2012.751034.

MOGOŞANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 463, n. 2, p. 127-136, 2014.

MONTEMURRO, F.; DE MARIA, C.; ORSI, G.; GHEZZI, L.; TINÈ, M. R.; VOZZI, G. Genipin diffusion and reaction into a gelatin matrix for tissue engineering applications. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 105, n. 3, p. 473-480, 2017.

MOURA, M. J.; FANECA, H.; LIMA, M. P.; GIL, M. H.; FIGUEIREDO, M. M. In Situ Forming Chitosan Hydrogels Prepared via Ionic/Covalent Co-Cross-Linking. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 9, p. 3275-3284, 2011.

MUTO, M., MUTO, G., GIURAZZA, F., TECAME, M., FABIO, Z., & IZZO, R. Anatomy and Biomechanics of the Vertebral Column, p. 1-10, 2017. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41462-1_1.

MUZZARELLI, R. A. A. Genipin-crosslinked chitosan hydrogels as biomedical and pharmaceutical aids. **Carbohydrate Polymers,** v. 77, n. 1, p. 1-9, 2009.

MUZZARELLI, R. A. A.; EL MEHTEDI, M.; BOTTEGONI, C.; AQUILI, A.; GIGANTE, A. Genipin-Crosslinked Chitosan Gels and Scaffolds for Tissue Engineering and Regeneration of Cartilage and Bone. **Marine Drugs**. 13: 7314-7338 p. 2015.

NAIR, S.; REMYA, N. S.; REMYA, S.; NAIR, P. D. A biodegradable in situ injectable hydrogel based on chitosan and oxidized hyaluronic acid for tissue engineering applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 4, p. 838-844, 2011.

NATH, S. D.; ABUEVA, C.; KIM, B.; LEE, B. T. Chitosan–hyaluronic acid polyelectrolyte complex scaffold crosslinked with genipin for immobilization and controlled release of BMP-2. **Carbohydrate Polymers,** v. 115, p. 160-169, 2015.

NGUYEN, N. T. P.; NGUYEN, L. V. H.; TRAN, N. M. P.; NGUYEN, T. H.; HUYNH, C. K.; VAN, V. Synthesis of cross-linking chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for tissue engineering applications. **IFMBE Proceedings**, v. 63, p. 671-675, 2018.

OUAÏSSI, M.; GAUJOUX, S.; VEYRIE, N.; DENÈVE, E.; BRIGAND, C.; CASTEL, B.; DURON, J. J.; RAULT, A.; SLIM, K.; NOCCA, D. Post-operative adhesions after digestive surgery: their incidence and prevention: review of the literature. **Journal of visceral surgery**, v. 149, n. 2, p. e104-e114, 2012.

OZMEN, M. M.; ASLAR, A. K.; TERZI, M. C.; ALBAYRAK, L.; BERBEROĞLU, M. Prevention of adhesions by bioresorbable tissue barrier following laparoscopic

intraabdominal mesh insertion. Surgical Laparoscopy, Endoscopy and Percutaneous Techniques, v. 12, n. 5, p. 342-346, 2002.

PAIK, Y.-S.; LEE, C.-M.; CHO, M.-H.; HAHN, T.-R. Physical stability of the blue pigments formed from geniposide of gardenia fruits: effects of pH, temperature, and light. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 1, p. 430-432, 2001.

PALANISAMY, D.; KARUPPANNAN, S. Nucleation Control and Growth of Metastable α -I-Glutamic Acid Single Crystals in the Presence of I-Phenylalanine. **Procedia Engineering**, v. 141, p. 70-77, 2016.

PANG, J.; BI, S.; KONG, T.; LUO, X.; ZHOU, Z.; QIU, K.; HUANG, L.; CHEN, X.; KONG, M. Mechanically and functionally strengthened tissue adhesive of chitin whisker complexed chitosan/dextran derivatives based hydrogel. **Carbohydrate Polymers,** v. 237, n. March 2020, p. 116138-116138, 2020.

PARK, J., CHA, S., KIM, B., CHOI, Y., KWON, G., KANG, H., & AN, S. An assessment of the effects of a hyaluronan-based solution on reduction of postsurgical adhesion formation in rats: a comparative study of hyaluronan-based solution and two film barriers.. **The Journal of surgical research**, v. 168, n. 1, p. 49-55, 2011.

PELLETIER, S., HUBERT, P., LAPICQUE, F., PAYAN, E., & DELLACHERIE, E. Amphiphilic derivatives of sodium alginate and hyaluronate: synthesis and physicochemical properties of aqueous dilute solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, p. 343-349, 2000.

PELLETIER, S., HUBERT, P., PAYAN, E., MARCHAL, P., CHOPLIN, L., & DELLACHERIE, E. (2001). Amphiphilic derivatives of sodium alginate and hyaluronate for cartilage repair: rheological properties.. **Journal of biomedical materials research**, v. 54, n. 1, p. 102-8, 2001.

PEÑA, I.; SANZ, M. E.; LÓPEZ, J. C.; ALONSO, J. L. Preferred Conformers of Proteinogenic Glutamic Acid. **Journal of the American Chemical Society,** v. 134, n. 4, p. 2305-2312, 2012.

PENG, W.; MU, Y. Preparation and cytotoxicity of carboxymethyl chitosan thermosensitive hydrogel. **Chinese Journal of Tissue Engineering Research**, v. 14, n. 51, p. 9591, 2010.

PENZIAS, A.; BENDIKSON, K.; FALCONE, T.; GITLIN, S.; GRACIA, C.; HANSEN, K.; HILL, M.; HURD, W.; JINDAL, S.; KALRA, S.; MERSEREAU, J.; ODEM, R.; RACOWSKY, C.; REBAR, R.; REINDOLLAR, R.; ROSEN, M.; SANDLOW, J.; SCHLEGEL, P.; STEINER, A.; STOVALL, D.; TANRIKUT, C. Postoperative adhesions in gynecologic surgery: a committee opinion. **Fertility and Sterility**, v. 112, n. 3, p. 458-463, 2019.

PRABHA, S.; SOWNDARYA, J.; RAM, P.; RUBINI, D.; HARI, B. N. V.; ARUNI, W.; NITHYANAND, P. Chitosan-Coated Surgical Sutures Prevent Adherence and Biofilms of Mixed Microbial Communities. **Curr Microbiol**, v. 78, n. 2, p. 502-512, 2021.

RAZA, M. A.; LIM, Y. M.; LEE, S. W.; SERALATHAN, K. K.; PARK, S. H. Synthesis and characterization of hydrogels based on carboxymethyl chitosan and poly(vinylpyrrolidone) blends prepared by electron beam irradiation having anticancer

efficacy, and applications as drug carrier for controlled release of drug. **Carbohydrate Polymers,** v. 258, n. September 2020, 2021.

SASAKI, M.; KAWABE, M.; HIRAI, S.; YAMADA, N.; MORIOKA, K.; IHAYA, A.; TANAKA, K. Preoperative detection of pleural adhesions by chest ultrasonography. **Annals of Thoracic Surgery,** v. 80, n. 2, p. 439-442, 2005.

SCHNÜRIGER, B.; BARMPARAS, G.; BRANCO, B. C.; LUSTENBERGER, T.; INABA, K.; DEMETRIADES, D. Prevention of postoperative peritoneal adhesions: a review of the literature. **The American Journal of Surgery**, v. 201, n. 1, p. 111-121, 2011.

SCHOENFELD, A. J.; GEORGE, A. A.; BADER, J. O.; CARAM, P. M. Effectiveness of intravenous methylprednisolone in treating spinal cord injury: a meta-analysis. **Journal of Spinal Disorders & Techniques**, v. 32, p. 45-50, 2019.

SCHOEGGL, A., REDDY, M., & MATULA, C. Neurological outcome after laminectomy for spinal metastases. **Spinal Cord**, v. 40, p. 363-366, 2002.

SHARIATINIA, Z. Pharmaceutical applications of chitosan. Advances in Colloid and Interface Science, v. 263, p. 131-194, 2019.

SHI, B.; DING, J.; WEI, J.; FU, C.; ZHUANG, X.; CHEN, X. Drug-incorporated electrospun fibers efficiently prevent postoperative adhesion. **Curr Pharm Des,** v. 21, n. 15, p. 1960-6, 2015.

SILVA, C. M. D.; SILVA, D. L. D.; MODOLO, L. V.; ALVES, R. B.; RESENDE, M. A. D.; MARTINS, C. V. B.; FÁTIMA, Â. D. J. J. O. A. R. Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. **Journal of Advanced Research**, v. 2, p. 1-8, 2011b.

SILVA, D. D. S. E. Estudos físico-químicos de O-carboximetilação de quitosana Daniella de Souza e Silva. **Universidade de São Carlos,** v. Dissertaçã, p. 102-102, 2011a.

SILVERSTEIN, R. M.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. Rio de Janeiro 2006.

SOCRATES, G. Infrared and Raman characteristic group frequencies : tables and charts. 2001.

SOLTANY, S. Postoperative peritoneal adhesion: an update on physiopathology and novel traditional herbal and modern medical therapeutics. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, v. 394, n. 2, p. 317-336, 2021.

STAPLETON, L. M.; STEELE, A. N.; WANG, H.; LOPEZ HERNANDEZ, H.; YU, A. C.; PAULSEN, M. J.; SMITH, A. A. A.; ROTH, G. A.; THAKORE, A. D.; LUCIAN, H. J. Use of a supramolecular polymeric hydrogel as an effective post-operative pericardial adhesion barrier. **Nature biomedical engineering**, v. 3, n. 8, p. 611-620, 2019.

SUDIRMAN, T.; HATTA, M.; PRIHANTONO, P.; BUKHARI, A.; TEDJASAPUTRA, T. R.; LIE, H. Vitamin E administration as preventive measures for peritoneal/intraabdominal adhesions: A systematic review and meta-analysis. **Annals of Medicine and Surgery**, v. 80, n. June, p. 104225-104225, 2022.

SUN, Z.; ZHU, D.; ZHAO, H.; LIU, J.; HE, P.; LUAN, X.; HU, H.; ZHANG, X.; WEI, G.; XI, Y. Recent advance in bioactive hydrogels for repairing spinal cord injury: material design, biofunctional regulation, and applications. **J Nanobiotechnology**, v. 21, n. 1, p. 238, 2023.

SUNG, H.-W.; HUANG, R.-N.; HUANG, L. L. H.; TSAI, C.-C. In vitro evaluation of cytotoxicity of a naturally occurring cross-linking reagent for biological tissue fixation. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition,** v. 10, n. 1, p. 63-78, 1999.

TACIAS-PASCACIO, V. G.; GARCÍA-PARRA, E.; VELA-GUTIÉRREZ, G.; VIRGEN-ORTIZ, J. J.; BERENGUER-MURCIA, Á.; ALCÁNTARA, A. R.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Genipin as An Emergent Tool in the Design of Biocatalysts: Mechanism of Reaction and Applications. **Catalysts**, v. 9, 2019.

TAN, H.; RUBIN, J. P.; MARRA, K. G. Injectable in situ forming biodegradable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for adipose tissue regeneration. **Organogenesis**, v. 6, n. 3, p. 173-180, 2010.

TANAKA, R.; INOUE, D.; IZUMOZAKI, A.; TAKATA, M.; YOSHIDA, S.; SAITO, D.; TAMURA, M.; MATSUMOTO, I. Preoperative evaluation of pleural adhesions with dynamic chest radiography: a retrospective study of 146 patients with lung cancer. **Clinical Radiology,** v. 77, n. 9, p. e689-e696, 2022.

TOP DOCTORS. Laminectomía. Disponível em: https://www.topdoctors.mx/diccionario-medico/laminectomia/. Acesso em: 13 set. 2024.

TOUYAMA, R.; TAKEDA, Y.; INOUE, K.; KAWAMURA, I.; YATSUZUKA, M.; IKUMOTO, T.; SHINGU, T.; YOKOI, T.; INOUYE, H. Studies on the Blue Pigments Produced from Genipin and Methylamine. I. Structures of the Brownish-Red Pigments, Intermediates Leading to the Blue Pigments. **CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN,** v. 42, n. 3, p. 668-673, 1994.

TSAI, C. C.; HUANG, R. N.; SUNG, H. W.; LIANG, H. C. In vitro evaluation of the genotoxicity of a naturally occurring crosslinking agent (genipin) for biologic tissue fixation. **J Biomed Mater Res**, v. 52, n. 1, p. 58-65, 2000.

UPADHYAYA, L.; SINGH, J.; AGARWAL, V.; TEWARI, R. P. Biomedical applications of carboxymethyl chitosans. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, p. 452-466, 2013.

VOLPI, N., SCHILLER, J., STERN, R., & ŠOLTÉS, L. Role, metabolism, chemical modifications and applications of hyaluronan. **Current medicinal chemistry**, v. 16, n. 14, p. 1718-45, 2009 . https://doi.org/10.2174/092986709788186138.

WANG, H., SUN, W., FU, D., SHEN, Y., CHEN, Y., & WANG, L. Update on biomaterials for prevention of epidural adhesion after lumbar laminectomy. **Journal of Orthopaedic Translation**, v. 13, p. 41-49, 2018. https://doi.org/10.1016/j.jot.2018.02.001.

WANG, J., JIANG, N., CAI, Z., LI, W., LI, J., LIN, X., XIE, Z., YOU, L., & ZHANG, Q. Sodium hyaluronate-functionalized urea-formaldehyde monolithic column for hydrophilic in-tube solid-phase microextraction of melamine.. **Journal of chromatography**. A, v. 1515, p. 54-61, 2017 . https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.08.005.

WANG, J.; LU, L.; QI, J.; ZHAO, N.; WANG, C. Injectable Hydrogels for Spinal Cord Regeneration and Functional Recovery. **Journal of Orthopaedic Translation**, v. 32, p. 11-19, 2022.

WANG, L.; PAN, H.; GU, D.; SUN, H.; CHEN, K.; TAN, G.; PAN, W. A novel carbon dots/thermo-sensitive in situ gel for a composite ocular drug delivery system:
Characterization, ex-vivo imaging and in vivo evaluation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 18, 2021.

WANG, M.; DA, L.; XIE, Y.; XIE, H. [Application of genipin for modification of natural biomaterials as a crosslinking agent]. **Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi**, v. 27, n. 5, p. 580-5, 2013.

WANG, M.; LIN, S.; LIU, M.; JIAO, J.; MI, H.; SUN, J.; LIU, Y.; GUO, R.; LIU, S.; FU, H.; YANG, Y.; LI, R. An injectable and rapidly degraded carboxymethyl chitosan/polyethylene glycol hydrogel for postoperative antiadhesion. **Chemical Engineering Journal**, v. 463, n. March, p. 142283-142283, 2023.

WANG, S. S. S.; HSIEH, P.-L.; CHEN, P.-S.; CHEN, Y.-T.; JAN, J.-S. Genipin-crosslinked poly(I-lysine)-based hydrogels: Synthesis, characterization, and drug encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 111, p. 423-431, 2013.

WANG, Y.; LI, L.; MA, Y.; TANG, Y.; ZHAO, Y.; LI, Z.; PU, W.; HUANG, B.; WEN, X.; CAO, X. Multifunctional supramolecular hydrogel for prevention of epidural adhesion after laminectomy. **ACS Nano**, v. 14, n. 7, p. 8202-8219, 2020.

WANG, Y., LIANG, M., ZHENG, Z., SHI, L., SU, B., LIU, J., KAPLAN, D., ZHANG, B., & WANG, X. Adhesion Prevention after Laminectomy Using Silk-Polyethylene Glycol Hydrogels. **Advanced Healthcare Materials**, v. 14, ed. 7, p. 8202–8219, 2015.

WANG, Y.; PANG, X.; LUO, J.; WEN, Q.; WU, Z.; DING, Q.; ZHAO, L.; YANG, L.; WANG, B.; FU, S. Naproxen Nanoparticle-Loaded Thermosensitive Chitosan Hydrogel for Prevention of Postoperative Adhesions. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 5, n. 3, p. 1580-1588, 2019.

WARD, B. C.; PANITCH, A. Abdominal adhesions: Current and novel therapies. **Journal of Surgical Research**, v. 165, n. 1, p. 91-111, 2011.

WATTERS, W. C.; BONO, C. M.; GILBERT, T. J.; KREINER, D. S.; MAZANEC, D. J.; SHAFFER, W. O.; TOTON, J. F. Diagnosis and treatment of lumbar disc herniation. **The Spine Journal**, v. 9, p. 530-534, 2009.

WEIS, M.; SHAN, J.; KUHLMANN, M.; JUNGST, T.; TESSMAR, J.; GROLL, J. Evaluation of Hydrogels Based on Oxidized Hyaluronic Acid for Bioprinting. **Gels**. 4 2018.

WENG, L.; PAN, H.; CHEN, W. Self-crosslinkable hydrogels composed of partially oxidized hyaluronan and gelatin: in vitro and in vivo responses. **J Biomed Mater Res A**, v. 85, n. 2, p. 352-65, 2008.

WÓJCIK-PASTUSZKA, D.; SKRZYPCZYK, A.; MUSIAŁ, W. The Interactions and Release Kinetics of Sodium Hyaluronate Implemented in Nonionic and Anionic Polymeric Hydrogels, Studied by Immunoenzymatic ELISA Test. **Pharmaceutics**. 14 2022.

WU, C., HUANG, Y., LEE, J., TAI, T., WU, P., & JOU, I. Efficacy of topical crosslinked hyaluronic acid hydrogel in preventing post laminectomy/laminotomy fibrosis in a rat model. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 34, p. 299-306, 2016.

WU, J.; WANG, Z.; XU, S.; CHEN, Y.; GAO, X. Injectable Thermo-Sensitive Hydrogel Promotes Functional Recovery After Spinal Cord Injury in Rats. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 674980, 2021. XU, J.; LIU, Y.; HSU, S. H. J. M. Hydrogels Based on Schiff Base Linkages for Biomedical Applications. **Molecules.** v. 24, 2019.

YEO, Y.; HIGHLEY, C. B.; BELLAS, E.; ITO, T.; MARINI, R.; LANGER, R.; KOHANE, D. S.; LIU, Y.; LI, H.; SHU, X. Z.; GRAY, S. D.; PRESTWICH, G. D.; YEO, Y.; ITO, T.; BELLAS, E.; HIGHLEY, C. B.; MARINI, R.; KOHANE, D. S.; TAN, H.; CHU, C. R.; PAYNE, K. A.; MARRA, K. G. Injectable in situ forming biodegradable chitosanhyaluronic acid based hydrogels for cartilage tissue engineering. **Biomaterials**, v. 245, n. 27, p. 819-824, 2006.

YEO, Y.; ITO, T.; BELLAS, E.; HIGHLEY, C. B.; MARINI, R.; KOHANE, D. S. In situ cross-linkable hyaluronan hydrogels containing polymeric nanoparticles for preventing postsurgical adhesions. **Annals of Surgery,** v. 245, n. 5, p. 819-824, 2007.

YOU, B.; LI, Q.; DONG, H.; HUANG, T.; CAO, X.; LIAO, H. Bilayered HA/CS/PEGDA hydrogel with good biocompatibility and self-healing property for potential application in osteochondral defect repair. **Journal of Materials Science & Technology,** v. 34, n. 6, p. 1016-1025, 2018.

YU, Y.; XU, S.; LI, S.; PAN, H. Genipin-cross-linked hydrogels based on biomaterials for drug delivery: a review. **Biomater Sci**, v. 9, n. 5, p. 1583-1597, 2021.

ZHANG, H.; LIN, X.; CAO, X.; WANG, Y.; WANG, J.; ZHAO, Y. Developing natural polymers for skin wound healing. **Bioact Mater,** v. 33, p. 355-376, 2024.

ZHANG, H.; WU, Z.; ZHOU, J.; WANG, Z.; YANG, C.; WANG, P.; FAREED, M. S.; HE, Y.; SU, J.; CHA, R.; WANG, K. The Antimicrobial, Hemostatic, and Anti-Adhesion Effects of a Peptide Hydrogel Constructed by the All-d-Enantiomer of Antimicrobial Peptide Jelleine-1. **Adv Healthc Mater**, v. 12, n. 29, p. e2301612, 2023

ZHANG, J.; XU, L.; WONG, W. Y. J. C. C. R. Energy materials based on metal Schiff base complexes. v. 355, p. 180-198, 2018.

ZHOU, Z; GAO, M; WEI, F; LIANG, J; DENG, W; DAI, X; ZHOU, G; ZOU, X. SHOCK absorbing function study on denucleated intervertebral disc with or without hydrogel injection through static and dynamic biomechanical tests in vitro. **Biomed Res Int.** 2014.

ZHENG, M., ZHANG, H., & XU, D. Initial Events in the Degradation of Hyaluronan Catalyzed by Hyaluronate Lyase from Spectrococcus pneumoniae: QM/MM Simulation. **The Journal of Physical Chemistry**, 2012.

ZHENG, J.; LI, K.; LI, Y.; JIANG, G. Preparation and characterization of carboxymethyl chitosan/k-carrageenan/silver nanoparticles sponge for wound dressing. **Materials Today Communications**, v. 35, p. 105818, 2023.

ZHENG, Z.; ZHANG, W.; SUN, W.; LI, X.; DUAN, J.; CUI, J.; FENG, Z.; MANSOUR, H. M. Influence of the carboxymethyl chitosan anti-adhesion solution on the TGF-β1 in a postoperative peritoneal adhesion rat. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine,** v. 24, n. 11, p. 2549-2559, 2013.

ZHONG, Y.; HU, H.; MIN, N.; WEI, Y.; LI, X.; LI, X. Application and outlook of topical hemostatic materials: a narrative review. **Ann Transl Med,** v. 9, n. 7, p. 577, 2021.

ZHOU, J.; ZHANG, H.; FAREED, M. S.; HE, Y.; LU, Y.; YANG, C.; WANG, Z.; SU, J.; WANG, P.; YAN, W. An injectable peptide hydrogel constructed of natural

antimicrobial peptide J-1 and ADP shows anti-infection, hemostasis, and antiadhesion efficacy. **ACS Nano**, v. 16, n. 5, p. 7636-7650, 2022.

ZHOU, M.; LIAO, J.; LI, G.; YU, Z.; XIE, D.; ZHOU, H.; WANG, F.; REN, Y.; XU, R.; DAI, Y.; WANG, J.; HUANG, J.; ZHANG, R. Expandable carboxymethyl chitosan/cellulose nanofiber composite sponge for traumatic hemostasis. **Carbohydrate Polymers,** v. 294, n. June, p. 119805-119805, 2022.