



**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 pós-laminectomia 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. I. Título

21. ed. CDD 660.284

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.

BANCA EXAMINADORA

Aprovada em: 13/11/2024.

Documento assinado eletronicamente por:

- **Maria Roberta de Oliveira Pinto** (768.733.154-00), em **22/11/2024 13:18:40** com chave **6fa753cca8ed11ef99fb2618257239a1**.
- **Milena Costa da Silva Barbosa** (088.895.774-28), em **22/11/2024 13:42:32** com chave **c4f87fcea8f011ef865a06adb0a3afce**.
- **Deoclecio Ferreira de Brito** (091.403.587-80), em **22/11/2024 16:47:44** com chave **a4a9cf6aa90a11efb89906adb0a3afce**.

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:** Termo de Aprovação de Projeto
Final

Data da Emissão: 22/11/2024

Código de Autenticação: 8bceee



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-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.....	16
Figura 2- Representação de uma coluna vertebral antes e depois após a laminectomia.....	18
Figura 3- Estrutura do hialuronato de sódio.	22
Figura 4- Síntese do hidrogel O-CMCS/HA-O.....	29
Figura 5- Reação do hialuronato de sódio hidrolisado com periodato de sódio, gerando o hialuronato de sódio oxidado (HA-O).....	35
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.	36
Figura 8- Reação entre a genipina (G) e o ácido glutâmico (Glu) para obtenção do reticulante azul (RA).....	36
Figura 9- Espectros do FTIR dos pós de hialuronato de sódio (HA) e do hialuronato de sódio oxidado (HA-O).....	37
Figura 10- Espectros do FTIR do reticulante azul a base de genipina (G) e ácido glutâmico (Glu).	39
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.....	41
Figura 13- Reação de reticulação dos hidrogéis O-CMCS/HA-O com reticulante azul (RA).....	42
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 autorreparação.	47
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.....	48

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.....	50
Figura 19- Gráfico de injetabilidade dos hidrogéis com reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA).....	51
Figura 20- Imagens de Microscopia Ótica (a) controle positivo e (b) controle negativo.	54
Figura 21- Ausência de descolorimento 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).....	55
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.....	56
Figura 23- Esquema representativo do teste de pressão de ruptura.	56

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 ágar.....	34
Tabela 3- Dados de pH e tempo de gelificação dos hidrogéis sem e com reticulante azul.....	43
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).....	52
Tabela 5- Resultados do teste de difusão em ágar.....	53

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 \rightarrow 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
PBS	Tampão fosfato salino
pH	Potencial hidrogeniônico
PEG	Polietileno glicol
RA	Reticulante Azul
SCI	Lesões da medula espinal
SUS	Sistema Único de Saúde

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
ω	Frequência angular
δ	Ângulo de fase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2.1	Anatomia da coluna	15
2.2	Tratamentos, Riscos e Sequelas.....	16
2.3	Adesão Pós-Operatória (APO).....	18
2.4	Materiais Poliméricos para Prevenção de Adesão Pós-Operatória	19
2.5	Carboximetilquitosana (CMCS)	20
2.6	Hialuronato de sódio (HA).....	21
2.7	Genipina	24
2.8	Base de Schiff.....	25
3	MATERIAS E METODOLOGIA.....	27
3.1	Materiais	27
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 Azul	28
3.5	Caracterização	29
3.5.1	<i>Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) ..</i>	29
3.5.2	<i>Teste de Tempo de Gelificação</i>	30
3.5.3	<i>Teste de Autorreparação.....</i>	30
3.5.4	<i>Análise Reológica</i>	30
3.5.5	<i>Grau de Intumescimento in Vitro</i>	31
3.5.6	<i>Biodegradação in Vitro.....</i>	31
3.5.7	<i>Atividade Antibacteriana.....</i>	32
3.5.8	<i>Injetabilidade.....</i>	32
3.5.9	<i>Citotoxicidade in Vitro</i>	33
3.5.10	<i>Teste de Pressão de Ruptura.....</i>	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35

4.1.1	<i>FTIR do hialuronato de sódio oxidado (HA-O)</i>	37
4.1.2	<i>FTIR do Reticulante Azul RA</i>	38
4.1.3	<i>FTIR dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA</i>	39
4.2	Tempo de Gelificação dos Hidrogéis de O-CMCS/HA-O.....	42
4.3	Propriedades Viscoelásticas e de Fluxo dos Hidrogéis de O-CMCS/HA-O	43
4.4	Autoreparação dos Hidrogéis de O-CMCS/HA-O.....	46
4.5	Grau de Intumescimento <i>in vitro</i>	47
4.6	Biodegradação <i>in vitro</i>	49
4.7	Injetabilidade.....	50
4.8	Ensaio antimicrobiano <i>in vitro</i>	51
4.9	Ensaio Citotoxicidade <i>in vitro</i>	52
4.10	Teste de Pressão de Ruptura	55
5	CONCLUSÃO	58
	REFERÊNCIAS.....	59

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 (Schoeggli; 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; Hiraizumi *et al.*, 1995). Embora essas soluções sejam promissoras, o uso de reticulantes à base de genipina e ácido glutâmico na prevenção de aderências pós-cirúrgicas 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.*, 2023). 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

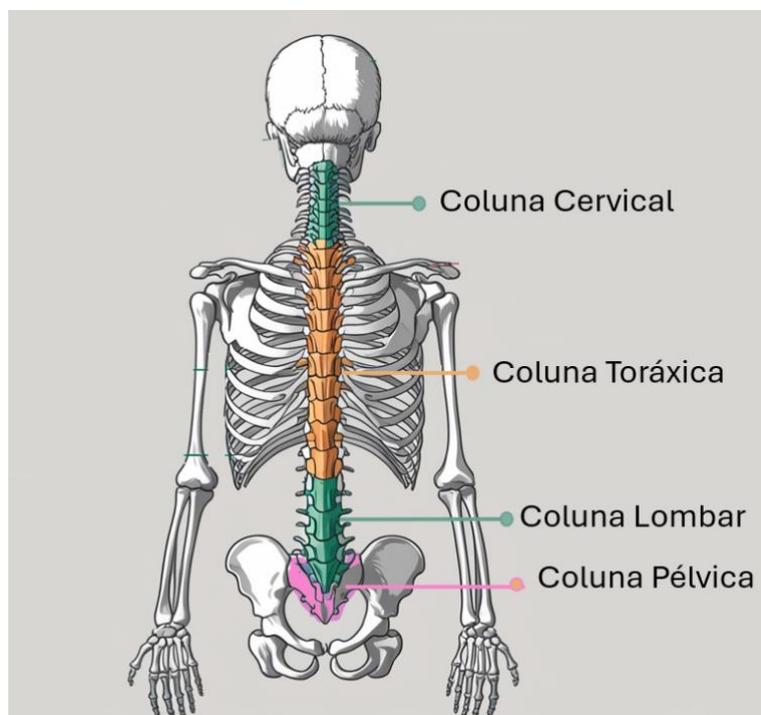
A coluna vertebral é uma estrutura essencial do corpo humano, composta por várias vértebras que se sobrepõem e são conectadas por ligamentos, discos intervertebrais e articulações facetárias. Ela oferece suporte ao tronco, protege a medula espinal e permite grande mobilidade e flexibilidade. A coluna 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 ílfacos 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 anti-inflamatórios, 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).

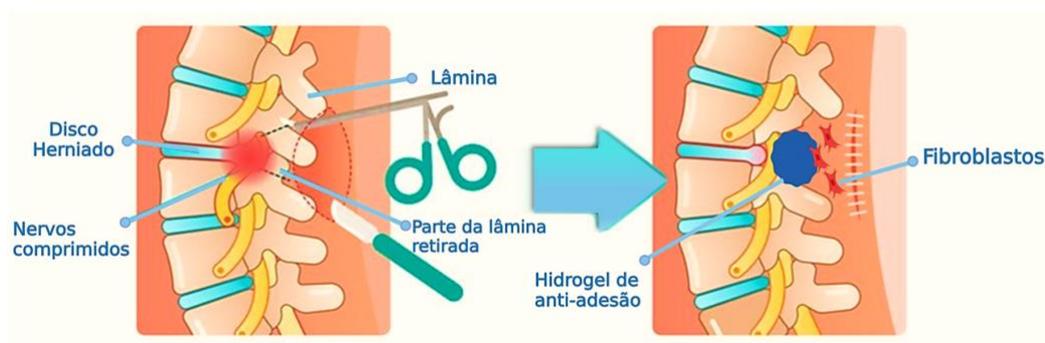
As aderências epidurais estão associadas à inflamação crônica, o que pode levar a uma maior proliferação de fibroblastos e formação de tecido cicatricial. Isso resulta em uma reação em cadeia onde a inflamação perpetua a formação de cicatrizes e vice-versa (Chen *et al.*, 2014).

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

espinal. Isso significa que, após a remoção das lâminas vertebrais para expor a medula espinal, 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) representam uma das complicações mais frequentes após intervenções cirúrgicas. Elas se caracterizam como bandas de tecido fibroso que se desenvolvem de forma atípica, unindo órgãos internos ou tecidos adjacentes que, em condições normais, possuiriam mobilidade livre. Este fenômeno é uma resposta orgânica a traumas cirúrgicos, como lesões, deficiência de oxigênio (isquemia e hipóxia) ou infecções, os quais desencadeiam uma resposta inflamatória persistente. Conseqüentemente, observa-se a proliferação de fibroblastos e a formação de novos vasos sanguíneos (angiogênese), que resultam na fixação das

superfícies peritoneais (Teo et al., 2025; Wang, M. et al., 2023; Guzmán-Valdivia, 2018).

A incidência de APO é notavelmente alta, afetando entre 90% e 93% dos pacientes. As manifestações clínicas podem se apresentar em um período que varia de semanas a anos após o procedimento, que podem se desenvolver em diversos tecidos moles, como o peritônio e o pericárdio, além de ocorrer em pacientes cirúrgicos com infecções e malignidades (Yakimova e Khayatova, 2024; Teo et al., 2025; Wang, M. et al., 2023; Guzmán-Valdivia, 2018).

Li et al. (2021) e Li, Ling *et al.* (2014) 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. Assim, exploraram a utilização de quitosana e ácido hialurônico em hidrogéis, demonstrando potencial antiadesivo significativo.

Diversos biomateriais têm sido empregados com sucesso como barreiras antiadesivas para mitigar a formação de aderências pós-operatórias (APO). A funcionalidade desses materiais reside em sua capacidade de separar fisicamente os tecidos adjacentes, inibir a proliferação de fibroblastos, impedir a adesão de proteínas e atenuar a resposta inflamatória. Para serem considerados eficazes, esses biomateriais precisam ser biocompatíveis e biodegradáveis, sem induzir reações adversas no organismo (Back et al., 2016; Jiang et al., 2022). Entre as estratégias de prevenção, destacam-se as barreiras físicas aprovadas, como o filme de Seprafilm® (ácido hialurônico/carboximetilcelulose) e a celulose oxidada Interceed®, que criam uma separação física entre as superfícies teciduais durante o período crítico de cicatrização. Outra abordagem é o uso de soluções de Icodextrina, que operam por hidroflotação para manter os órgãos distantes (Lima et al., 2024; Teo et al., 2025; Wang et al., 2023).

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).

Além disso, novas tecnologias estão sendo exploradas, incluindo o desenvolvimento de materiais nanotecnológicos, como nanofibras e hidrogéis, que permitem a liberação controlada de agentes terapêuticos. Nanopartículas também se mostram promissoras para o transporte localizado de fármacos anti-inflamatórios. Outras linhas de pesquisa investigam o uso de agentes farmacológicos, como anti-inflamatórios e o plasma rico em plaquetas (PRP), que têm potencial regenerativo e anti-inflamatório. Finalmente, terapias mais avançadas, como a terapia gênica e celular, visam modular os mecanismos moleculares que conduzem à formação de aderências (Teo *et al.*, 2025; Lima *et al.*, 2024; Hassanabad *et al.*, 2021).

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-2-deoxi-D-glucosamina (GlcN) (Gonçalves et al., 2021; Liu et al., 2020).

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 (Gonçalves et al., 2021; Kruczkowska et al., 2024; Yan et al., 2016), liberação de fármacos (Li et al., 2019; Vaghani et al., 2012; Ladeira et al., 2021; Liu et al., 2007), engenharia de tecidos (Upadhyaya et al., 2013; Mo et al., 2022), bioimagem (Wang et al., 2021), adsorção de íons metálicos (Wasikiewicz et al., 2005) 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 (Cheng et al., 2019a; Carmichael et al., 2022; Guo et al., 2023; Gonçalves et al., 2021; Zhao et al., 2013).

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 $-NH_2$ e são influenciadas pelo uso de álcali, como o hidróxido de sódio (NaOH), na reação com ácido monocloracético (Baumann e Faust, 2001; Silva, 2011a).

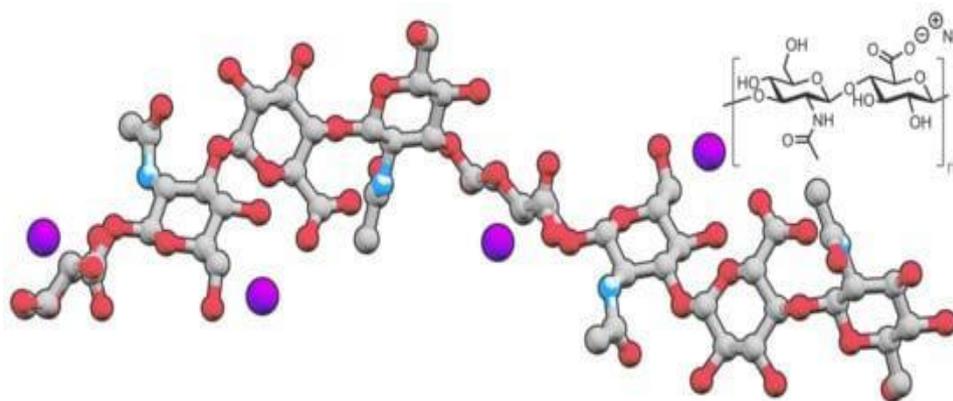
2.6 Hialuronato de sódio (HA)

A fórmula química do hialuronato de sódio, que corresponde ao sal de sódio do ácido hialurônico, é $(C_{14}H_{20}NaO_{11})_n$. 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).

A estrutura do hialuronato de sódio em solução 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 glicosaminoglicano 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, extraída do fruto do jenipapo (*Genipa americana*), destaca-se como um reticulante natural de elevado potencial, em virtude de sua alta reatividade com grupos amina presentes em biopolímeros como colágeno, gelatina e quitosana. Essa interação resulta na formação de redes poliméricas estáveis, com toxicidade consideravelmente inferior à de reticulantes sintéticos, como o glutaraldeído, além de promover melhorias substanciais nas propriedades mecânicas e na estabilidade térmica de scaffolds e hidrogéis. Adicionalmente, a genipina apresenta elevada biocompatibilidade, possibilitando aplicações seguras em engenharia de tecidos e em sistemas de liberação controlada de fármacos, configurando-se como uma alternativa sustentável alinhada aos princípios da química verde (Bi *et al.*, 2011; Brys *et al.*, 2022).

Biomateriais reticulados com genipina têm demonstrado desempenho expressivo na administração de fármacos, abrangendo desde terapias oculares até a veiculação de agentes anti-inflamatórios, devido à combinação de biocompatibilidade e estabilidade estrutural (Hwang *et al.*, 2011; Wang, M. *et al.*, 2013; Montemurro *et al.*, 2017). Trata-se de um reticulante versátil e eficiente, aplicável desde a imobilização de enzimas até a síntese de biomateriais avançados. Evidências apontam que a genipina mantém, e em alguns casos supera, a estabilidade conferida por reticulantes sintéticos, associando segurança e biodegradabilidade. O controle preciso das condições de reação e a avaliação de sua compatibilidade com diferentes matrizes poliméricas são determinantes para otimizar seu uso tanto em escala industrial quanto em aplicações biomédicas (Wang, M. *et al.*, 2013; Fessel *et al.*, 2014; Muzzarelli *et al.*, 2015; Yu *et al.*, 2021; Masri *et al.*, 2022).

Scaffolds formados por quitosana, colágeno e ácido hialurônico reticulados com genipina apresentam resistência mecânica superior e melhor adesão celular,

características ideais para regeneração de cartilagem (Bi et al., 2011). Hidrogéis injetáveis à base de genipina também demonstram capacidade de promover regeneração cartilaginosa, preservando a forma e favorecendo a integração tecidual (Hwang et al., 2011). Nesse sistema, a genipina confere durabilidade e estabilidade estrutural; a quitosana contribui com propriedades antimicrobianas e bioadesivas; e o ácido hialurônico proporciona alta capacidade de hidratação e estímulo à interação celular (Daminato et al., 2022; Bi et al., 2011).

A combinação entre genipina e ácido hialurônico tem sido amplamente estudada, apresentando potencial para aplicações em reconstrução óssea, como demonstrado por Gilarska et al. (2018), tal como para aplicação membranas para cirurgia oral (Meng et al., 2021).

2.8 Base de Schiff

A reação que origina as bases de Schiff foi descrita em 1864 pelo químico alemão Hugo Schiff, que lhe atribuiu o nome. Essas estruturas químicas atuam como ligantes para metais de transição, formando complexos com propriedades catalíticas e eletroquímicas relevantes (Sepelri, 2023). Esses compostos podem ser incorporados a matrizes poliméricas, como na modificação da quitosana para o desenvolvimento de eletrodos sensíveis a íons, resultando em maior seletividade e em limites de detecção reduzidos (Pontes et al., 2023).

As bases de Schiff estão presentes tanto em sistemas biológicos naturais quanto em formas sintéticas obtidas em laboratório, apresentando diversidade estrutural devido à presença de diferentes substituintes alquila ou arila. Quimicamente, são classificadas como iminas, caracterizadas pela ligação dupla carbono–nitrogênio ($-C=N-$), formadas por reações de condensação entre grupos amina primários (RNH_2) e grupos aldeído (COH) (Chaturvedi & Kamboj, 2016; Tacias-Pascacio et al., 2019).

Esses compostos apresentam aplicação em diversos setores científicos e industriais. São empregados como intermediários sintéticos, catalisadores em processos de oxidação, redução e fixação de dióxido de carbono, além de integrarem sensores ópticos e eletroquímicos para detecção de íons e moléculas específicas (Boulechfar et al., 2023). Estudos recentes investigam suas propriedades ópticas não lineares, relevantes para o desenvolvimento de dispositivos fotônicos (Derkowska-

Zielinska et al., 2020). Também são utilizados como pigmentos e estabilizantes de polímeros (De Oliveira, 2023).

No campo farmacológico, as bases de Schiff apresentam atividades antibacteriana, antifúngica, antiviral, anticâncer, anti-inflamatória e antioxidante, sendo estudadas como agentes terapêuticos e antimicrobianos (Raczuk, 2022). Na área biomédica, têm sido aplicadas na formulação de hidrogéis autorreparáveis responsivos a estímulos biológicos, com potencial para uso em sistemas de liberação controlada de fármacos, engenharia de tecidos e cicatrização de feridas (Boulechfar et al., 2023; Jalalvandi et al., 2017; Kohlan et al., 2024; Huang et al., 2022; Jiang et al., 2024)

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 (NaIO_4) 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 (NaIO_4) 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, Beserra *et al.*, 2024). Neste sentido, 5 mL de NaIO_4 (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 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 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 $25^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ 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 (CH_2O) e ácido iodoso (HIO_3) (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).

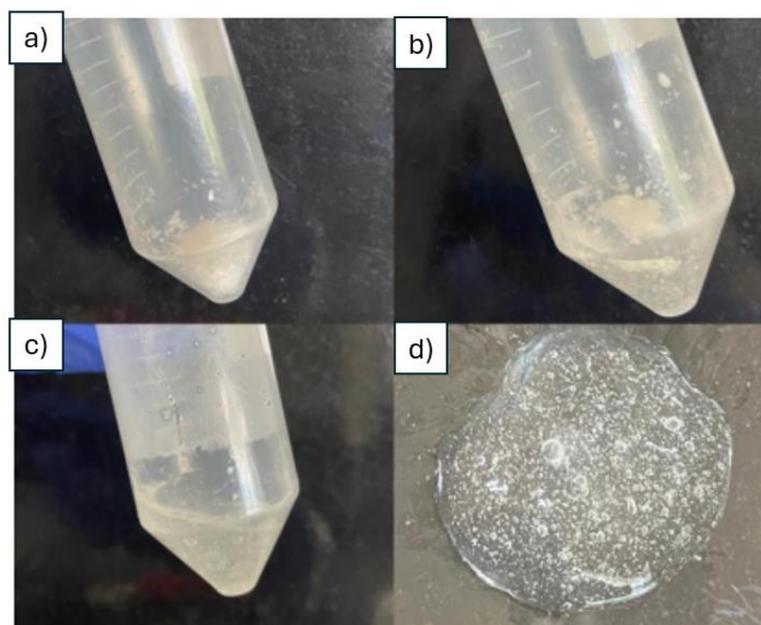
Os hidrogéis de O-carboximetilquitosana com hialuronato de sódio oxidado e reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA) foram preparados de forma semelhante, na proporção de 1/1. Após a obtenção do hidrogel de O-CMCS/HA-O, volumes distintos de reticulante azul foram adicionados às amostras e homogeneizados no vórtex por três minutos. A composição das formulações preparadas está exibida na Tabela 1.

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

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

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 as metodologias descritas por Lü *et al.* (2015), Boul *et al.* (2015) e Resmi *et al.* (2024)..

3.5.3 Teste de Autorreparação

Os hidrogéis foram caracterizados quanto à autorreparação de forma microscópica de acordo com as metodologias adaptadas de You *et al.* (2018), Karvinen *et al.* (2022) e Zhou *et al.* (2021). 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), Altinisik *et al.* (2014), Li, Ling *et al.* (2014), Suneetha *et al.* (2019). Inicialmente, os hidrogéis foram liofilizados por 72 horas e, em seguida, pesados (W_0). 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 (W_t). Utilizando a Equação 1, foi calculado o grau de intumescimento de cada amostra ao longo do tempo (t).

$$\Delta W(\%) = (W_t - W_0) / W_0 \quad \text{Equação 1}$$

Onde, W_t é o peso da amostra no tempo t e W_0 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), Altinisik *et al.* (2014), Li, Ling *et al.* (2014), Suneetha *et al.* (2019). As amostras dos hidrogéis (1 mL cada), dispostas em moldes e liofilizadas por 72 horas, foram divididas em três grupos (Grupo I e Grupo II). 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) contendo 1 mg/mL de lisozima, 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.

$$\Delta W(\%) = (W_t - W_o) / W_o * 100(\%) \quad \text{Equação 2}$$

Onde: W_o 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 \pm 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 (cm^2) 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 Mechanical Testing 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 $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 h. Papéis de filtro com uma área de 100 mm^2 (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 $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ em uma atmosfera com $5\% \pm 1\%$ de CO_2 . As suspensões celulares com concentração de $1,1$ a $1,1 \times 10^5$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. 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.

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

Grau	Reatividade	Descrição da zona de reatividade
0	Nenhum	Nenhuma zona detectável em torno ou abaixo do espécime
1	Leve	Algumas células mal 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

Fonte: ISSO-10993-5.

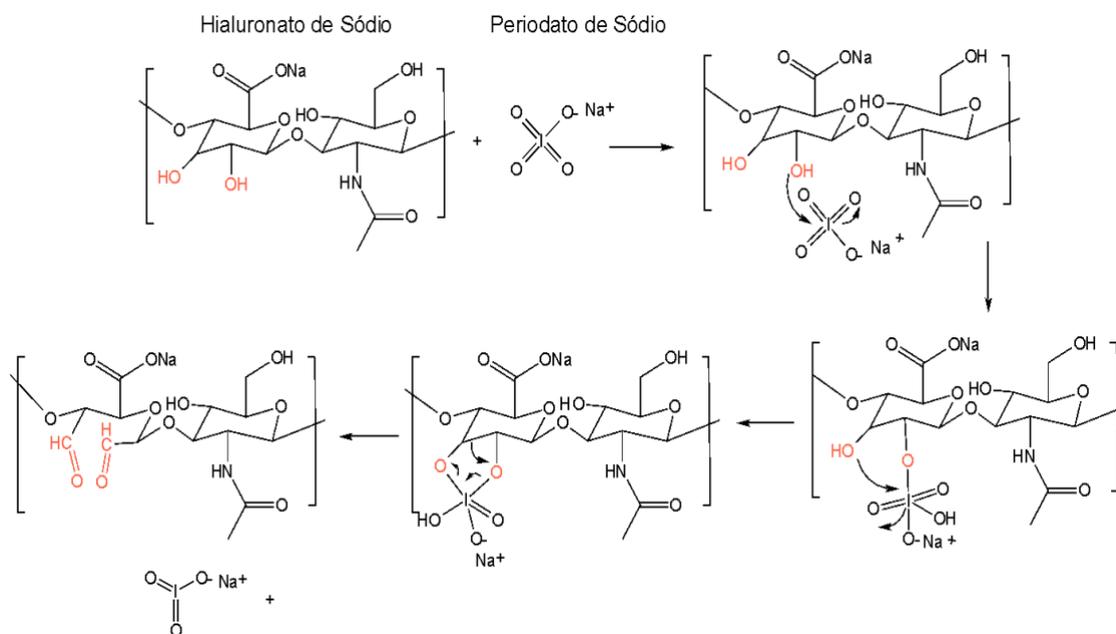
3.5.10 Teste de Pressão de Ruptura

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

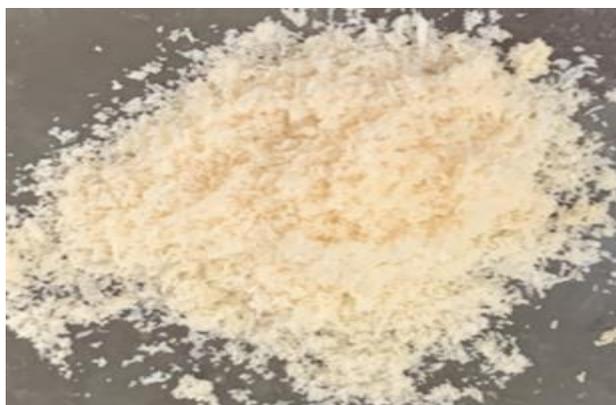
A Figura 5 ilustra a reação entre o hialuronato de sódio previamente hidrolisado e o periodato de sódio, resultando na síntese do hialuronato de sódio oxidado (HA-O). O produto obtido, após o processo de síntese e liofilização, apresentou-se na forma de pó amarelado e isento de odor (Figura 6).

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.

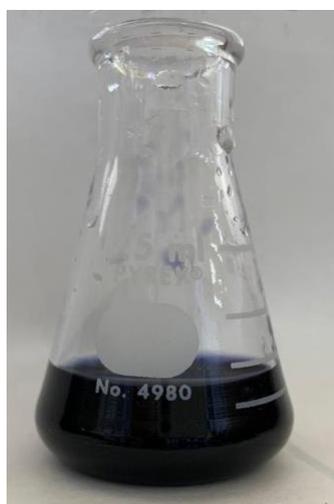
Figura 6- Pó de HA-O após liofilização em placas de Petri e pulverizado (b).



Fonte: Adaptado de Junior et al., 2024.

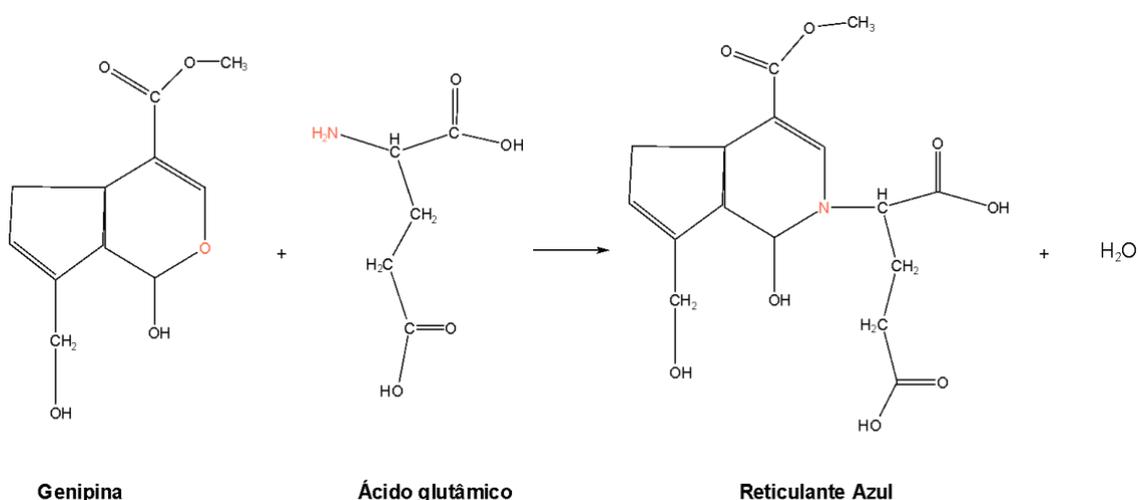
Em uma nova abordagem, foi desenvolvido o reticulante azul (RA), um composto criado a partir da reação entre a genipina (G) e o ácido glutâmico (Glu). Durante o processo de síntese, notou-se a formação de uma marcante coloração azul, ilustrada na Figura 7. A rota sintética completa para a obtenção do RA pode ser consultada na Figura 8. Para o isolamento do material, a mistura reacional foi primeiramente congelada e, em seguida, submetida a um processo de liofilização por 72 horas (utilizando o equipamento Liotop, modelo L108), resultando em um pó que será utilizado nas próximas etapas de 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).



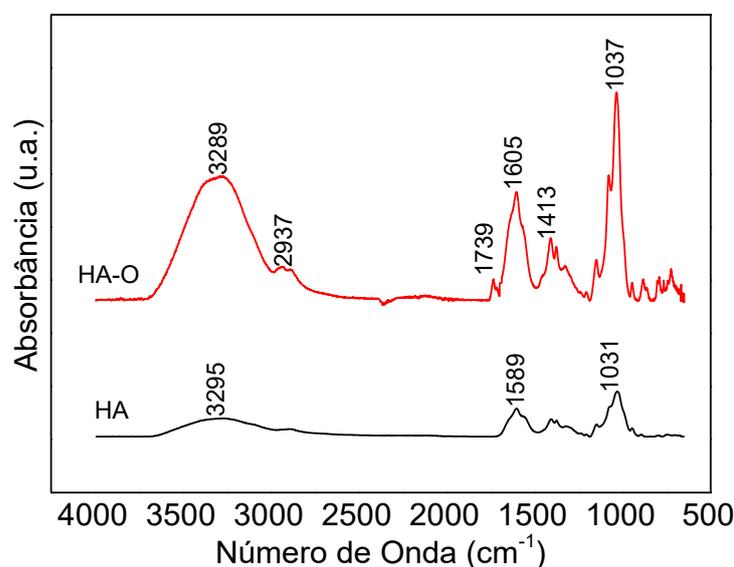
Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

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.

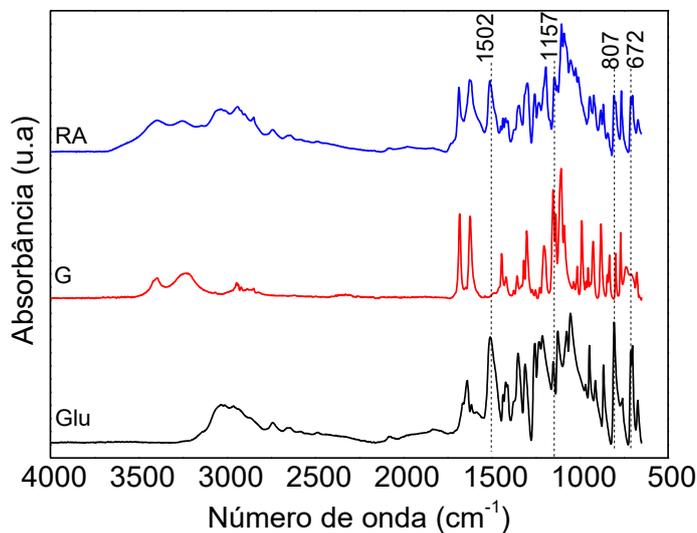
O espectro de FTIR do hialuronato de sódio oxidado (HA-O) (Figura 8) apresentou intensificação de múltiplas bandas quando comparado ao HA original, sem indicar mudanças estruturais significativas. Foram identificados picos em 2923 cm⁻¹, atribuídos ao estiramento C-H, e em 1031 cm⁻¹, referentes às ligações glicosídicas C-O-C, em concordância com Li, Ling et al. (2014). A absorção em 1739 cm⁻¹, característica da vibração C=O de grupos aldeído, confirma a modificação química promovida pela oxidação do HA, resultando na formação do HA-O (Maiz-Fernández et al., 2022).

Embora Nguyen et al. (2018) ressaltem que a presença de grupos aldeído no HA-O possa ser mascarada pela formação de hemiacetais, a amostra obtida neste estudo exibiu nitidamente o pico correspondente ao C=O, evidenciando a eficiência da reação de oxidação conduzida com periodato de sódio. Resultados análogos foram reportados por Li et al. (2019) e Maiz-Fernández et al. (2022), reforçando a reprodutibilidade e confiabilidade do método empregado.

4.1.2 FTIR do Reticulante Azul RA

No espectro do composto conhecido como reticulante azul (RA), obtido a partir da interação entre genipina (G) e ácido glutâmico (Glu) (Figura 3b), foi observada a atenuação parcial das bandas em 1502 cm^{-1} e na faixa entre 750 e 850 cm^{-1} , que são atribuídas à vibração angular N–H da amina primária presente no Glu (Silverstein & Kiemle, 2006; Moura et al., 2011). Essa alteração espectral sugere a ocorrência da reação química entre o grupo amino primário do ácido glutâmico e a funcionalidade éter da genipina, promovendo a formação de uma amina terciária e, conseqüentemente, a supressão da amina primária do Glu. Adicionalmente, a banda detectada em 1157 cm^{-1} parece ser resultado da conjugação dos sinais originalmente localizados em 1159 cm^{-1} e 1123 cm^{-1} , os quais estão associados, respectivamente, às vibrações do anel éter da genipina e ao estiramento C–O do grupo carboxílico do Glu. Deve-se enfatizar que houve uma redução na intensidade desse pico, evidenciando a diminuição da presença do éter cíclico, o que reforça sua participação na síntese do reticulante azul (Junior et al., 2024).

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

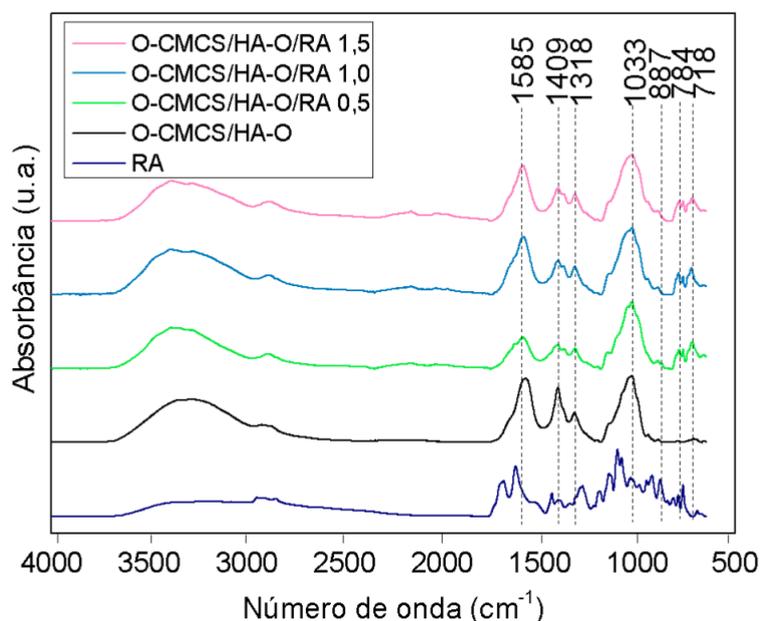


Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

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 ($-\text{CH}=\text{N}-$) nos hidrogéis 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 Karuppanan, 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

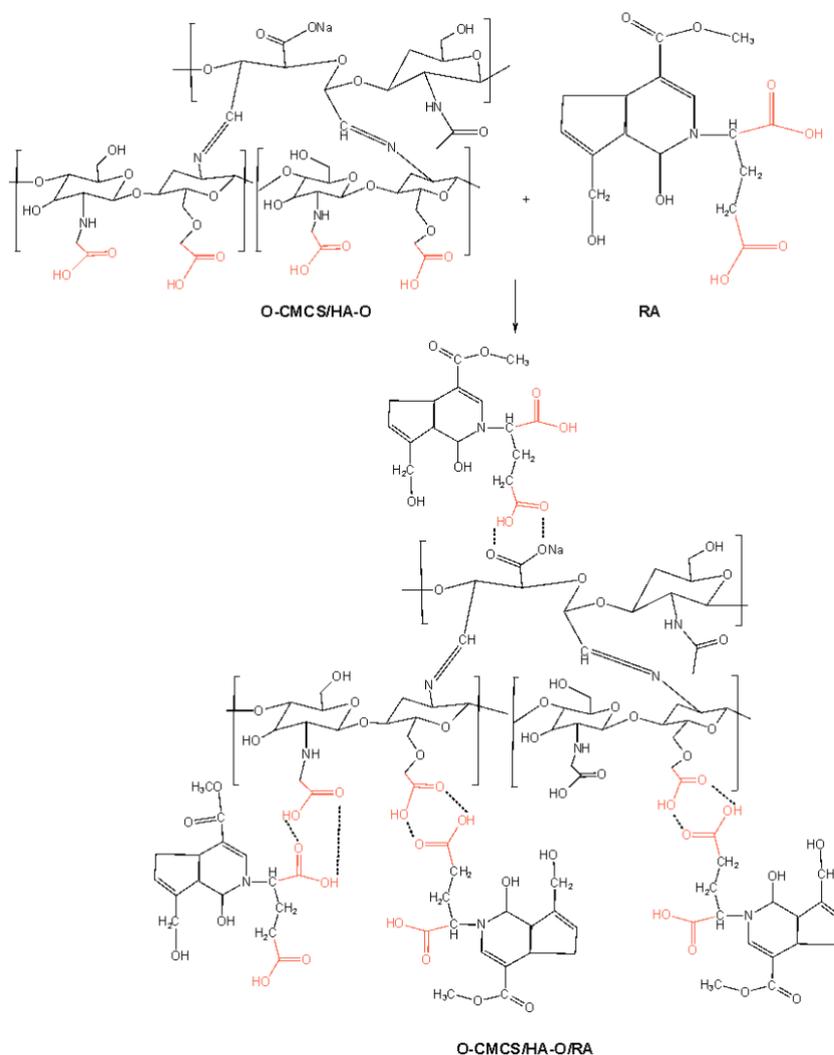
curtos, sendo que o hidrogel com maior concentração de reticulante azul exibiu o menor tempo de reticulação.

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 ($25 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$), 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.

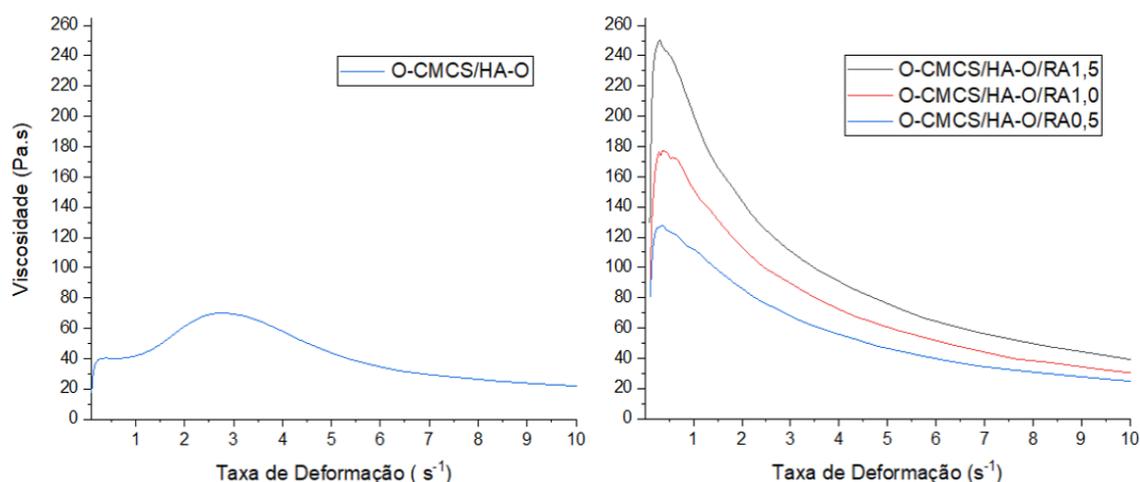
Amostra	pH	Tempo de gelificação (segundos)
O-CMCS/HA-O	7,0-7,5	30-40
O-CMCS/HA-O/RA 0,5	7,0-7,5	20-30
O-CMCS/HA-O/RA 1	7,0-7,5	20-30
O-CMCS/HA-O/RA 1,5	7,0-7,5	10-20

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.

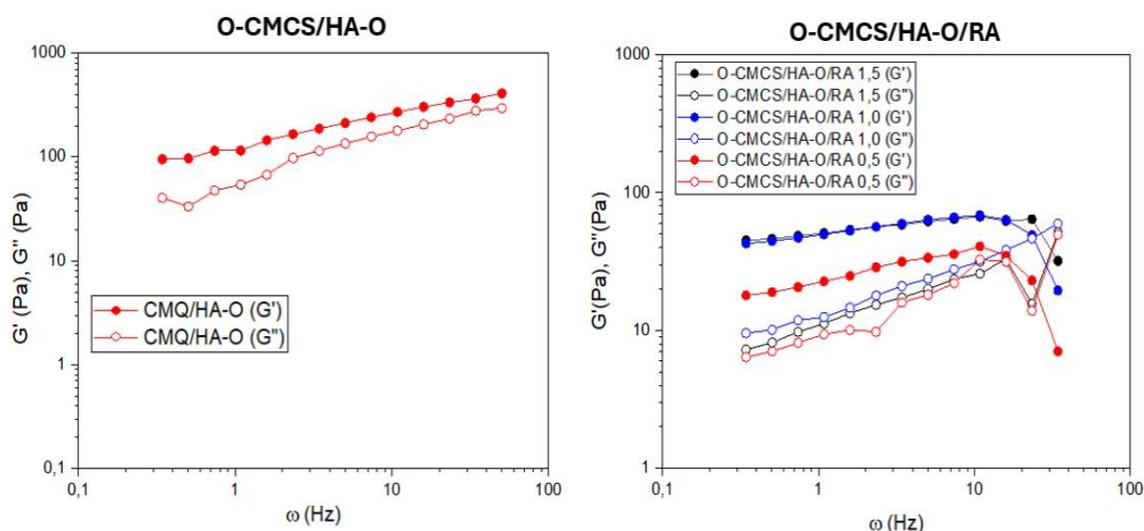
A Figura 14 ilustra a curva de viscosidade (Pa.s) em função da taxa de deformação dos hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA com diferentes concentrações de reticulante azul (1,5; 1,0; 0,5). Observou-se que, para este hidrogel, a viscosidade foi de 40 Pa.s em $0,2\text{s}^{-1}$ e 70 Pa.s a uma taxa de deformação de $3,0\text{s}^{-1}$. 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 $0,2\text{s}^{-1}$, 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 $3,0\text{s}^{-1}$ 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, conseqüentemente, 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 $\tan \delta$ é utilizado para caracterizar esse comportamento: materiais com $\tan \delta < 1$ possuem predominância elástica, exibindo características de gel, enquanto materiais com $\tan \delta > 1$ apresentam maior viscosidade, comportando-se como líquidos viscosos. No presente estudo, os valores de $\tan \delta$ 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).

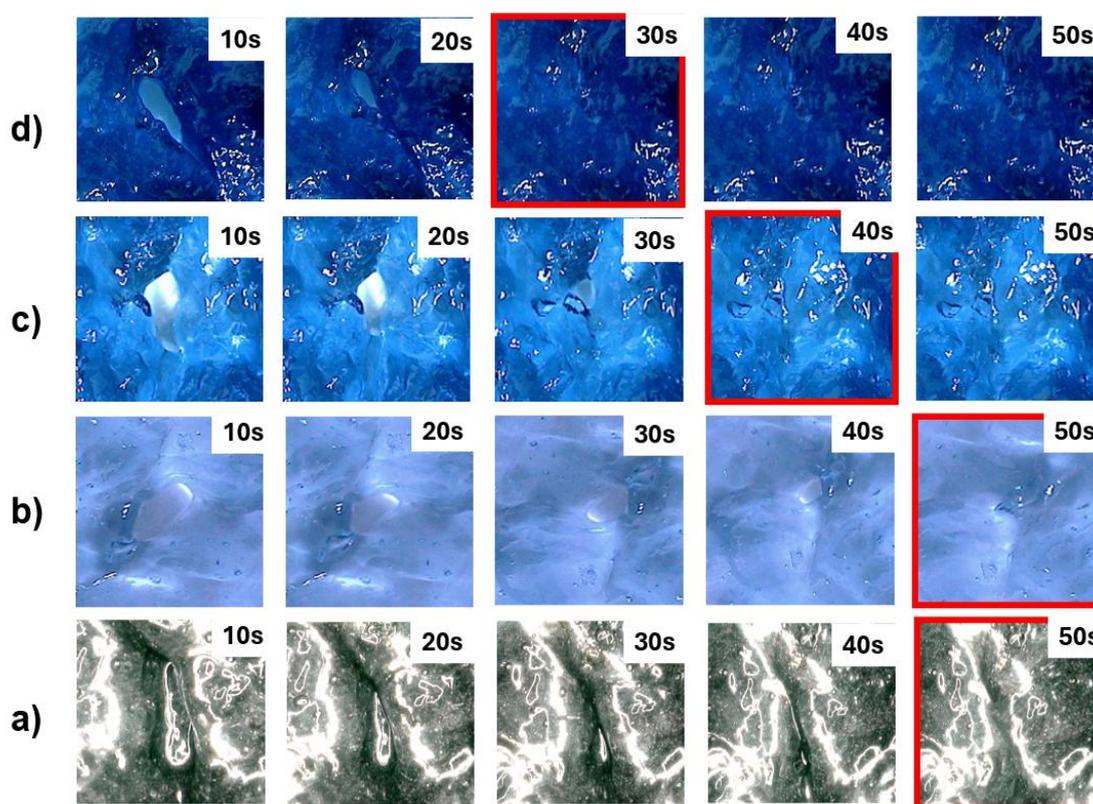
As observações em MO (Figura 16) mostraram que a presença do reticulante azul (RA) influenciou de maneira significativa a capacidade de autorreparação. O hidrogel com menor concentração de RA (O-CMCS/HA-O/RA0,5) (Figura 16b) apresentou um tempo de autorreparação semelhante ao hidrogel sem reticulante 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/lisoenzima pH 7,4 e soro fisiológico pH 5,0), foi determinado, conforme ilustrado na Figura 17.

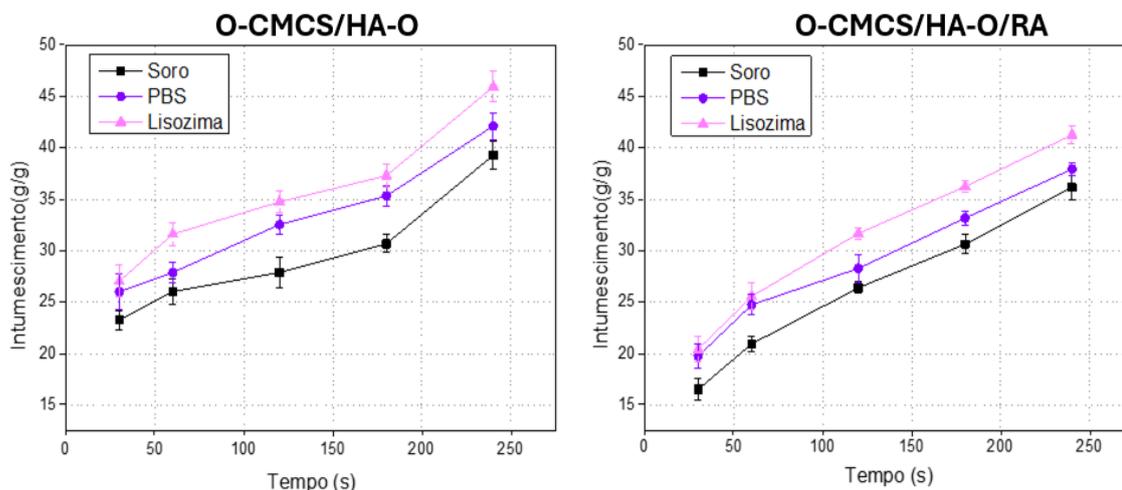
As amostras testadas em soro fisiológico apresentaram uma menor capacidade de intumescimento ao longo do tempo quando comparadas às testadas em solução PBS e PBS/lisozima, evidenciando uma diminuição progressiva na taxa de intumescimento conforme o pH diminuía. Isso sugere que o intumescimento dos hidrogéis 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 $30,6 \pm 0,9$ g/g, $33,2 \pm 0,7$ g/g e $36,2 \pm 0,6$ 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.

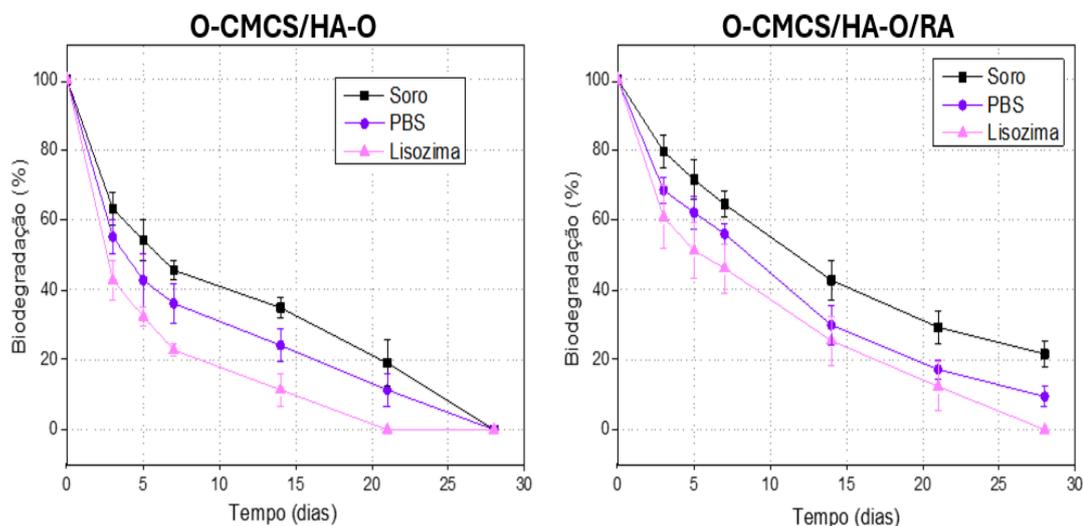
4.6 Biodegradação *in vitro*

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; 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 $19,2 \pm 6,6\%$ de sua massa após 21 dias em soro, $11,4 \pm 4,7\%$ em PBS e foi totalmente degradado em PBS/Lisozima. O O-CMCS/HA-O/RA, por sua vez, perdeu $29,2 \pm 4,7\%$ em soro, $17,2 \pm 3,1\%$ em PBS e $12,3 \pm 7\%$ em PBS/Lisozima, demonstrando uma degradação mais lenta. Após 28 dias, o O-CMCS/HA-O/RA ainda manteve $21,6 \pm 3,8\%$ de sua massa em soro, $9,5 \pm 2,8\%$ 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; Sharifi *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2013).

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.

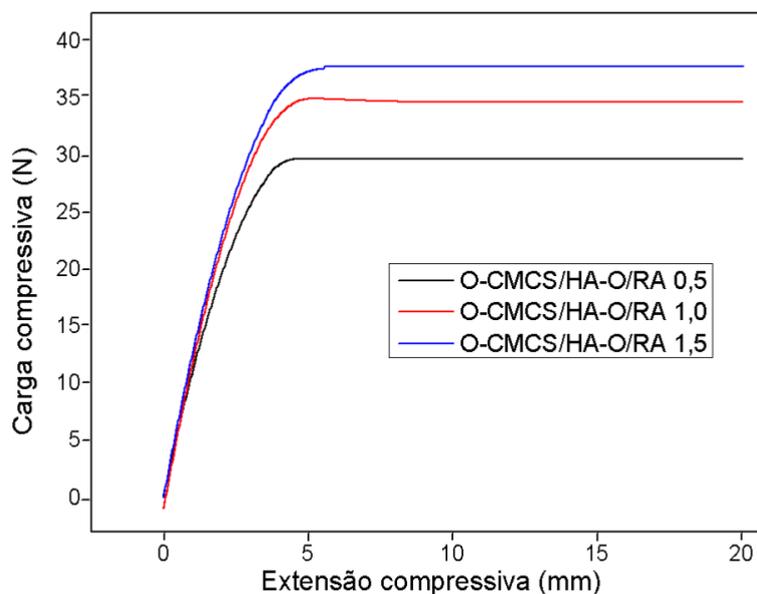


Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

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 obtidos a partir de O-CMCS/HA-O, na ausência ou presença de reticulante azul (RA), foi investigado frente a cepas

representativas de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*). As medidas das zonas de inibição estão compiladas na Tabela 4.

Para fins comparativos, empregou-se um controle positivo, que gerou halos expressivos, confirmando a sensibilidade dos microrganismos ao agente antimicrobiano utilizado, e um controle negativo, no qual não se detectou formação de halo, evidenciando ausência de atividade antimicrobiana espontânea ou contaminação experimental.

Os hidrogéis apresentaram desempenho moderado contra ambas as espécies bacterianas. O material sem reticulante azul (O-CMCS/HA-O) produziu zonas de inibição semelhantes para *S. aureus* (6,0 mm) e *E. coli* (6,2 mm). Com a incorporação do reticulante azul (O-CMCS/HA-O/RA), observou-se comportamento assimétrico: o halo contra *E. coli* aumentou para 7,5 mm, enquanto contra *S. aureus* houve discreta redução para 6,1 mm.

Esse padrão sugere que o reticulante azul pode intensificar a atividade contra bactérias Gram-negativas, possivelmente por interações específicas com a estrutura da membrana externa dessas células, sem provocar ganho equivalente contra Gram-positivas. Essa característica é relevante para aplicações como barreiras pós-cirúrgicas, onde a inibição bacteriana contribui para reduzir riscos de infecção, inflamação local e atrasos no processo de reparo tecidual (Wei et al., 2022; Wahid et al., 2017; Mo et al., 2024; Xu et al., 2024; Zhou et al., 2022; Zhang 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	6,0	6,2
O-CMCS/HA-O/RA	7,5	6,1
Controle positivo	20	18,5
Controle negativo	0,0	0,0

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

4.9 Ensaio Citotoxicidade *in vitro*

A avaliação da citotoxicidade in vitro dos hidrogéis de O-CMCS/HA-O, formulados sem e com reticulante azul (RA), foi conduzida utilizando-se o ensaio de difusão em ágar com células L929. A análise baseou-se na mensuração do diâmetro da zona de inibição formada ao redor de cada amostra após 24 horas de incubação. Os valores obtidos, assim como a classificação qualitativa de citotoxicidade para os controles positivo e negativo e para os hidrogéis testados, encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5- Resultados do teste de difusão em ágar.

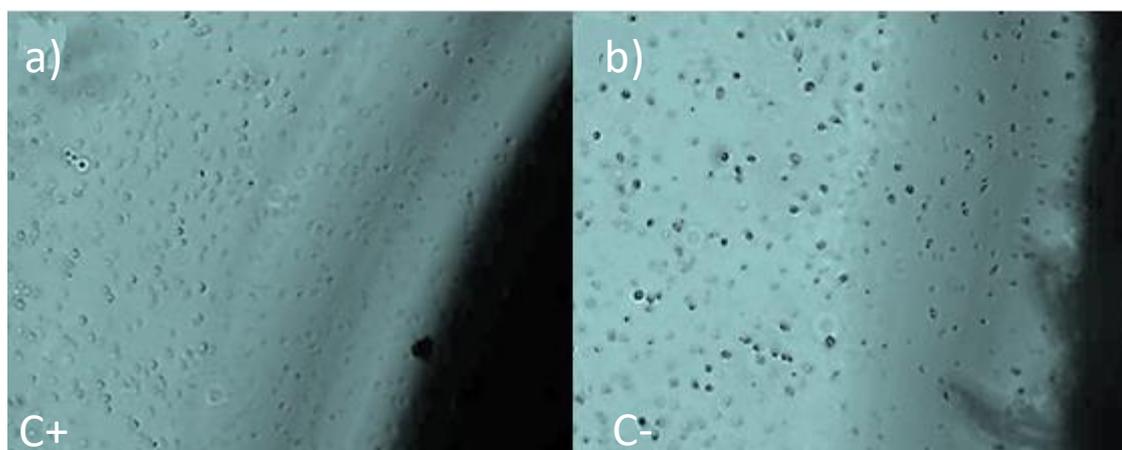
Amostra	Zona de Inibição (mm)	Zona de Inibição (mm)
O-CMCS/HA-O	0,0	Não citotóxico
O-CMCS/HA-O/RA	0,0	Não citotóxico
Controle positivo	4,5	Citotoxicidade moderado
Controle negativo	0,0	Não citotóxico

Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

De acordo com a norma ISO 10993-5 (Tabela 2), halos com diâmetro de até 1,0 cm são classificados como apresentando citotoxicidade moderada (grau 3). Assim, a zona de branqueamento observada no controle positivo, de 0,45 cm (Tabela 5), confirmou uma citotoxicidade de grau moderado Figura 20(a). Observou-se 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, por outro lado, verificou-se a manutenção da coloração vermelha no citoplasma das células (Figura 20b), sem evidência de lise celular ou formação de halo, confirmando a ausência de efeito citotóxico.

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

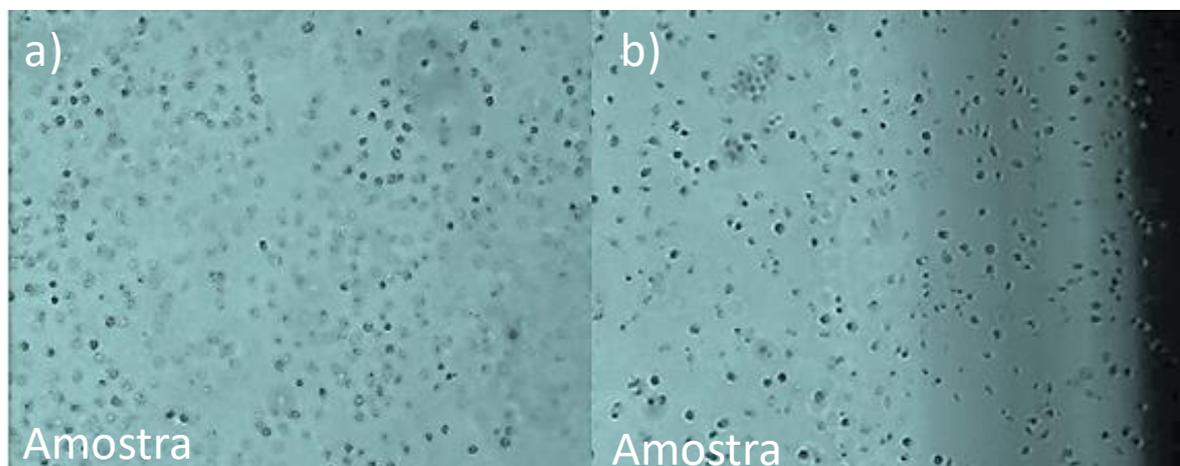


Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Nos ensaios realizados com os hidrogéis O-CMCS/HA-O e O-CMCS/HA-O/RA, não foram observadas zonas de inibição ou alterações morfológicas nas células, tampouco houve descoloração do corante, apresentando comportamento equivalente ao do controle negativo (Figuras 21a e 21b). Esses resultados sugerem que, independentemente da presença do reticulante azul, os hidrogéis não exibem efeitos citotóxicos sobre a linhagem L929, evidenciando seu potencial como materiais de barreira destinados à prevenção de aderências pós-cirúrgicas.

Tais constatações encontram respaldo na literatura, que relata ausência de citotoxicidade em sistemas à base de carboximetilquitosana (Peng & Mu, 2010; Wang et al., 2023; Weng et al., 2008; Lai & Ma, 2017; Li, X. et al., 2012; Sun et al., 2021), hialuronato de sódio oxidado (Li, C. et al., 2023; Roether et al., 2019; Nie et al., 2020) e genipina (Ishihara et al., 2023; Muzzarelli et al., 2016; Sung et al., 1999; Tsai et al., 2000). Esses achados reforçam a segurança e a biocompatibilidade dos materiais investigados, corroborando sua adequação para aplicações biomédicas. A ausência de efeitos citotóxicos constitui um indicativo promissor para o desenvolvimento clínico desses hidrogéis, oferecendo uma alternativa segura e eficaz para a prevenção de aderências pós-operatórias.

Figura 21- Ausência de descoloramento 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).

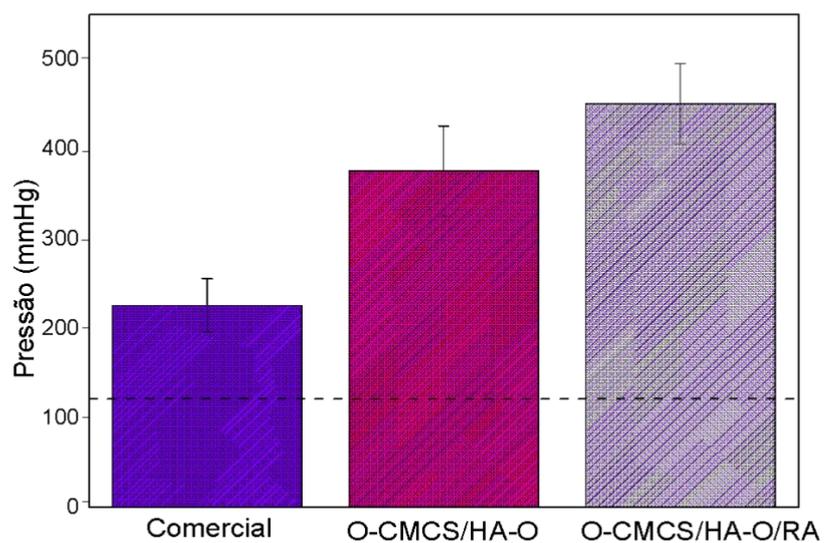


Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

4.10 Teste de Pressão de Ruptura

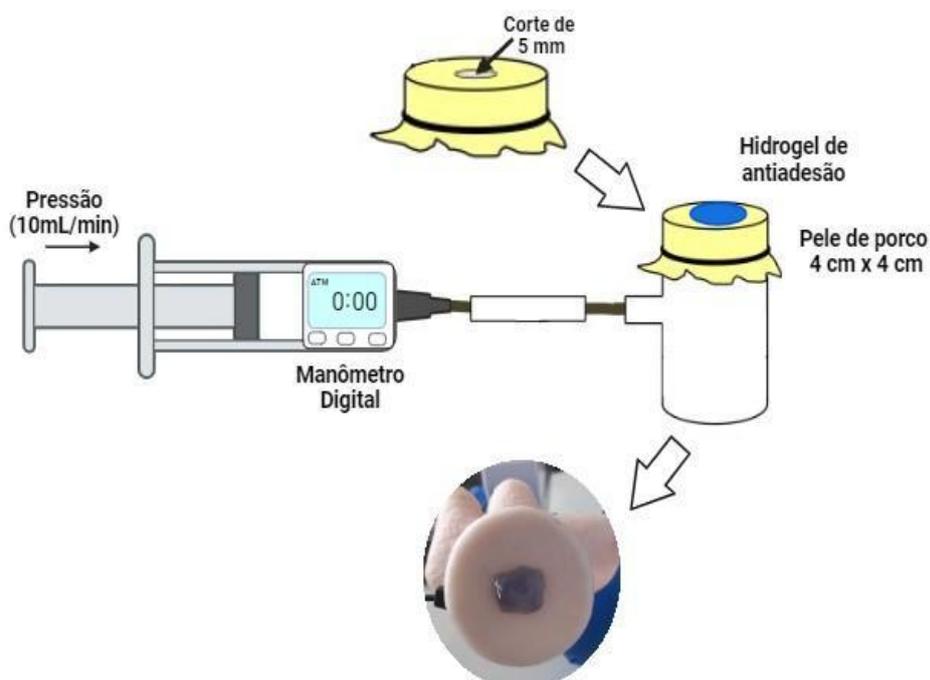
A força de adesão do hidrogel é um dos fatores mais importantes para formar uma barreira antiadesão entre os tecidos, pois o hidrogel precisa aderir rapidamente para interromper a formação de fibroblastos entre eles. Esse teste é relevante para investigar a capacidade desses hidrogéis de suportar a pressão arterial, enquanto aderem rapidamente às paredes do tecido (Figura 23) (Hong *et al.*, 2019; Gowda *et al.*, 2020).

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 (Wang *et al.*, 2021; Pang *et al.*, 2020; 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; Yang *et al.*, 2024; Ji *et al.*, 2021), 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 demonstraram 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.
- ALTINISIK, A.; YURDAKOC, K. Chitosan/poly (vinyl alcohol) hydrogels for amoxicillin release. **Polymer Bulletin**, v. 71, n. 3, p. 759-774, 2014.
- ATKINS, E., & SHEEHAN, J. Hyaluronates: Relation between Molecular Conformations. **Science**, n. 179, p. 562-564, 1973.
- 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.
- 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.
- 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 self-gelling, 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.

- BI, L.; CAO, Z.; HU, Y.; SONG, Y.; YU, L.; YANG, B.; Mu, J., Huang, Z., HAN, Y. Effects of different cross-linking conditions on the properties of genipin-cross-linked chitosan/collagen scaffolds for cartilage tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 22, n. 1, p. 51-62, 2011.
- BOULECHFAR, C.; FERKOUS, H.; DELIMI, A.; DJEDOUANI, A.; KAHLOUCHE, A.; BOUBLIA, A.; DARWISH, A.; LEMAOUI, T.; VERMA, R.; BENGUERBA, Y. Schiff bases and their metal complexes: A review on the history, synthesis, and applications. *Inorganic Chemistry Communications*, 2023.
- BOUL, P. J.; YE, A.; PANG, X.; GOEL, V.; EOFF, L.; REDDY, B. R. Nanosilica-based conformance gels. In: SPE European Formation Damage Conference and Exhibition, June 2015, p. SPE-174265.
- BRYŚ, M.; URBAŃSKA, K.; OLAS, B. Novel findings regarding the bioactivity of the natural blue pigment genipin in human diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, 2022.
- 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.; GHAFAR, R.; BALUCH, A. H.; SALEEM, M.; GHAFAR, A. Moringa oleifera/chitosan-coated silk sutures for improved wound healing. *Materials Chemistry and Physics*, v. 313, p. 128737, 2024.
- 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.
- 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.

CRAMER, G., & DARBY, S. Basic and clinical anatomy of the spine, spinal cord, and ANS. 1995.

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.

DAMINATO, E.; BIANCHINI, G.; CAUSIN, V. New directions in aesthetic medicine: A novel and hybrid filler based on hyaluronic acid and lactose modified chitosan. **Gels**, v. 8, n. 5, p. 326, 2022.

DE OLIVEIRA, S. Introdução à Base Schiff. E-books IntechOpen, 2023.

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.

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.

FRIGAARD, J.; JENSEN, J.; GALTUNG, H.; HIORTH, M. The potential of chitosan in nanomedicine: an overview of the cytotoxicity of chitosan-based nanoparticles. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 2022.

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 $[M(H_2O)_6](1,3\text{-diethyl-2-thiobarbiturate})_2 \cdot 2H_2O$ ($M=Co^{2+}, Ni^{2+}$): 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.

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.

GUZMÁN-VALDIVIA, G.; TENA-BETANCOURT, E.; MARTÍNEZ DE ALVA CORIA, P. Postoperative abdominal adhesions: pathogenesis and current preventive techniques. **World Journal of Surgery Research**, v. 1, n. 1, p. 1008, 2018.

HASSANABAD, F., ZARZYCKI, A., JEON, K., DENISET, J., & FEDAK, P. Aderências Pós-Operatórias: Uma Revisão Abrangente dos Mecanismos. **Biomedicines**, v. 9., 2021.

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.

HUANG, F.; CHEN, J.; MAO, X.; TANG, S. Preparation and biological properties of Schiff-base hydrogels crosslinked by benzaldehyde substituted agarose oligosaccharides. **Reactive and Functional Polymers**, v. 193, p. 105745, 2023.

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.

ISHIHARA, S.; KUROSAWA, H.; HAGA, H. Modulação da rigidez de géis de colágeno por reticulação com genipina para cultura celular. **Gels**, v. 9, 2023.

JALALVANDI, E.; HANTON, L. R.; MORATTI, S. C. Schiff-base based hydrogels as degradable platforms for hydrophobic drug delivery. **European Polymer Journal**, v. 90, p. 13-24, 2017.

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.

- JI, C.; WANG, N.; SHI, J.; HUANG, Z.; CHEN, S.; WANG, G.; WU, S.; JONAS, J. Systolic blood pressure within the normal range and cardiovascular event risk in the absence of risk factors in Chinese adults. **Journal of Human Hypertension**, v. 36, p. 933-939, 2021.
- 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, H.; XIAO, Y.; HUANG, H.; YIN, W.; LANG, M. An injectable, adhesive, and self-healing hydrogel with inherently antibacterial property for wound dressing. **Macromolecular Bioscience**, v. 24, n. 2, p. 2300282, 2024.
- 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.
- JUNIOR, I. M. B.; LOPES, D. S.; BARBOSA, M. C. S.; SILVA NETO, J. E.; SILVA, H. N.; LIA FOOK, M. V.; NAVARRO, R. F.; SILVA, S. M. L. Rheological characterization of genipin-based crosslinking pigment and O-carboxymethyl chitosan-oxidized hyaluronic acid in situ formulable hydrogels. **Polymers**, v. 16, n. 18, p. 2615, 2024.
- 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 biomembrane-mimicking polymers for anti-adhesion activity. **Materials Science and Engineering: C**, v. 120, p. 111780, 2021.
- KARVINEN, J.; KELLOMÄKI, M. Characterization of self-healing hydrogels for biomedical applications. **European Polymer Journal**, v. 181, p. 111641, 2022.
- 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.; CENGİZ, H.; YILDIZ, Ş.; EKİN, 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., ŞİMŞEK, 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.
- 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.; JEZIEŃSKA, 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.
- KRUCZKOWSKA, W. et al. Medical applications and cellular mechanisms of action of carboxymethyl chitosan hydrogels. **Molecules**, v. 29, n. 18, p. 4360, 2024.
- KOHLAN, T. B.; WEN, Y.; MINI, C.; FINNE-WISTRAND, A. Schiff base crosslinked hyaluronic acid hydrogels with tunable and cell instructive time-dependent mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 338, p. 122173, 2024.
- 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, **American Institute of Physics** n. 1027, p. 585-587, 2008.
- LADEIRA, N. M. B.; DONNICI, C. L.; DE MESQUITA, J. P.; PEREIRA, F. V. Preparação e caracterização de hidrogéis obtidos a partir de quitosana e carboximetilquitosana. **Journal of Polymer Research**, v. 28, n. 9, p. 335, 2021.
- 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.
- LI, C.; WANG, K.; LI, F.; XIE, D. Green fabrication, characterization, and antimicrobial activities of AgO/Ag/carboxymethyl chitosan-graphene oxide films. **Arabian Journal of Chemistry**, 2023.
- 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, 2017.
- 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.

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.

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.

LIMA, S. R. O. S.; KANEMITSU, K.; RASHID, M.; PATEL, V. K.; ALI, M. Long-term efficacy and safety of adhesion prevention agents in abdominal and pelvic surgeries: a systematic review. **Cureus**, v. 16, n. 10, e71280, 2024.

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.

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.

LI, X.; KONG, X.; ZHANG, Z.; NAN, K.; LI, L.; WANG, X.; CHEN, H. Evaluation of cytotoxicity and biocompatibility of N,O-carboxymethyl chitosan/oxidized alginate hydrogel for drug delivery application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, n. 5, p. 1299-1305, 2012.

LIU, Z.; JIAO, Y.; ZHANG, Z. Esferas de hidrogel de carboximetilquitosana de cálcio para sistema de liberação de fármacos proteicos. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 103, n. 5, p. 3164-3168, 2007.

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.

MENG, X.; LU, Y.; GAO, Y.; CHENG, S.; TIAN, F.; XIAO, Y.; LI, F. Chitosan/alginate/hyaluronic acid polyelectrolyte composite sponges crosslinked with

genipin for wound dressing application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021.

METTLER, L., SAMMUR, W., SCHOLLMAYER, 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.

MO, Y. H.; WANG, H.; JIN, S. H.; PENG, K. L.; YANG, Z. M.; LI, P. W.; CHEN, Y. Preparação e propriedades de um hidrogel de carboximetilquitosana de cura rápida para cuidados com a pele. *Polymer Testing*, v. 113, p. 107667, 2022.

MO, Z.; CHEN, W.; YOU, L.; LIU, W.; ZHOU, Q.; ZENG, Z.; CHEN, T.; LI, H.; TANG, S. Protamine-grafted carboxymethyl chitosan-based hydrogel with long-term adhesive and antibacterial properties for hemostasis and cutaneous wound healing. *Carbohydrate Polymers*, v. 336, p. 122125, 2024.

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. *Cham: Springer International Publishing*, p. 1-10, 2017.

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.

MUZZARELLI, R.; MEHTEDI, E.; BOTTEGONI, C.; GIGANTE, A. Propriedades físicas conferidas pela genipina à quitosana para regeneração tecidual com células-tronco humanas: uma revisão. *Revista Internacional de Macromoléculas Biológicas*, v. 93 Pt B, p. 1366-1381, 2016.

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.

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.

NIE, W.; ZHANG, B.; YAN, X.; SU, L.; WANG, S.; HAN, G.; HAN, D. Nanopartículas magnéticas degradadas modificadas com ácido hialurônico. *Journal of Nanomaterials*, 2020, p. 1-8.

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.

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 -L-Glutamic Acid Single Crystals in the Presence of L-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 reinforced tissue adhesive in hydrogel based on chitosan/dextran derivatives complexed with chitin whiskers. **Carbohydrate Polymers**, v. 237, p. 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 physico-chemical 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.

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.

RACZUK, E.; DMOCHOWSKA, B.; SAMASZKO-FIERTEK, J.; MADAJ, J. Different Schiff bases—structure, importance and classification. **Molecules**, v. 27, 2022.

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.

RESMI, R.; PARVATHY, J.; ANJALI, S.; JOSEPH, R. Implications of storage conditions on the characteristics of alginate dialdehyde and its hydrogels. **ChemistrySelect**, v. 9, n. 7, p. e202304419, 2024.

ROETHER, J.; OELSCHLAEGER, C.; WILLENBACHER, N. Criogéis de ácido hialurônico com reticulante não citotóxico genipina. **Materials Letters**, v. 4, p. 100027, 2019.

SCHNÜRIGER, B.; BARMPPARAS, 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.

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

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

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.

SUN, X.; ZHANG, J.; MI, Y.; MIAO, Q.; TAN, W.; LI, Q.; GUO, Z. Synthesis, characterization, and antioxidant activity of carboxymethyl chitosan derivatives containing sulfonium salt. *Journal of Oceanology and Limnology*, v. 40, p. 284-295, 2021.

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.]

SUNEETHA, M.; RAO, K. M.; HAN, S. S. Mussel-inspired cell/tissue-adhesive, hemostatic hydrogels for tissue engineering applications. **ACS Omega**, v. 4, n. 7, p. 12647-12656, 2019.

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.; BERENQUER-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.

TEO, Z. Y.; SENTHILKUMAR, S.; SRINIVASAN, D. K. Nanotechnology-based therapies for preventing post-surgical adhesions. **Preprints**, 2025.

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

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.

VAGHANI, S. S.; PATEL, M. M.; SATISH, C. S.; PATEL, K. M.; JIVANI, N. P. Síntese e caracterização de hidrogel de carboximetilquitosana: aplicação como liberação sítio-específica para cloridrato de lercanidipina. *Boletim de Ciência dos Materiais*, v. 35, n. 7, p. 1133-1142, 2012.

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.

WAHID, F.; WANG, H.; ZHONG, C.; CHU, L. Facile fabrication of moldable antibacterial carboxymethyl chitosan supramolecular hydrogels cross-linked by metal ion complexation. **Carbohydrate Polymers**, v. 165, p. 455-461, 2017.

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.

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.

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.; GUO, R.; LIANG, X.; JI, Y.; ZHANG, J.; GAI, G.; GUO, Z. Preparation and antioxidant activity of novel carboxymethyl chitosan derivatives containing quinoline groups. **Marine Drugs**, v. 21, 2023.

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, L.; YANG, K.; LI, X.; ZHANG, X.; ZHANG, D.; WANG, L.; LEE, C. A self-healing antibacterial hydrogel with double crosslinking and enhanced mechanical performance for wound treatment. **Acta Biomaterialia**, 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-cross-linked poly(L-lysine)-based hydrogels: Synthesis, characterization, and drug encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 111, p. 423-431, 2013.
- WANG, W.; SHI, D.; ZHANG, Y.; LI, W.; LI, F.; FENG, H.; YANG, C.; PENG, Z.; SONG, G.; ZENG, H.; XIE, L. Um hidrogel injetável à base de ácido hialurônico preparado com base de Schiff para liberação controlada de fármacos a longo prazo. *Revista Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 2023, p. 125341.
- 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.
- WANG, Z.; HUANG, K.; KING, M. W. Techniques for navigating postsurgical adhesions: insights into mechanisms and future directions. **Bioengineering & Translational Medicine**, v. 8, n. 4, e10565, 2023.
- WASIKIEWICZ, J. M.; NAGASAWA, N.; TAMADA, M.; MITOMO, H.; YOSHII, F. Adsorção de íons metálicos por hidrogéis de carboximetilquitina e carboximetilquitosana. *Instrumentos e Métodos Nucleares em Pesquisa em Física, Seção B: Interações de Feixes com Materiais e Átomos*, v. 236, n. 1-4, p. 617-623, 2005.
- 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.
- WEI, Q.; WANG, Y.; WANG, H.; QIAO, L.; JIANG, Y.; ZHANG, W.; HU, Z. Carboxymethyl chitosan-based photoinduced adhesive hydrogels with antibacterial and antioxidant properties to accelerate wound healing. **Carbohydrate Polymers**, v. 278, p. 119000, 2022.
- 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.
- WU, C., HUANG, Y., LEE, J., TAI, T., WU, P., & JOU, I. Efficacy of topical cross-linked 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, S.; YAN, S.; YOU, J.; WU, X. Carboxymethyl chitosan/oxidized konjac glucomannan composite hydrogels with antibacterial micelles for enhanced wound repair. **ACS Applied Materials and Interfaces**, 2024.
- YAKIMOVA, A. V.; KHAYATOVA, Z. B. Adhesions after pelvic surgery: mechanisms of occurrence and opportunities of perioperative prevention. Literature review. **Sibirskij Medicinskij Vestnik**, v. 8, n. 2, p. 56-65, 2024.
- YAN, E. Y.; HAO, X. Y.; CAO, M. L.; FAN, Y. M.; ZHANG, D. Q.; XIE, W.; HOU, S. Q. Preparação e caracterização de hidrogel de carboximetilquitosana. **Pigment & Resin Technology**, v. 45, n. 4, p. 246-251, 2016.
- YANG, L.; QIAO, Y.; ZHAO, M.; XI, B. A proposal to simplify pediatric hypertension definition: bridging the gap between perception and action. **BMC Medicine**, v. 22, 2024.
- 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
- 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 *Spectrooccus pneumoniae*: QM/MM Simulation. **The Journal of Physical Chemistry**, 2012.
- ZHENG, J.; LI, K.; LI, Y.; JIANG, G. Preparation and characterization of carboxymethyl chitosan/ κ -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- β 1 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, L.; DAI, C.; FAN, L.; JIANG, Y.; LIU, C.; ZHOU, Z.; Guan,P., Tian, Y., Xing,J. Li,X., Luo, Y., Yu, P. TAN, G. Injectable self-healing natural biopolymer-based hydrogel adhesive with thermoresponsive reversible adhesion for minimally invasive surgery. **Advanced Functional Materials**, v. 31, n. 14, p. 2007457, 2021.

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.