

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ

FACULTAD DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

Departamento de Cirugía, Ciencias Médicas y Sociales



**Bioensayo preclínico de nuevos adhesivos tisulares
sintéticos (cianoacrilatos) en implantes de materiales
protésicos destinados a reparar defectos de pared
abdominal**

TESIS DOCTORAL

André Wolfgang Kühnhardt Barrantes

2016

TESIS DOCTORAL



**Bioensayo preclínico de nuevos adhesivos
tisulares sintéticos (cianoacrilatos) en
implantes de materiales protésicos destinados
a reparar defectos de pared abdominal**

DOCTORANDO

Andréé Wolfgang Kühnhardt Barrantes

DIRECTOR

Prof. Juan Manuel Bellón Caneiro

Profa. Gemma Pascual González

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ

FACULTAD DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

Departamento de Cirugía, Ciencias Médicas y Sociales

Alcalá de Henares, 2016

D. JUAN MANUEL BELLÓN CANEIRO, Catedrático de Cirugía del Departamento de Cirugía, Ciencias Médicas y Sociales y **D^a GEMMA PASCUAL GONZÁLEZ**, Profesora Asociada de Histología en el Departamento de Medicina y Especialidades Médicas, de la Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad Alcalá

CERTIFICA

Que el trabajo titulado "BIOENSAYO PRECLÍNICO DE NUEVOS ADHESIVOS TISULARES SINTÉTICOS (CIANOACRILATOS) EN IMPLANTES DE MATERIALES PROTÉSICOS DESTINADOS A REPARAR DEFECTOS DE PARED ABDOMINAL" realizado por **D. Andréé Wolfgang Kühnhardt Barrantes** reúne los requisitos metodológicos y valor científico adecuados para ser presentado y defendido para optar al grado de Doctor por la Universidad de Alcalá.

Y para que así conste, se expide el presente certificado en Alcalá de Henares, a 12 de Enero de 2016.

D. FERNANDO NOGUERALES FRAGUAS, Catedrático de Cirugía y Director del Departamento de Cirugía, Ciencias Médicas y Sociales de la Universidad de Alcalá

CERTIFICA

Que el trabajo presentado por **D. Andréé Wolfgang Kühnhardt Barrantes**, titulado: "BIOENSAYO PRECLÍNICO DE NUEVOS ADHESIVOS TISULARES SINTÉTICOS (CIANOACRILATOS) EN IMPLANTES DE MATERIALES PROTÉSICOS DESTINADOS A REPARAR DEFECTOS DE PARED ABDOMINAL", ha sido realizado en el Departamento de Cirugía, Ciencias Médicas y Sociales, y reúne los requisitos científicos de originalidad y rigor metodológicos suficientes para poder ser presentado como tesis doctoral ante el tribunal que corresponda.

Y para que así conste, se expide el presente certificado en Alcalá de Henares, a 12 de Enero de 2016.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a todas aquellas personas que han participado en la realización de este trabajo de investigación. En primer lugar al Profesor Juan Manuel Bellón Caneiro y a la Profesora Gemma Pascual Gonzalez, directores de esta tesis doctoral, sin cuya aportación y apoyo, este trabajo no hubiera sido posible. Su dedicación y entrega a la docencia e investigación me han servido de inspiración.

A todo el equipo de investigación del departamento de Cirugía, Ciencias médicas y Sociales de la Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de Alcalá, especialmente a la Dra. Marta Rodríguez Mancheño, a la Dra. Sandra Sotomayor Nuñez y a la Dra. Bárbara Pérez Köhler, por el apoyo que me han brindado durante todo este tiempo. Gracias por vuestra generosidad, vuestro tiempo y sobre todo por la amabilidad y cariño con el que habéis adornado todo este proceso.

Al Profesor Julio San Román del CSIC por la cesión del adhesivo n-octilo.

A mi madre Elena y mi abuela Pascuala, que gracias a su amor y apoyo incondicional he podido avanzar tanto a nivel personal como profesional.

A la memoria de mi abuelo Víctor, que fue la máxima figura paterna que me ayudó a desenvolverme y sobresalir desde mi infancia, y que a pesar de su ausencia siempre estará presente en mi corazón.

Y gracias a una Ayuda de Investigación del Ministerio de Economía y Competitividad (SAF 2014-55022P), que hizo posible la realización de este proyecto de Tesis.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

AT: Adhesivo Tisular/Adhesivos tisulares

BSA: Albúmina Sérica Bovina

CA: Cianoacrilato/Cianoacrilatos

DAB: Diaminobencidina

DNA: Ácido Dexosirribonucleico

ELISA: Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas

FDA: Administración de Alimentación y Medicamentos

IL-6: Interleuquina 6

MEB: Microscopía Electrónica de Barrido

MEM: Medio Mínimo Esencial

MO: Microscopía Óptica

OEV: Obliteración Endoscópica de Varices

OMS: Organización Mundial de la Salud

PBS: Tampón Fosfato Salino

PDS: Polidioxanona

PP: Polipropileno

PTFE: Politetrafluoroetileno

PTFEe: Politetrafluoroetileno expandido

PVDF: Fluoruro de Polivinilideno

TAPP: Trans Abdominal Preperitoneal

TBS: Tampón Tris Salino

TEP: Extraperitoneal Total

TNF- α : Factor de necrosis tumoral α

VAS: Escala Visual Análoga

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

ÍNDICE.

RESUMEN	7
SUMMARY.....	15
1. INTRODUCCIÓN.....	21
1.1 ASPECTOS HISTÓRICOS DE LOS ADHESIVOS TISULARES.....	23
1.2 CLASIFICACIÓN DE LOS ADHESIVOS TISULARES.	24
1.2.1 Adhesivos biológicos con base de fibrina.....	24
1.2.2. Adhesivos semi-sintéticos. Proteínas poliméricas.	25
1.2.3. Adhesivos sintéticos.....	26
1.2.3.1. Cementos óseos.....	26
1.2.3.2. Cianoacrilatos.	26
1.3 FORMULACIÓN QUÍMICA DE LOS CIANOACRILATOS.	28
1.3.1 Propiedades químicas y físicas.	28
1.3.2 Síntesis del monómero de cianoacrilato.	28
1.3.3 Estructura química de los cianoacrilatos.	29
1.3.4 Polimerización.....	31
1.3.5 Degradación	32
1.4 ESTADO ACTUAL DEL EMPLEO DE ADHESIVOS MÉDICOS EN CIRUGÍA. EFECTOS ADVERSOS DE SU UTILIZACIÓN.....	33
1.4.1 Adhesivos con base de fibrina.	33
1.4.1.1 Uso clínico.....	33
Cirugía Cardíaca.....	33
Cirugía Torácica.	34
Cirugía Vasculard.....	34
Cirugía Gastrointestinal.....	34
Reparación herniaria mediante la fijación de mallas.	35
1.4.1.2 Toxicidad de los adhesivos de fibrina.....	36
1.4.2 Cianoacrilatos.....	36
1.4.2.1 Uso clínico.....	36
Como agentes hemostáticos.	36
Cierre de heridas e incisiones quirúrgicas en la pared abdominal.	37
Cierre de incisiones de cirugía laparoscópica.	37
Uso en el tracto digestivo.	38
Reparación herniaria mediante la fijación de mallas.	39

Cirugía vascular: tratamiento de las varices.	39
Embolización arterial.	40
1.4.2.2 Toxicidad de los adhesivos de cianoacrilato.	42
1.5 ADHESIVOS TISULARES EN LA CIRUGÍA DE LA REPARACIÓN HERNIARIA (CIRUGÍA ABIERTA Y LAPAROSCÓPICA).....	43
1.5.1 Adhesivos con base de fibrina.	44
1.5.2 Cianoacrilatos.....	55
2. HIPÓTESIS Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	63
IMPLANTE INTRAPERITONEAL.....	67
IMPLANTE EXTRAPERITONEAL	68
3. MATERIALES Y MÉTODOS	71
3.1 MATERIALES PROTÉSICOS.....	73
3.2 MEDIOS DE FIJACIÓN.	74
3.2.1 Adhesivos tisulares.	74
3.2.2 Tackers.....	74
3.2.3 Sutura.	74
3.3 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	74
3.4 ANALGESIA Y ANESTESIA.	75
3.5 CIRUGÍA.	75
3.5.1 Modelos quirúrgicos.	75
3.5.1.1. Implante intraperitoneal (IP).....	75
3.5.1.2 Implante extraperitoneal (EP).	77
3.5.2 Obtención de las muestras.	77
3.6 PROCESADO DE LAS MUESTRAS.	79
3.6.1 Análisis del líquido peritoneal.....	79
3.6.2 Estudios morfológicos.	80
3.6.2.1 Microscopía óptica.	80
3.6.2.2. Microscopía electrónica de barrido.	83
3.6.2.3. Estudios inmunohistoquímicos.....	83
Macrófagos (Técnica de la fosfatasa alcalina).	83
Daño Celular (Técnica TUNEL).....	85

3.6.3 Estudios biomecánicos.	86
3.6.3.1 Implante intraperitoneal.	87
3.6.3.2 Implante extraperitoneal.	87
3.6.4 Análisis estadístico.	88
4. RESULTADOS	89
4.1 IMPLANTE INTRAPERITONEAL.	91
4.1.1 Análisis macroscópico.	91
4.1.2 Expresión de citoquinas en el líquido peritoneal.	91
4.1.3 Análisis morfológico.	94
4.1.4 Respuesta macrofágica.	103
4.1.5 Daño celular.	105
4.1.6 Estudios de resistencia biomecánica.	107
4.2 IMPLANTE EXTRAPERITONEAL.	110
4.2.1 Análisis macroscópico.	110
4.2.2 Análisis morfológico.	112
4.2.3 Respuesta macrofágica.	117
4.2.4. Daño celular.	120
4.2.5 Estudios de resistencia biomecánica.	120
5. DISCUSIÓN	126
6. CONCLUSIONES	139
7. BIBLIOGRAFÍA	143

RESUMEN.

Una de las múltiples indicaciones de los AT en cirugía, es su empleo para la fijación de materiales protésicos destinados a reparación herniaria. Hasta el momento actual, el empleo de AT se ha planteado con la utilización de forma preferente de pegamentos de origen biológico, tipo fibrina y en una menor escala con pegamentos de origen sintético. Entre estos últimos los más utilizados han sido los derivados de cianoacrilato. A pesar de que estos AT sintéticos tienen una amplia historia, existe todavía una cierta reticencia a su empleo en aplicaciones de uso interno. Las modificaciones de la estructura química de los mismos, alargando su cadena, han hecho surgir nuevos adhesivos.

Una de las ventajas de los AT es sustituir a las suturas que fijan los biomateriales y de esta forma provocar un menor traumatismo en los tejidos. Concretamente en la reparación de hernias inguinales por cirugía abierta, una complicación importante es el “atrapamiento” de estructuras nerviosas que provocan en el paciente dolor inguinal en el postoperatorio a veces invalidante, y que en muchos casos requieren una nueva intervención quirúrgica. El uso de AT puede disminuir esta complicación como así ya ha sido constatado en varios trabajos clínicos. Otra forma de reparación herniaria exige la colocación de un material en situación intracavitaria (reparaciones con técnicas de laparoscopia). En este caso, tanto el material como el adhesivo van a estar en contacto con estructuras importantes peritoneales, por lo que la biocompatibilidad deberá ser de la máxima garantía.

En el presente proyecto de TESIS se ha llevado a cabo, el bioensayo preclínico de un nuevo cianoacrilato de cadena larga (n-octilo) no comercial, comparandolo con otro adhesivo (Ifabond®) de similares características utilizado en clínica humana, para la fijación de prótesis en reparación herniaria.

El objetivo principal planteado, fue estudiar el comportamiento de dichos adhesivos en dos interfaces diferentes, intra y extraperitoneal, con el fin de realizar una traslación lo más real posible a la aplicación clínica.

El animal de experimentación utilizado fue el conejo blanco de Nueva Zelanda. En los implantes intraperitoneales se eligió como material protésico, politetrafluoroetileno expandido (PTFEe) y en los extraperitoneales, polipropileno. Ambos materiales son los más empleados en clínica.

En el diseño experimental, fragmentos de prótesis de PTFEe de 3x3 cm, fueron fijados bien con uno de los dos adhesivos o con *tackers* similares a los utilizados en clínica. En la vertiente extraperitoneal las prótesis de polipropileno de alta densidad, de unas dimensiones de 5x3 cm, fueron fijadas con los adhesivos o con suturas de polipropileno de 4/0. Los animales fueron sacrificados a los 14 y 90 días.

Se llevaron a cabo estudios morfológicos a microscopía óptica y electrónica de barrido e inmunohistoquímica para macrófagos. Además y con el fin de estudiar daño celular se realizó una técnica TUNEL aplicada tanto a materiales intra como extraperitoneales.

En los implantes intraperitoneales se recogió líquido peritoneal para determinar la presencia de citoquinas (IL-6 y TNF- α), antes y después de la cirugía.

En ambas interfaces, intra y extraperitoneal, se realizó estudio mecánico con el fin de evaluar la resistencia mecánica a la tracción de los diferentes materiales protésicos empleados.

Los datos extraídos de los diferentes experimentos se sometieron a análisis estadístico, utilizando el programa GraphPad Prism 5 para Windows.

Implantes intraperitoneales

En los implantes intraperitoneales el estudio de la respuesta a las citoquinas, en todos los grupos, determinó un incremento en los niveles de IL-6 y TNF- α a los 14 días respecto a los niveles basales, aunque sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la expresión de IL-6 en el grupo de los *tackers*.

Respecto a la integración tisular, el depósito mesotelial sobre el PTFEe fue similar tras la aplicación de ambos AT, observando a los 90 días la existencia de un neoperitoneo correcto.

El recuento de macrófagos a los 14 días, fue mayor para el grupo de n-octilo respecto a los grupos de *tackers* e Ifabond®, aunque no se establecieron diferencias significativas entre los dos AT, sí que lo fueron cuando se compararon los grupos de n-octilo y *tackers*. A los 90 días post-implante, se observó un ligero incremento de las células marcadas respecto a 14 días, siendo este incremento significativo para Ifabond®.

Con relación a daño celular, ambos AT mostraron diferencias estadísticamente significativas frente a los *tackers*, los cuales tuvieron valores más bajos. Se observó una reducción de células marcadas entre los 14 y los 90 días postimplante en todos los grupos.

Al analizar la resistencia mecánica, a las dos semanas de estudio, Ifabond® mostró de forma significativa una resistencia a la tracción superior a n-octilo y no mostró diferencias estadísticamente significativas respecto a los *tackers*. A los 90 días, sin embargo, los *tackers* mostraron diferencias significativas de resistencia a la tracción respecto a los dos AT.

Implantes extraperitoneales

En los implantes *extraperitoneales*, a nivel de la integración tisular los implantes fijados con suturas mostraron una buena integración tisular tanto a 14 como a 90 días. El colágeno III predominó en los primeros estadios, existiendo una buena angiogénesis en el peritoneo neoformado.

En los implantes fijados con AT, la integración se produjo en las zonas de la prótesis libres de adhesivo. A los 90 días aunque parecía existir un pequeño adelgazamiento en el área del adhesivo, no hubo zonas de absorción ni penetración de células en las zonas donde se ubicaba el mismo.

La respuesta macrofágica a 14 días fue mayor para Ifabond® respecto a las suturas y n-octilo. A los 90 días hubo un incremento de la respuesta macrofágica en los dos ATs respecto a las suturas.

El daño celular a 14 días fue mayor para n-octilo siendo esta diferencia significativa respecto a las suturas. A los 90 días el porcentaje de células dañadas disminuyó de forma significativa tanto para los AT como para el grupo de fijación con sutura.

En cuanto a la resistencia mecánica, la fuerza tensil no mostró diferencias entre la fijación con suturas y los diferentes ATs tanto a 14 como a 90 días. Se objetivó un incremento de la resistencia a la tracción entre 14 y 90 días para suturas y AT, que fue significativo desde el punto de vista estadístico.

De los resultados obtenidos en este trabajo de TESIS, podemos establecer las siguientes conclusiones:

Implantes intraperitoneales:

- a) La respuesta medida en líquido peritoneal de IL-6 y TNF- α fue similar en ambos cianoacrilatos. La fijación con *tackers* mostró una sobreexpresión de IL-6.
- b) La reacción macrofágica así como el porcentaje de daño celular a los 90 días de estudio fue superior en Ifabond® respecto a n-octilo y *tackers*.
- c) Aunque la integración tisular tanto a 14 como a 90 días fue similar para ambos cianoacrilatos, la resistencia mecánica fue significativamente superior en Ifabond®. La fijación con *tackers* mostró una resistencia mecánica superior respecto a los dos AT a los 90 días.

Implantes extraperitoneales:

- a) La presencia de macrófagos y el porcentaje de daño celular, fue menor cuando la fijación del material protésico se realizó con sutura respecto a los dos cianoacrilatos.

- b) Ambos cianoacrilatos han mostrado una resistencia mecánica similar, sin diferencias estadísticamente significativas respecto a la fijación con material de sutura, lo cual los hace válidos como medio de fijación del material protésico en una interfaz extraperitoneal.

En ambas interfaces, intra y extraperitoneal, no se observaron signos de degradación en ninguno de los dos cianoacrilatos estudiados.

SUMMARY.

AT have many surgical applications including their use to fix a prosthetic material for hernia repair. So far, synthetic adhesives have been the preferred choice over biological adhesives such as fibrin glues. Among the former, glues consisting of a cyanoacrylate derivative have been the most frequently employed. Despite a fairly long-standing history of the use of synthetic tissue adhesives, there is still some concern regarding their internal application. Modifications such as increasing the length of their alkyl chains, have given rise to many new adhesives.

One of the benefits of a AT is that it replaces sutures to fix a biomaterial and thus provokes less tissue trauma. For instance, when an inguinal hernia is repaired by an open surgical procedure, a frequent complication is the nerve entrapment inducing postoperative pain in the patient which may even be disabling and could require another operation. AT have been shown in several studies to reduce this complication. Another way to repair a hernia consists of prosthetic mesh placement in an intracavitary position using a laparoscopic technique. Given that both the prosthetic material and tissue adhesive will need to make contact with peritoneal structures, it is important that the adhesive should be highly biocompatible.

For this PhD thesis, a preclinical bioassay was performed on a new non-marketed long-chain cyanoacrylate (n-octyl). The performance of this new adhesive at fixing a prosthetic mesh in hernia repair was compared to that of an adhesive of similar characteristics (Ifabond®) currently used in human clinical practice.

The main objective of this experimental study was to assess the behaviour of these adhesives at both the intra- and extraperitoneal tissue interface to recreate the real clinical situation in the measure possible.

The experimental animal used was the New Zealand White rabbit. As prosthetic materials expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) was selected for the intraperitoneal implants and polypropylene for the extraperitoneal mesh placements. These materials are among those most employed in clinical practice.

According to the experimental design, 3x3 cm fragments of ePTFE were fixed with either one of the two sealants or with tackers. For the extraperitoneal implants, 5x3 cm fragments of heavy-weight polypropylene meshes were fixed with the adhesives or polypropylene 4/0 sutures. The animals were euthanized at 14 and 90 days postimplant.

The tests performed on the retrieved implants at the two time points (14 days and 90 days) were morphological, light and scanning electron microscopy observation and immunohistochemical labelling for host macrophages. To examine cell damage, the TUNEL technique was used on both the intra- and extraperitoneal meshes.

Cytokines were determined in peritoneal fluid (IL-6 and TNF- α) for the intraperitoneal implants before and after surgery.

At both interfaces, intra- and extraperitoneal mechanical tests were conducted to compare the tensile strengths of the implanted prosthetic materials.

The data obtained were statistically analyzed using the program GraphPad Prism 5 for Windows.

Intraperitoneal implants

For the intraperitoneal implants, IL-6 and TNF- α levels were higher at 14 days post-implant than baseline levels, though differences were only significant for IL-6 expression in the *tackers* group.

When host tissue incorporation was assessed, the mesothelial cell layer deposited on the ePTFE meshes was found to be similar regardless of the adhesive used and an appropriate neoperitoneum could be observed at 90 days.

Macrophage counts at 14 days were higher for the n-octyl group compared to the *tackers* and Ifabond® groups. However, despite differences not being significant for the two adhesive groups, these were detected for the n-octyl *versus tackers*. At 90 days post-

implant, a slight increase in labelled cells was noted compared to counts at 14 days this increase being significant for Ifabond®.

ATs showed a significantly higher cell damage rate than *tackers* at both study times. Percentage of positive cells was reduced from 14 to 90 days postimplant in all the groups.

At two weeks of implant, the meshes fixed with Ifabond® showed greater tensile strengths than those secured with n-octyl, with no significant difference detected compared to the use of tackers. However, by 90 days, meshes fixed with the AT emerged as significantly less resistant to traction than those fixed with *tackers*.

Extraperitoneal implants

The extraperitoneal mesh implants fixed with sutures showed good host tissue incorporation both at 14 and 90 days. During the initial implant stages, an abundant presence of collagen III was detected and efficient angiogenesis was observed in the new formed peritoneum.

The host tissue integration of the implants fixed with AT took place in the prosthetic zones free of adhesive. At three months, though the implant area bearing the tissue adhesive seemed slightly thinner, no cells were seen to penetrate these areas.

At 14 days, the macrophage response was greater for the Ifabond® group than for the animals in which sutures or n-octyl were used. At three months, an increased macrophage response was detected for the two tissue adhesives compared to the sutures.

Cell damage was greater at 14 days for n-octyl, the difference being significant when compared with the sutures. At 90 days, the apoptosis rate was significantly reduced both for the AT and the suture group.

According to the tensile strengths of the retrieved implants, no significant differences in mechanical resistance were observed between the use of sutures and the ATs both at 14 and 90 days postimplant. Between the time points 14 and 90 days, significant gains in tensile strength were produced both in the AT and suture groups.

The main conclusions of this study are:

Intraperitoneal implants:

- a) The IL-6 and TNF- α response detected in peritoneal fluid was similar for both cyanoacrylate adhesives. Implants fixed with tackers showed IL-6 overexpression.
- b) A greater macrophage response and cell damage rate were detected at 90 days postimplant for the use of Ifabond® compared to n-octyl or tackers to fix the ePTFE meshes.
- c) Although host tissue incorporation in the meshes was similar for both adhesives at both 14 and 90 days, the tensile strengths of the implants were significantly greater for Ifabond® than n-octyl. The use of tackers led to improved strength over the values recorded for the two adhesives, at 90 days.

Extraperitoneal implants:

- a) Macrophage response and cell damage percentage were reduced when the polypropylene meshes were fixed with sutures compared to the cyanoacrylates.
- b) Both cyanoacrylates gave rise to similar tensile strengths of the repair site to those observed for the sutures. This means that both AT would be suitable to fix a prosthetic mesh at the extraperitoneal tissue interface.

At both tissue interfaces, intra- and extraperitoneal, no signs of biodegradation of the cyanoacrylates were detected.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 ASPECTOS HISTÓRICOS DE LOS ADHESIVOS TISULARES.

Durante la evolución del ser humano, el tratamiento de las heridas y por ende el cierre de las mismas, ha conllevado el uso de diferentes materiales, para facilitar su cicatrización, desde el empleo de productos naturales hasta el posterior desarrollo de materiales más duraderos y consistentes como las suturas.

A lo largo del tiempo, las suturas se han convertido en el estándar de cierre de las heridas. Actualmente, existen varios tipos de suturas absorbibles y no absorbibles de diferentes calibres y con agujas de diferentes tamaños, con lo que se pueden utilizar más de 40 combinaciones diferentes para cerrar heridas e incisiones quirúrgicas. Las suturas proporcionan un cierre meticuloso y tienen mayor resistencia a la tracción y menor tasa de dehiscencia en comparación con cualquier otra técnica de cierre de heridas; sin embargo, no dejan de tener sus desventajas. El uso de agujas traumáticas y la presencia de un cuerpo extraño en el cierre de una herida favorecen el riesgo y puede aumentar la tasa de infecciones (Ritchie y cols. 1989; Quinn y cols. 1997). También, requiere el uso de anestesia y exige conocimientos técnicos para el médico que la realiza. De hecho, muchos médicos y algunos cirujanos nunca adquieren la habilidad para el cierre meticuloso de las heridas con las suturas convencionales (Singer y cols. 1996). El empleo de agujas puede causar ansiedad en los pacientes e incluso en los profesionales de la salud por el riesgo de la transmisión de enfermedades tales como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o la Hepatitis B y C.

Entre las alternativas al empleo de suturas se incluyen las grapas, “los puntos de aproximación” con tiras aproximadoras, y los adhesivos tisulares. Tanto las grapas como las tiras aproximadoras tienen menor reactividad tisular comparado con las suturas (Ritchie y cols. 1989; Johnson y cols. 1981). Las grapas son rápidas en cuanto a su colocación y tienen un menor riesgo de lesión para el que las aplica, pero requiere el uso de anestésicos y a veces, puede provocar un cierre no tan estético como el generado por una sutura (George y cols. 1985). Al igual que las grapas, las tiras de aproximación son rápidas y económicas, y provocan un cierre menos doloroso que las grapas o suturas, sin embargo, tienen menor resistencia a la tracción y mayor tasa de dehiscencia

comparándolas con las técnicas convencionales de cierre de heridas, y no pueden ser usadas alrededor de áreas con pelo (Rothnie y cols. 1963; Panek y cols. 1972).

La última alternativa para el cierre de heridas y que ha progresado de forma importante en la última década son los adhesivos tisulares. Su empleo no solo se limita al cierre de heridas, sino que se ha ampliado a la fijación de materiales protésicos (reparación herniaria), y al sellado de anastomosis (digestivas, vasculares) (Jackson y cols. 1996; Quinn y cols. 1997; Tock y cols. 1998; Glickman y cols. 2002; Chao y cols. 2003).

Por todo ello, los adhesivos tisulares constituyen una alternativa terapéutica en las aplicaciones clínicas. Muchos de estos adhesivos tisulares emergentes, pueden modificar los procedimientos quirúrgicos difíciles, mediante la estabilización de las superficies de tejido a través de la hemostasia, el sellado de las heridas, y la fijación de tejido en áreas inaccesibles a grapas y/o clips, y suturas.

1.2 CLASIFICACIÓN DE LOS ADHESIVOS TISULARES.

En un sentido amplio, los adhesivos tisulares (AT) se pueden clasificar en función de su origen, en biológicos (fibrinas), sintéticos (cementos y cianoacrilatos) y semi-sintéticos (proteínas poliméricas de ingeniería genética) (Cuschieri 2001).

1.2.1 Adhesivos biológicos con base de fibrina.

El empleo de este tipo de adhesivos como hemostáticos fue descrito por Bergel y cols. en 1909. En 1915 Lippencott, describió el uso de la fibrina para uso hemostático durante la cirugía cerebral (Grey 1915). En 1940, Young y Medawar describieron el uso del fibrinógeno como un adhesivo en la unión de nervios periféricos. En 1944, Cronkite y cols. propusieron la primera descripción del uso tanto del fibrinógeno como la trombina como pegamentos biológicos en los injertos de piel. El uso de un sellante de fibrina que contenía además fibrinógeno para una anastomosis neural fue descrito por Matras y cols. en 1972. También en la década de los 80, Gestring y Lerner (1983), Siedentop y cols.

(1985), y Spotnitz y cols. (1987), describieron y desarrollaron métodos de crioprecipitación para producir concentrados de fibrinógeno para su uso como sellantes.

El ensayo fundamental que se utilizó en el proceso de reglamentación para la aprobación de selladores de fibrina por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos) apareció en la literatura en 1989 (Rousou y cols. 1989). La posterior revisión, de la regulación sobre la base de los datos de seguridad y eficacia, permitió la aprobación del sellante de fibrina como un producto comercial en 1998.

1.2.2. Adhesivos semi-sintéticos. Proteínas poliméricas.

El Instituto Batelle Memorial desarrolló un adhesivo quirúrgico con un agente de reticulación (cross-linking), cuyo uso experimental fue descrito por Braunwald y cols. entre 1965 y 1966. Este producto, conocido como pegamento-GRF (gelatina, resorcinol, formaldehído) fue fabricado por Cardial SA (Sant Etienne, Francia), y se mantuvo inactivo hasta que fue redescubierto por un grupo de cirujanos franceses, que fueron pioneros en su uso clínico y aplicándolo con éxito en el tratamiento de disecciones de aorta. Este grupo publicó sus progresos en una serie de manuscritos (Bachet y cols. 1982; Bachet y cols. 1990), y un trabajo de revisión que abarcaba 20 años de su trabajo (Bachet y cols. 1997).

Como consecuencia de esta serie de investigaciones, este AT pasó a ser conocido con el sobrenombre de “Pegamento francés”. Se utiliza sobre todo en Europa para la reparación de las disecciones aórticas y no está disponible en Estados Unidos.

FocalSeal-L (Focal Inc., Massachusetts USA) se convirtió en el primer adhesivo quirúrgico con un agente de reticulación (cross-linking) en ser aprobado por la FDA para su uso clínico. FocalSeal en la literatura europea es conocido como AdvaSeal. Se basa en macro monómeros derivados de polietilen-glicol con grupos funcionales (ésteres de diacrilato). El producto es actualmente fabricado y distribuido por Genzyme BioSurgery (Lexington, MA, USA) y es el único sellante aprobado específicamente y únicamente para el sellado de las fugas aéreas en la cirugía pulmonar.

Los adhesivos quirúrgicos BioGlue y CoSeal fueron los siguientes productos de esta clase en ser aprobados por la FDA.

1.2.3. Adhesivos sintéticos.

1.2.3.1. Cementos óseos.

El uso de los cementos como mecanismos de fijación se remonta a la mitad del siglo XX. Primero fueron utilizados en Odontología. Más tarde un cirujano innovador, Sir John Charnley, mejoró la calidad de vida de pacientes con caderas y rodillas afectadas por la artritis, gracias a la cirugía de reemplazo articular usando polimetilmetacrilato, comúnmente conocido como “cemento óseo”, para fijar las prótesis. Sin embargo, el empleo de los cementos óseos y sus derivados no fueron aprobados por la FDA para su uso clínico, hasta los años 90.

1.2.3.2. Cianoacrilatos.

El trabajo inicial sobre los cianoacrilatos (CA) se inició en 1949 con Ardis, pero no fue hasta 1951, en que Coover descubrió las propiedades adhesivas de los CA sintéticos (alquil-2-CA), en los laboratorios de investigación de la Compañía Eastman en Tennessee (USA) (Coover y cols. 1959). Posteriormente, este descubrimiento llevó a Eastman Kodak a la introducción del primer adhesivo de CA, metilo-2-CA, llamado dentro del mercado comercial “*Adhesivo Eastman 910*”. Mientras tanto, Coover hizo una extensa investigación para desarrollar adhesivos tisulares a base de homólogos de CA con la colaboración de la Compañía Ethicon (USA). En 1964 Coover solicitó la aprobación de la FDA para uno de los monómeros de CA como un adhesivo tisular (Chu y cols. 1997). Sin embargo, no obtuvo la aprobación de la FDA, y en 1970 suspendió su trabajo en el uso de los CA como adhesivos tisulares en el uso clínico. Al mismo tiempo, se desarrollaron otros adhesivos tisulares como por ejemplo, alquil-2-CA o el monómero n-butilo-2-CA, en Europa, Japón, Israel y Canadá. El empleo en clínica del n-butilo-2-CA denominado *Histoacryl Blue®*, fueron comunicados, para el cierre de heridas, laceraciones traumáticas e incisiones quirúrgicas, hizo que se convirtiera en el primer

adhesivo tisular de tipo CA usado clínicamente para el cierre de incisiones de la piel en Europa y Canadá a principios de los años 80.

En 1998 la FDA aprobó el uso del Dermabond (2-octilo-CA) como adhesivo tisular para el cierre de heridas. En el año 2000 se aprobó el uso del CA “Trufill” (n-butilo-2-cianoacrilato) en la embolización neurológica. Y en 2002 la FDA aprobó el segundo monómero de CA “Indermil” (n-butilo-2-CA) también en el cierre de heridas.

Posteriormente se han ido desarrollando otros monómeros de CA y su aprobación para los diferentes usos clínicos que se vienen dando en la actualidad. *(Tabla I.)*

CA (Productos comerciales)		
R	Nombre	Nombre comercial
-CH ₃	Metilo-2-cianoacrilato	Adhesivo Eastman 910
-C ₂ H ₅	Etilo-2-cianoacrilato	Krazy Glue
-C ₄ H ₉	n-Butilo-2-cianoacrilato	Glubran, Histoacryl®, Trufill líquido, Indermil, Liquiband®
-C ₆ H ₁₃	n-Hexilo-cianoacrilato	Ifabond®
-C ₈ H ₁₇	n-Octilo-cianoacrilato	Dermabond®

Tabla 1. CA y productos comerciales (Tomado y modificado Quinn, 2005)

1.3 FORMULACIÓN QUÍMICA DE LOS CIANOACRILATOS.

1.3.1 Propiedades químicas y físicas.

Los CA son una familia de monómeros líquidos (Chu y cols. 1997) compuestos de ésteres de alquilo del ácido 2-cianoacrílico. Estos polimerizan a temperatura ambiente en una reacción exotérmica liberando calor en el proceso, en contacto con una pequeña cantidad de agua o fluido básico para formar polímeros, poli (alquilo-2-cianoacrilato). Forman fuertes uniones adhesivas con una variedad de sustratos como madera, metal, tejidos duros (hueso), y tejidos blandos (piel, tejido subcutáneo y estructuras vasculares).

Más del 90% de las formulaciones de los CA están compuestas del monómero líquido puro alquilo-2-cianoacrilato. Los otros componentes de la formulación se añaden para obtener un rendimiento adecuado en los productos finales deseados. Estos incluyen estabilizadores (para prolongar la vida útil de la formulación), inhibidores de la polimerización (para retrasar la transición de la formulación líquida al polímero sólido), y plastificantes (para maximizar la dureza y flexibilidad del polímero después de su aplicación, como es el caso de los productos de aplicación cutáneos).

1.3.2 Síntesis del monómero de cianoacrilato.

Los diferentes CA (alquilo-2-cianoacrilato) pueden ser fabricados alterando el grupo alcóxicarbonilo (-COOR) de la molécula. La mayoría de los métodos implican una condensación de formaldehído ($H_2C=O$) con un cianoacetato de alquilo ($N=C-CH_2-COOR$) en presencia de una base catalizadora (piperidina) para formar un polímero de éster cianoacrílico de bajo peso molecular, el alquilo-2-cianoacrilato. Este polímero es posteriormente despolimerizado en presencia de un inhibidor de la polimerización (como el pentóxido de fósforo, óxido nítrico, dióxido de sulfuro) a alta temperatura calentando el producto de la destilación del monómero adhesivo de CA líquido alquilo-2-cianoacrilato. Posteriormente es purificado por varias destilaciones fraccionadas consecutivas, eliminando reactantes y cualquier material no utilizado que pueden causar una polimerización prematura. El monómero líquido de CA es posteriormente

estabilizado con un inhibidor radical libre, tal como la hidroquinona, que previene la repolimerización.

De manera general los CA son formados por una combinación de formaldehído y cianoacetato, en presencia de una base, para formar un polímero de bajo peso molecular. Cuando estos polímeros se colocan al vacío en presencia de calor, se convierten en un monómero líquido (*Figura 1*).

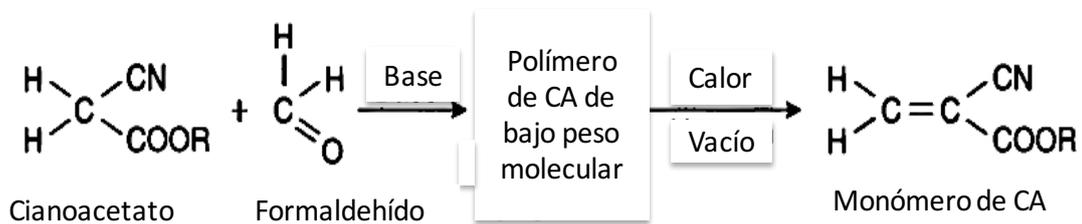


Figura 1. Síntesis de los CA (Tomado y modificado Quinn, 2005).

Finalmente, varias formulaciones de CA pueden ser fabricados de acuerdo al grado de viscosidad, su extensibilidad (*spread-ability*), tiempo de acción, fuerza de unión, tiempo de degradación, así como otras propiedades físicas, químicas y mecánicas de los monómeros de CA.

1.3.3 Estructura química de los cianoacrilatos.

La estructura química básica es similar para toda la familia de CA, pero la cadena lateral alquilo o carbono, tienen un importante impacto en las propiedades y en el rendimiento de los adhesivos. (*Figura 2*).

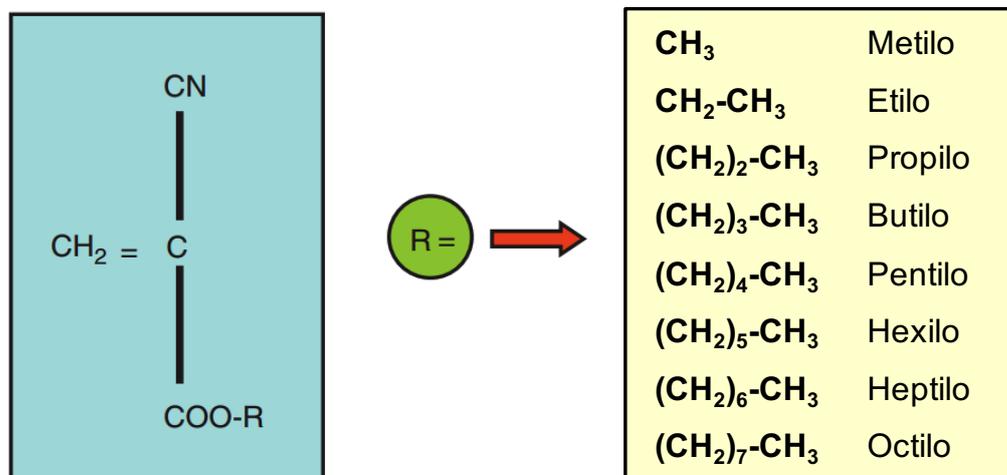


Figura 2. Estructura química del CA de alquilo, donde R es el resto alquilo. Se incluyen los derivados de CA más conocidos (Tomado y modificado de Moreno Egea, 2013).

En general, cuanto más corta sea la cadena lateral alquilo, o más ramificaciones tenga la cadena lateral, o más moléculas de oxígeno sean incorporadas dentro de la cadena alquilo (metilo, etilo), más reactivo será el compuesto final. Un compuesto muy reactivo se fijara rápidamente y será extremadamente fuerte. Sin embargo, esta fuerza no siempre equivale a un vínculo más fuerte, porque los monómeros de cadena corta tienden a formar, enlaces más frágiles, que pueden llegar a romperse fácilmente. Además los monómeros de cadena corta, cuando son expuestos a ciertos tejidos (húmedos o alcalinos), darán como resultado una rápida polimerización, pudiendo causar un aumento considerable de la temperatura del tejido durante la polimerización. (Matsumoto y cols. 1967 A; Matsumoto y cols. 1967 B). Los monómeros de cadena corta también se degradan más rápidamente que los de cadena larga. Cuanto más rápido se degrada un compuesto, mayor es la cantidad de productos de degradación (formaldehído y cianoacetato). En grandes cantidades, estos productos pueden llegar a ser citotóxicos (Wade y cols. 1972). El formaldehído y el cianoacetato tienen el potencial de ser citotóxicos, causar reacciones inflamatorias, y alterar la cicatrización de las heridas. Sin embargo, en general, incluso si los monómeros de cadena corta, son usados por vía tópica, su degradación será lo suficientemente lenta, dando lugar a que estos productos de degradación sean mínimos.

Se ha descubierto que los monómeros de cadena larga, particularmente, los de 4 carbonos y los más largos, son óptimos para su uso en clínica. Estos polímeros se degradan por hidrólisis, y cuanto más larga sea la cadena alquilo, más hidrofóbico será el polímero. La cadena alquilo del polímero octilo es tan larga e hidrofóbica, que puede tardar años en degradarse (Pani y cols. 1968; Woodward y cols. 1965). La baja reactividad de estos compuestos también están acompañados de un bajo proceso de polimerización, resultando en un tiempo más largo de sellado.

La longitud y la estructura de la cadena lateral alquilo también imparte otra importante propiedad física a este monómero, como es la flexibilidad. En general, cuanto más largo o más complejo sea la cadena lateral, más flexible será el monómero de CA. Estas propiedades físicas son muy importantes en el momento de considerar la indicación para el uso de este adhesivo.

1.3.4 Polimerización.

El monómero de CA empezará a polimerizarse en presencia de sustancias básicas, es decir aquellos, con iones hidroxilo, tales como la humedad de la piel, el agua, y la sangre, uniéndose de esta manera al tejido. El proceso se realiza por una reacción exotérmica, emitiendo una gran cantidad de calor. La cantidad de calor generada será directamente proporcional a la velocidad de polimerización y la cantidad de adhesivo administrado. La velocidad de polimerización será afectada por la cantidad de iones hidroxilo libres presentes, la estructura química del CA, y los aditivos tales como agentes que aumentan la viscosidad y estabilizadores. El monómero de CA contiene tres partes: El grupo ciano, el grupo alquilo, y el grupo acrilato. La parte etileno del grupo acrilato es responsable de la polimerización. El ciano y la porción distal alquilo del compuesto alquilo-acrilato son iones negativos; estos polarizan los carbonos en el grupo etileno. En presencia de una base débil, estos grupos etilenos polarizados comenzaran a polimerizarse (*Figura 3*).

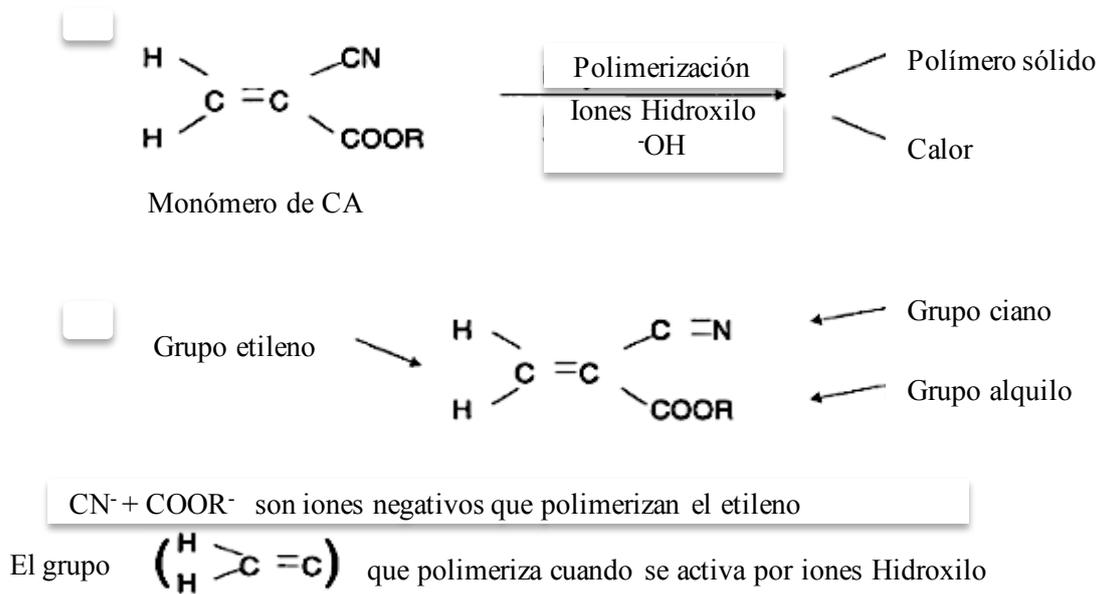


Figura 3. Polimerización de los CA (Tomado y modificado Quinn, 2005).

1.3.5 Degradación

La degradación de los polímeros de CA se produce por hidrólisis. La hidrólisis dependerá de la longitud de la cadena alquilo, por esta razón, los compuestos de cadena larga serán más hidrofóbicos, con lo que su degradación es mas lenta, por lo tanto en polímeros de cadena más larga, como el butilo y el octilo, la hidrólisis podría durar meses e incluso años (Pani y cols. 1968; Woodward y cols 1965). Los productos de degradación (formaldehido y alquilocianoacetato) en grandes concentraciones, pueden producir histotoxicidad y pueden ser absorbidos por vía cutánea (Ousterhout y cols. 1968). En general, los productos de degradación de los CA son excretados mediante la exhalación, con las heces y la orina (Quinn, 2005) (Figura 4). La presencia de estas sustancias es mínima cuando los monómeros de cadena larga se utilizan por vía tópica porque, los adhesivos desaparecen después de 10-14 días. Los derivados de cadena muy corta, se degradan más rápido, desprendiendo subproductos en una concentración significativamente mayor. Esto, en combinación con los subproductos tóxicos puede

causar una mayor respuesta inflamatoria en el tejido en el que se aplique. Por esta razón los CA de cadena corta no deben ser usados como dispositivos médicos.

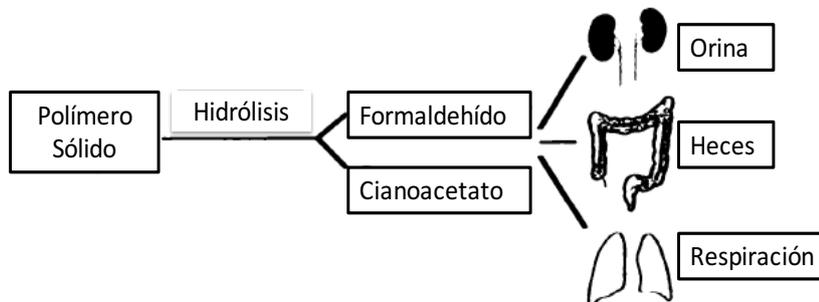


Figura 4. Degradación y excreción de los CA (Tomado y Modificado Quinn, 2005).

1.4 ESTADO ACTUAL DEL EMPLEO DE ADHESIVOS MÉDICOS EN CIRUGÍA. EFECTOS ADVERSOS DE SU UTILIZACIÓN.

Hoy en día, los adhesivos más utilizados en cirugía son los adhesivos basados en fibrina y CA, por ese motivo en este apartado solo se hace referencia a estos dos tipos de adhesivos.

1.4.1 Adhesivos con base de fibrina.

1.4.1.1 Uso clínico.

El sellador de fibrina se ha utilizado en una amplia variedad de aplicaciones clínicas, como operaciones de bypass cardiopulmonar, trauma esplénico, resección hepática, o el sellado de anastomosis del colon en el momento de cierre de la colostomía.

Cirugía Cardíaca.

Un ensayo clínico prospectivo aleatorizado utilizado para obtener el registro sellador de fibrina en los Estados Unidos mostró que este agente podría ser utilizado con

éxito en cirugías cardíacas (Rousou y cols. 1989). Se redujo el volumen de la hemorragia y necesidad de reintervención en los pacientes que tenían este material empleado durante sus procedimientos.

Cirugía Torácica.

El uso de selladores de fibrina en las resecciones pulmonares sigue siendo controvertido. Este es un ambiente extremadamente difícil para los adhesivos quirúrgicos. El sellado del parénquima pulmonar requiere de un material que sea a su vez sea elástico y fuertemente adherente a la superficie del parénquima. Hay muchos informes en la literatura en apoyo de la utilización de selladores de fibrina no sólo para sellar fugas de aire del parénquima sino también para el cierre de las del árbol bronquial (Bayfield y cols. 1996).

Cirugía Vasculuar.

Los sellantes de fibrina son un medio eficaz para reforzar la anastomosis vascular antes de restituir la circulación en los vasos sanguíneos. La polimerización de estos sellantes se producen entre 1 a 2 minutos permite el refuerzo adecuado de la anastomosis antes de la restitución completa de la circulación. Actualmente, el uso de fibrinas forma parte de los medios disponibles que se utilizan para lograr una adecuada hemostasia y para reforzar las suturas de polipropileno en las anastomosis realizadas con injertos de PTFE. (Schenk y cols. 2002; Schenk y cols. 2003).

Cirugía Gastrointestinal.

El uso de los sellantes de fibrina para el refuerzo de las anastomosis gastrointestinales, particularmente para las anastomosis de colon, aun sigue creando muchas controversias, dado que en la literatura se describen resultados diversos (Valleix y cols. 1990; Byrne y cols. 1992; Van der Ham y cols. 1993; Detweiler y cols. 1996). Varios de estos artículos intentan demostrar el uso sellador de la fibrina en situaciones extremadamente difíciles, incluyendo peritonitis y anastomosis de alto riesgo. Sin

embargo, el sellador de fibrina comercial ha sido aprobado por la FDA como un complemento de la anastomosis del colon en el momento de cierre de la colostomía (Baxter Healthcare Corp. 2002)

En una reciente revisión llevada a cabo por Nordentoft y cols. 2015, en la que examinan 28 estudios (17 aleatorizados) realizados en diferentes especies animales (23 en ratas, 2 en conejos, 2 en cerdos y 1 ratón) observaron los siguientes resultados: en 7 de los estudios se encontró una mejora en el proceso reparativo en los animales en los que se protegía la anastomosis con fibrina; en otros 8 los efectos del adhesivo fueron negativos; en 11 no hubo efectos y, finalmente en 2 los resultados no fueron claros. Los autores concluyen después de esta revisión, que el adhesivo de fibrina proporciona más bien un efecto “sellador” que mejoraría en algunos casos la buena mecánica a nivel de la anastomosis, mientras que en la mayoría de los casos no habría beneficio desde el punto de vista reparativo.

En humanos, Huh y cols. 2010, en anastomosis rectales, realizadas tras cirugía laparoscópica, obtuvieron una disminución de la tasa dehiscencia en los pacientes en los que se había protegido la anastomosis con un sellante de fibrina (5.8% vs 10.9% de los controles).

En un estudio en niños con atresia de esófago, Upadhyaya y cols. en 2007, observaron una disminución de la dehiscencia anastomótica cuando se empleaba fibrina.

Por el contrario en dos estudios realizados en pacientes sometidos a by-pass gástrico (Y de Roux) Liu y cols. 2003 y Silecchia y cols. 2008, no encontraron diferencias en la dehiscencia anastomótica empleando un sellador de fibrina.

En consecuencia, los resultados son muy dispares tanto a nivel experimental preclínico como a nivel clínico.

Reparación herniaria mediante la fijación de mallas.

(Este apartado será tratado específicamente en el epígrafe 1.5)

1.4.1.2 Toxicidad de los adhesivos de fibrina.

Los problemas de seguridad asociados con el uso de sellador de fibrina están predominantemente relacionados con el riesgo de transmisión de enfermedades o los efectos negativos de los antifibrinolíticos utilizados en estos agentes. Específicamente, el riesgo de transmisión de enfermedades virales existe como resultado de la mezcla del plasma humano que se utiliza para crear el fibrinógeno y la trombina requerido por estos dos componentes selladores. Los fabricantes comerciales de sellador de fibrina hacen grandes esfuerzos para reducir el riesgo de transmisión de enfermedades virales.

1.4.2 Cianoacrilatos.

1.4.2.1 Uso clínico.

En la actualidad se ha generalizado el uso de los CA en diferentes áreas de la medicina y la cirugía. A continuación se comentan sus principales usos.

Como agentes hemostáticos.

Los CA han sido utilizados de muchas maneras diferentes en diversos campos de la cirugía debido a sus propiedades fisicoquímicas. En el año 2002, un estudio demostró la utilidad de una inyección de CA y de adrenalina como agentes hemostáticos de forma simultánea en cirugía de úlcera péptica. Finalmente, recomendaron esta técnica como una alternativa segura y eficaz en la hemostasia endoscópica, cuando otras técnicas convencionales no lograron controlar la hemorragia de las úlceras gastrointestinales (Repici y cols. 2002; Seewald y cols. 2002). Esposito y cols., (2004) publicaron excelentes resultados en el uso de adhesivos de CA en técnicas de laparoscopia pediátrica, tales como el control de sangrado en el parénquima de varios órganos, la reparación de perforaciones, como sellante de tejido en hernias inguinales congénitas y como sellante en biopsias pulmonares.

Cierre de heridas e incisiones quirúrgicas en la pared abdominal.

Clínicamente, el uso de los CA ha sido reconocido como un medio para el cierre de las lesiones de la pared abdominal. Dermabond® (octilo-cianoacrilato) ha sido aplicado directamente en el peritoneo durante una laparotomía, con buenos resultados. Este adhesivo se une a los bordes de la incisión con firmeza y crea una membrana impermeable y flexible sobre la herida, lo que impide la contaminación, y no requiere ningún mantenimiento subsiguiente (Borley y cols. 2001).

La aplicación tópica del adhesivo en las heridas de la pared abdominal parece haber sido debidamente probado, y los CA han sido propuestos como una alternativa a las grapas y los puntos de sutura. Al comparar los tratamientos, no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la curación o la satisfacción del paciente (Cuschieri y cols. 2001; Jaibaji 2002; Ong y cols. 2010). Los cianoacrilatos también han demostrado ser útiles en situaciones donde el área de lesión es un sitio húmedo. Un estudio exhaustivo, en la utilización de Dermabond® como “sutura” en incisiones quirúrgicas en la región inguinal de pacientes pediátricos que utilizan pañales, no encontró ninguna diferencia en comparación con los pacientes tratados con una sutura estándar, ya sea en términos de dehiscencia o infección (Ferlise y cols. 2001).

Cierre de incisiones de cirugía laparoscópica.

El uso de los CA para el cierre de las incisiones de laparoscopia ha dado lugar a resultados contradictorios. Esposito (1997) puso de manifiesto las ventajas y recomendaciones para el uso de pegamentos biológicos en diferentes tipos de cirugía, tales como biopsias hepáticas y pulmonares, el tratamiento de la hemorragia secundaria a colecistectomías y la perforación de la mucosa esofagogástrica, así como para incisiones laparoscópicas. Desde 2001, una serie de trabajos han valorado positivamente el uso de CA en diversas técnicas laparoscópicas, como en el caso de una exéresis de un quiste esplénico, con un buen control de la hemostasia (Mitolo y cols. 2001).

Con respecto al cierre de heridas laparoscópicas, los resultados de varios artículos han hecho énfasis a favor de la rápida curación de las lesiones tratadas con CA, debido al fácil y rápido sellado de la zona. El uso de CA en cirugías laparoscópicas no dio lugar a un aumento de las tasas de infección o dehiscencia, el aspecto final era bueno, y la opinión de los cirujanos también fue muy positiva (Rosin y cols. 2001; Barto 2002; Dowson y cols. 2006).

En los ensayos que compararon cianoacrilato de octilo, cinta de papel adhesivo y poliglecaprona como un método de cierre en cirugías laparoscópicas, no se encontraron diferencias significativas si se tienen en cuenta parámetros como la dehiscencia de la herida, infección de la herida y la satisfacción del paciente. El cianoacrilato requirió un tiempo de sellado más corto para el cierre de la herida, con buenos resultados estéticos (Maartense y cols. 2002; Helbling y cols. 2003; Sebesta y cols. 2003; Switzer y cols. 2003; Jallali y cols. 2004; Sajid y cols. 2009).

Nowobilski y cols. (2004) compararon las suturas convencionales con los CA y concluyeron que no hubo diferencias ni en resultados estéticos, ni en el coste total del tratamiento, aunque el uso de CA fue ventajoso debido a la ausencia de dolor, a diferencia de los otros tratamientos. Sebesta y cols. (2004) argumentaron que el factor que diferenciaba los CA de otros tratamientos fue, que la operación era más corta en tiempo, así como el menor coste.

Uso en el tracto digestivo.

El uso de los adhesivos de CA como sellantes en las anastomosis del tracto digestivo ha sido estudiado en varios artículos. Una extensa revisión del uso de todos los tipos de adhesivos en las anastomosis intestinales fue presentada por Nordkild y cols. (1986). Los CA no fueron recomendados como una alternativa a los métodos convencionales debido a sus pobres resultados obtenidos inicialmente en los casos revisados. Sin embargo, un artículo más reciente destacó, la eficacia de adhesivos biológicos cuando fueron usados como refuerzo para la sutura convencional de la anastomosis esofágica, y recomendó el uso de “Tisuacryl” (butilo-cianoacrilato) junto

con la sutura, ya que esto evitaba la formación de dehiscencia y fístula, y mejoró la tasa de éxito de la operación (Roque y cols. 2006).

Los bioadhesivos se han utilizado también para reparar las fistulas en el tracto digestivo. Drury y Grundy (1990) presentaron el caso de un paciente con una fístula esofágica, resuelta con el uso de CA a través de su aplicación con guía radiológica, evitando la necesidad de un procedimiento de mayor riesgo quirúrgico. El tratamiento endoscópico de una fístula postoperatoria secundaria a cirugía colorrectal con CA se informó más tarde; se prefirió esta opción frente a otras terapias conservadoras (Rotondano y cols. 2008). Las mismas conclusiones se alcanzaron en 2011, en un artículo que describió una serie de fístulas biliares y entéricas resueltas con éxito mediante la administración del CA transcatéter, lo que evitó la necesidad de procedimientos quirúrgicos de mayor riesgo (Bae y cols. 2011).

Con respecto a la cirugía de páncreas, los métodos quirúrgicos con frecuencia causan lesiones iatrogénicas, tales como fistulas pancreáticas. Los adhesivos de CA pueden ser útiles en la oclusión del conducto pancreático después de la resección del páncreas para prevenir la formación de fistulas. Los resultados de estos estudios confirmaron que el uso del adhesivo en el conducto pancreático principal parece ser un método de oclusión eficaz y seguro (Labas y cols. 2003; Alfieri y cols. 2006; Capaldi y cols. 2006; Sofuni y cols. 2006; Romano y cols. 2008; Labori y cols. 2009).

Reparación herniaria mediante la fijación de mallas.

(Este apartado será tratado específicamente en el epígrafe 1.5)

Cirugía vascular: tratamiento de las varices.

La posibilidad del uso de los adhesivos de CA como tratamiento para las varices gástricas o esofágicas ha sido considerada debido a su efecto hemostático (Battaglia y cols. 1999). En la actualidad, los tratamientos endoscópicos se utilizan con más frecuencia que la cirugía compleja. Sin embargo, es importante identificar la fuente de la hemorragia,

debido a que las técnicas utilizadas para el tratamiento de varices esofágicas o gástricas varían en gran medida dependiendo de la ubicación.

La obliteración endoscópica de las varices (OEV) con CA, consiste en una inyección intravenosa endoscópica del adhesivo, que se solidifica dentro de la vena y forma un coágulo, interrumpiendo así el flujo de sangre, generando una trombosis y deteniendo así el sangrado (Rollán 2007). Se han obtenido resultados muy satisfactorios con esta técnica, demostrando ser el tratamiento más efectivo en términos de mantener la hemostasia primaria y de disminuir la tasa de nuevas hemorragias (Serpa y cols. 1998; Seewald y cols. 2001; Mahadeva y cols. 2003; Noophun y cols. 2005; Ryu y cols. 2005; Mumtaz y cols. 2007; Onozato y cols. 2007; Suhimoto y cols. 2007; Zumaeta 2007; Rollán 2007; Belletrutti y cols. 2008; Maruyama y cols. 2010). A pesar de la popularidad de esta técnica, se han observado complicaciones derivadas de la escleroterapia con CA. La aplicación del adhesivo causó un tromboembolismo pulmonar en varios casos (Wahl y cols. 2004; Neumann y cols. 2009). También ha habido casos de bacteriemia persistente posteriores a la embolización con CA. Estos están relacionados con reacciones a cuerpo extraño provocados por la presencia del adhesivo, que han hecho mantener un tratamiento antibiótico prolongado para resolver la infección (Galperine y cols. 2009). Un revisión demostró las ventajas de esta técnica, en especial la hemostasia eficaz de las venas varicosas y su revascularización inferior (Cheng y cols. 2007).

La ligadura endoscópica de las varices ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de varices grandes, mientras que la embolización con CA tiene una tasa de recidiva más baja, lo que explica por qué la combinación de ambos tratamientos se ha recomendado como el método preferido (Seewald y cols. 2001; Suhimoto y cols. 2007).

Embolización arterial.

El uso de los CA en la embolización arterial han demostrado buenos resultados en la cirugía de urgencias para los pseudoaneurismas a nivel infrarrenal, con todas las lesiones tratadas correctamente, sin ningún tipo de complicaciones relacionadas con el procedimiento. Durante el seguimiento no hubo evidencia de re-sangrado o deterioro de la función renal (Cantademir y cols. 2003).

En la embolización de la arteria esplénica, los CA también han dado buenos resultados, tanto a corto como a largo plazo, si se compara con otras opciones quirúrgicas más agresivas, ya que podría preservar la función del bazo (Kim y cols. 2004; Lagana y cols. 2005). Los CA también han sido utilizados para inhibir la hemorragia causada por rotura traumática de la arteria esplénica. Se han realizado embolizaciones con NBCA (n-butilo-2-cianoacrilato), junto con lipiodol, y se han obtenido buenos resultados en la detención de la hemorragia, pero los autores advirtieron que la concentración y el volumen de ambas sustancias deben adaptarse a cada caso individual (Ishikawa y cols. 2011).

Con respecto al tratamiento de trastornos vasculares en el tejido hepático, un artículo publicado informó de un caso clínico con una fístula hepática arterioportal con hipertensión portal. La embolización transarterial fue el tratamiento elegido, y el caso se resolvió con éxito (Núñez y cols. 2006). En 2006, se publicaron los resultados de una embolización transcatéter de un shunt venoso portosistémico intrahepático. El caso se resolvió con éxito utilizando NBCA (n-butilo-2-cianoacrilato) (Yoshimatsu y cols. 2006). Un aneurisma en la arteria epigástrica inferior, causada por cirrosis hepática, con ascitis y problemas de la coagulación, también fue tratado con éxito mediante la embolización con CA (Park SW y cols. 2008).

También se han obtenido buenos resultados en el tratamiento de aneurismas en diferentes arterias. Yamagami y cols. (2006) y Rusius y cols. (2011), resolvieron aneurismas de la aorta abdominal con el uso de CA. Peynircioglu y cols. (2008) Gorlizter y cols. (2008) y Buckenham y cols. (2009) los emplearon con éxito en la embolización de endofugas después de resolver los aneurismas de aorta.

Un aneurisma del tronco celiaco fue resuelto con CA, lo cual destaca la idoneidad de la técnica, ya que la probabilidad de ruptura arterial en esta intervención quirúrgica es muy alta (Park SJ y cols. 2009). En la misma línea, Chandra y cols. (2010) y Park SW y cols. (2010) presentaron la embolización con CA como la opción preferida para la reparación de aneurismas de la arteria ilíaca interna.

1.4.2.2 Toxicidad de los adhesivos de cianoacrilato.

La toxicidad de los adhesivos de CA, fue inicialmente relacionada con el calor liberado por la reacción exotérmica durante la polimerización de los compuestos, y por la degradación de sus subproductos. En la actualidad, la toxicidad causada por los compuestos más nuevos, parece que puede producirse a través de dos vías. La primera se debería a la baja absorción del CA por los tejidos, lo que conduciría a una reacción de cuerpo extraño y a un aumento de la infiltración de células polimorfonucleares y macrófagos que intentan absorber los cristales de CA y el tejido dañado. Esto produciría muerte celular y degranulación de las lisozimas, que a su vez conduciría a la producción de isquemia local, necrosis y daño tisular. La segunda implica la producción y acumulación de formaldehído y cianoacetato, que causan muerte celular y liberación de radicales libres de oxígeno que oxidan lípidos, generando así la formación de hidroperóxidos de lípidos. La destrucción del tejido favorecería la liberación de tromboxano A₂, prostaglandinas y leucotrienos, que exacerban los procesos de isquemia, necrosis y daño tisular local (*Figura 5*).

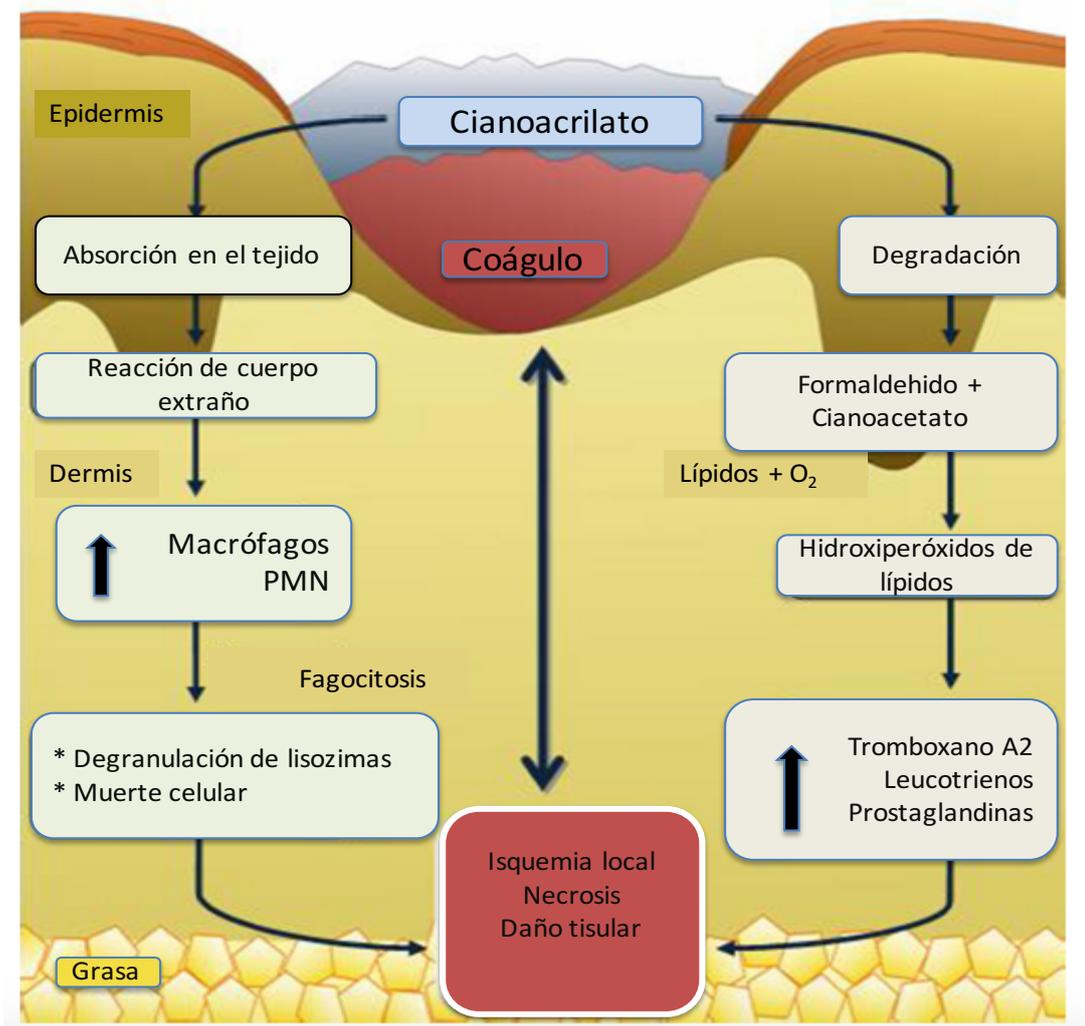


Figura 5. Respuesta inflamatoria de los CA (Tomado y modificado García Cerdá y cols, 2015). PMN: Polimorfonucleares.

1.5 ADHESIVOS TISULARES EN LA CIRUGÍA DE LA REPARACIÓN HERNIARIA (CIRUGÍA ABIERTA Y LAPAROSCÓPICA).

En el ámbito de la cirugía, las aplicaciones de los AT son múltiples y han ido en aumento a lo largo de estos últimos años. Uno de los campos en los que más ha progresado es en el de la cirugía de la pared abdominal, especialmente en relación con el tratamiento quirúrgico de los procesos herniarios. En la reparación de esta patología tanto de tipo primaria como secundaria a procedimientos quirúrgicos previos sobre la pared abdominal

(hernias incisionales), los adhesivos de tipo natural (compuesto de fibrina), así como los sintéticos están cada día siendo más empleados. Por las razones expuestas previamente, los AT como las fibrinas y los CA son los más atractivos en este tipo de reparación herniaria.

Generalmente la reparación herniaria se puede realizar por dos tipos de procedimientos, bien mediante cirugía abierta o mediante laparoscopia/endoscopia. Las reparaciones utilizando cirugía abierta suelen realizarse mediante una técnica “libre de tensión”, la técnica de Lichtenstein.

1.5.1 Adhesivos con base de fibrina.

El primer uso de fibrinas en la fijación herniaria y como prevención de recurrencias fue expuesto por [Chevrel y cols. \(1997\)](#). Compararon el uso de dos fibrinas: Tissucol® y Biocol®, como refuerzo a la cirugía convencional de la hernia incisional en 389 pacientes entre 1980 y 1996. No observaron diferencias entre ambas fibrinas, en cuanto a la morbilidad y las recurrencias.

[Canónico y cols. \(1999\)](#), usaron las fibrinas como medio para disminuir el sangrado post operatorio en pacientes con coagulopatías operados de hernia inguinal mediante la técnica de Lichtenstein, objetivando una disminución del sangrado post operatorio en estos pacientes.

[Fernández y cols. \(2001\)](#), usaron Tissucol® para completar la cirugía convencional colocándola entre la aponeurosis y el subcutáneo, en pacientes sometidos a cirugía de reparación de hernia incisional, incluyendo dermolipsectomía en el mismo acto quirúrgico. Concluyeron que en los pacientes donde se utilizó el Tissucol® disminuyeron las complicaciones post quirúrgicas (hematomas o abscesos) y que la estancia hospitalaria también fue menor en este grupo de pacientes.

Hidalgo y cols. (2005), compararon el uso de una fibrina (Tissucol®) con el empleo de la sutura convencional (polipropileno) en la reparación de hernias inguinales según la técnica de Lichtenstein. Concluyeron en este estudio que en los pacientes en los que usaron el Tissucol, el dolor y la inflamación local fueron menores que en los pacientes donde se usó la sutura como medio de fijación de la malla.

Canonico y cols. (2005), emplearon una fibrina humana (Tissucol®), como medio de fijación de las mallas en la reparación de la hernia inguinal según la técnica de Lichtenstein. Realizaron un seguimiento de los pacientes hasta 1 año después de la cirugía donde demostraron que no existieron complicaciones ni recidivas.

Lau (2005), realizó un estudio donde comparó el uso de las fibrinas humanas (Tisseel®) y grapas endoscópicas para fijar las mallas en la cirugía de la hernia inguinal por laparoscopia vía extraperitoneal (TEP). Demostró que no hubo diferencias significativas en cuanto a las recidivas herniarias entre ambos medios de fijación. Solamente se encontraron diferencias significativas en cuanto al dolor crónico (fue mayor en los que se emplearon la grapadora endoscópica) y en la formación de seromas (mayor con Tisseel®). Concluyeron informando que el uso de las fibrinas humanas es una buena elección como medio de fijación de las mallas en la cirugía de la hernia inguinal.

Topart y cols. (2005), realizaron un estudio donde compararon el uso de las fibrinas (Tisseel®) y los *tackers* como medio de fijación de mallas en la cirugía laparoscópica extraperitoneal de la hernia inguinal (TEP). Hicieron un seguimiento hasta 11 meses después de la cirugía y concluyeron que no hubo diferencias significativas entre los dos grupos, excepto que en el grupo de los *tackers*, en el que el dolor crónico fue mayor (14.7% vs 4.5%). Encontraron una recurrencia en el grupo de las fibrinas (1.5%).

Benizri y cols. (2006), realizan un estudio retrospectivo donde compararon el uso de las fibrinas (Tissucol®) con las suturas (polipropileno) como medios de fijación de las mallas en la cirugía abierta de la hernia inguinal. Realizaron un seguimiento de 12 meses

en el grupo de las fibrinas y 25 meses en el grupo de las suturas y no encontraron diferencias en cuanto a la recidiva herniaria. Apreciaron una reducción del dolor crónico en el grupo de las fibrinas (3.5% *versus* 22.8%; $p = 0.042$).

Novik y cols. (2006), realizaron un estudio donde compararon el uso de las fibrinas y los *tackers* en pacientes sometidos a cirugía de reparación herniaria por laparoscopia extraperitoneal (TEP). Hicieron un seguimiento de hasta 40 meses postcirugía, sin encontrar diferencias significativas en cuanto a complicaciones en ambos grupos.

Schwab y cols. (2006), realizaron un estudio retrospectivo para valorar el dolor crónico en pacientes sometidos a la cirugía laparoscópica extraperitoneal de la hernia inguinal (TEP), donde usaron como medios de fijación de la malla las fibrinas (Tissucol®) con las grapas endoscópicas. Concluyeron que el dolor crónico fue mayor en el grupo en el que se utilizaron las grapas endoscópicas (20.7% *versus* 4.7%), y que no hubo diferencias estadísticamente significativas respecto a otras complicaciones ni tampoco en cuanto a recurrencias.

Fine (2006), realizó un estudio donde utilizó una fibrina humana (Tisseel®) como medio de fijación de mallas (Surgisis) en la cirugía laparoscópica extraperitoneal de la hernia inguinal (TEP). Los resultados del estudio reflejaron que durante 1 año de seguimiento, el porcentaje de las complicaciones fue muy bajo, en especial del dolor crónico (7.9%) y solo en 1 caso de 38 en total, se detectó recurrencia herniaria.

Olmi y cols. (2006), realizaron un estudio donde emplearon una fibrina humana (Tissucol®) como medio de fijación de mallas en la cirugía laparoscópica vía transabdominal de la hernia inguinal (TAPP). Hicieron un seguimiento de 26 meses en todos los casos, no encontraron mayor porcentaje de complicaciones y solo mencionan un 1.8% de seromas y 0.3% de hematoma en el puerto de laparoscopia. No tuvieron casos de dolor crónico.

Canonico y cols. (2007), realizan un estudio en pacientes con dolor inguinal crónico por hernias, empleando las fibrinas (Tissucol®) para la fijación de mallas en lugar de las suturas. Concluyen que en todos los pacientes desaparece el dolor crónico, y que no tuvieron complicaciones post operatorias.

Lovisetto y cols. (2007), compararon el uso de las fibrinas (Tissucol®) con las grapas endoscópicas para la fijación de las mallas en la cirugía laparoscópica transabdominal de hernia inguinal. Realizaron un seguimiento de 12 meses y encontraron diferencias significativas en cuanto al dolor crónico, el cual fue menor en el grupo de las fibrinas y solo hubo una recurrencia herniaria en el grupo de las fibrinas, que fue atribuido a un defecto técnico.

Olmi y cols. (2007 A), realizaron un estudio para cuantificar el dolor en pacientes sometidos a cirugía laparoscópica transabdominal de la hernia inguinal (TAPP), comparando el uso de diferentes medios de fijación (Protack®, EndoAnchor® y Tissucol/Tisseel®). Las complicaciones, incluyendo el dolor crónico, fueron menores y la incorporación precoz al trabajo fue de menor tiempo en el grupo de la fijación con Tissucol®. Hubo mayor dolor crónico en los grupos en los que se usó el Protack®.

Santoro y cols. (2007), usaron las fibrinas para fijar las mallas en la cirugía laparoscópica transabdominal de la hernia inguinal (TAPP). Concluyeron que el dolor crónico disminuye y que la incidencia de seromas y hematomas post operatorios también son menores.

Olmi y cols. (2007 B), realizaron un estudio experimental en cerdos, donde emplearon las fibrinas (Tissucol®) con una dilución de cloruro cálcico, para fijar las mallas (Parietex®) en la cirugía laparoscópica de la hernia inguinal y abdominal. En dicho estudio realizaron un control laparoscópico a los 15 y 30 días y el sacrificio se hizo posterior al segundo control de 30 días. Objetivan en el control de los 15 días la ausencia de migración de las mallas y la buena integración al peritoneo parietal. Siendo la

integración mayor y la respuesta inflamatoria también a partir del día 30 de la cirugía. No reflejan complicaciones post quirúrgicas, y concluyen que las fibrinas con una dilución de cloruro cálcico proveen una mejor fijación e integración, previniendo la formación de adherencias intraperitoneales con las mallas usadas.

Olmi y cols. (2007 C), realizan un estudio empleando Tissucol® para fijar las mallas en la cirugía laparoscópica de la hernia incisional y de hernias primarias de la pared abdominal. Hacen un seguimiento de 16 meses, donde no encuentran complicaciones ni recurrencias y concluyen que las fibrinas son una buena opción para fijar las mallas en la reparación herniaria por laparoscopia vía intraperitoneal.

Ceccarelli y cols. (2008), realizan un estudio de casos y controles donde comparan las fibrinas y las grapas endoscópicas como medios de fijación de mallas en la cirugía laparoscópica transabdominal de la hernia inguinal (TAPP). En dicho estudio concluyen que no encuentran diferencias en cuanto al dolor crónico, la formación de seromas y la recurrencia.

Agresta y cols. (2008), realizan un estudio donde emplean los sellantes de fibrinas (Tissucol®) para fijar las mallas en la cirugía laparoscópica TAPP de la hernia inguinal. Hicieron un seguimiento de 14 meses, sin evidencia de complicaciones. Tan solo observaron una recurrencia.

Fortelny y cols. (2008), realizan un estudio donde emplean las fibrina para fijar las mallas en la cirugía laparoscópica transabdominal de la hernia inguinal (TAPP). En un seguimiento de 12 meses no objetivan mayores complicaciones y recurrencias, pero si refieren que todos los pacientes (solo 11 casos) presentaron dolor crónico menor en el postoperatorio.

Kingsnorth y cols. (2008), realizan un estudio donde emplean las fibrinas en la cirugía abierta de hernia incisional con separación de componentes, con un período de

seguimiento de 15 meses. La recurrencia (3.4%), y la formación de seromas e infecciones postoperatorias fue mínima. Concluyen que el uso de las fibrinas como apoyo en la cirugía abierta de la hernia incisional favorece la disminución de seromas y recurrencias.

Descottes y cols. (2009), realizan un estudio observacional multicéntrico donde emplearon las fibrinas (Tisseel®) para fijar las mallas en la cirugía de la reparación de la hernia inguinal tanto por vía abierta como laparoscópica. Realizan un seguimiento de un mes posterior a la cirugía. No evidenciaron recurrencias siendo las complicaciones locales mínimas (4.7%).

Campanelli y cols. (2009), realizaron el estudio TIMELI (Tissucol/Tisseel®) para la fijación de mallas en la reparación herniaria de Lichtenstein), en este estudio comparan el uso de las fibrinas frente al uso de las suturas en la cirugía abierta de la hernia inguinal. Concluyen que las complicaciones son menores en el grupo de las fibrinas y que con los resultados de este estudio demuestran la eficacia y seguridad del Tissucol® como medio de fijación de mallas en la reparación herniaria según la técnica de Lichtenstein.

Canziani y cols. (2009), emplean las fibrinas (Tissucol®) para fijar las mallas en la cirugía abierta de la hernia incisional. Concluyen que el dolor crónico post operatorio y la estancia media hospitalaria fue menor en todos los pacientes en los que se empleó la fibrina para fijar las mallas, y que no hubo formación de seromas en ninguno de los pacientes.

Testini y cols. (2010), realizaron un estudio donde comparan el uso de las fibrinas, CA (n-butilo) y las suturas (polipropileno) para fijar las mallas en la cirugía abierta de la hernia inguinal. Sus resultados reflejan que la morbilidad fue mayor en el grupo que se emplearon las suturas (38%) y menor en los grupos de fibrinas y n-butilo. No hubo diferencias estadísticas entre el grupo de las fibrinas y n-butilo. Los autores no reflejan el tiempo de seguimiento. Concluyen que tanto las fibrinas como el n-butilo son mejor tolerados que las suturas en la cirugía abierta de la hernia inguinal.

Bittner y cols. (2010), realizan un estudio donde evalúan el dolor crónico postoperatorio en los pacientes sometidos a cirugía laparoscópica transabdominal de la hernia inguinal (TAPP), comparando dos medios de fijación fibrinas (Tissucol®) y clips. En sus resultados con un seguimiento de hasta 6 meses se refleja que el dolor crónico disminuye de un 42% (pre operatorio) a un 8.3% (post operatorio).

Agresta y cols. (2010), realizan un estudio donde emplean las fibrinas (Tissucol®) para fijar las mallas en la cirugía laparoscópica transabdominal de la hernia inguinal (TAPP). En un seguimiento de 14 meses no tuvieron ninguna complicación. No hubo pacientes con dolor crónico y la incorporación al trabajo fue precoz. Concluyen que la cirugía laparoscópica y la fibrina como medio de fijación para las mallas son una buena opción en la cirugía abierta de la hernia inguinal, con buenos resultados a corto plazo.

Olmi y cols. (2010), realizan un estudio donde emplean las fibrinas (Tissucol®) para fijar las mallas (Hi-Tex®) en la cirugía laparoscópica de la hernia incisional. En este estudio hacen un seguimiento de 20 meses en pacientes seleccionados con defectos herniarios menores de 6 cm, donde no se evidencian complicaciones y detallan que el dolor crónico es mínimo en los casos estudiados.

Negro y cols. (2011), realizan un estudio observacional multicéntrico donde comparan el uso de las fibrinas (Tissucol®) y las suturas en la cirugía abierta de la hernia inguinal (Lichtenstein). Concluyen que las complicaciones, principalmente el dolor crónico post operatorio es menor en el grupo de las fibrinas y recomiendan su uso en la reparación herniaria de Lichtenstein.

Khaleal y cols. (2011), realizan un estudio donde emplean las fibrinas (Tisseel®) para fijar las mallas en la cirugía laparoscópica extraperitoneal de la hernia inguinal (TEP). Se realizó un seguimiento de hasta 6 meses por el mismo cirujano, donde no encontraron complicaciones post quirúrgicas y el dolor crónico solo se reflejó en un paciente (0.43%).

Eriksen y cols. (2011), realizan un estudio randomizado donde comparan las fibrinas (Tisseel®) con los *tackers* para fijar las mallas en la cirugía laparoscópica de la hernia umbilical. En sus resultados reflejan que el dolor post operatorio es menor en el grupo de las fibrinas. No observaron recurrencias (seguimiento 30 días).

Fortelny y cols. (2012), realizan un estudio donde comparan el uso de las fibrinas (Tisseel®) con las grapas endoscópicas, para fijar las mallas en la cirugía laparoscópica transabdominal de la hernia inguinal (TAPP). Realizan un seguimiento a 1 año, evaluando el dolor crónico postoperatorio con la escala VAS (escala visual análoga) y la calidad de vida con el formulario SF-36. En sus resultados reflejan que en los primeros meses postcirugía el dolor es menor en el grupo de las fibrinas pero que al año no hay diferencias significativas entre ambos grupos, y que la tasa de recurrencia es mínima. Concluyen que los resultados son similares en ambos grupos.

Cambal y cols. (2012), realizan un estudio donde comparan las mallas de Progrid® autofijables (Covidien) con fibrina (Tissucol®) fijando las mallas en la cirugía laparoscópica transabdominal de la hernia inguinal (TAPP). En este estudio comparan el dolor post operatorio inmediato y el dolor crónico (> 3 meses), no encontrando diferencias significativas entre ambos métodos en cuanto al dolor. En cambio si vieron diferencias significativas en cuanto al tiempo quirúrgico, que fue menor en las mallas autofijables.

Campanelli y cols. (2012 A), finalizaron el estudio TIMELI (Tissucol/Tisseel® para la fijación de mallas en la reparación de la hernia inguinal según la técnica de Lichtenstein), que comenzaron en 2008, reafirmando los resultados del inicio del estudio, en los cuales concluyen que las complicaciones (dolor, disconfort inguinal) fueron mínimas en el grupo que se empleo el Tissucol® y que no presentaron recurrencias a 12 meses de seguimiento.

Campanelli y cols. (2012 B), realizan un estudio donde emplean las fibrinas (Tissel®) para fijar las mallas en la cirugía abierta de la hernia inguinal (siguiendo los

parámetros del estudio TIMELI). Hacen un seguimiento de hasta 96 meses posterior a la cirugía, no encontrando dolor crónico severo en los pacientes. En un 2.7% presentaron dolor crónico moderado.

Shah y cols. (2012), realizan un estudio donde emplean las fibrinas (Tisseel®) para fijar las mallas en la cirugía laparoscópica extraperitoneal de la hernia inguinal. Hacen un seguimiento a corto plazo donde mencionan que tanto el dolor postoperatorio como la calidad de vida son óptimos en los pacientes de este estudio, recomendando el uso de las fibrinas para fijar las mallas en la cirugía herniaria.

Sözen y cols. (2012), comparan el uso de las fibrinas (Tissucol®) con las suturas (Prolene®) en la cirugía abierta de la hernia inguinal (técnica de Lichtenstein). En un seguimiento de 12 meses posteriores a la cirugía comparan el dolor postoperatorio, la incorporación al trabajo y el dolor crónico en ambos grupos. Encuentran diferencias estadísticamente significativas a favor del grupo de las fibrinas, concluyendo que estas son buen método eficaz y seguro para la fijación de mallas.

Berney y cols. (2013), realizan un estudio donde emplean las fibrinas para fijar las mallas en la cirugía laparoscópica extraperitoneal de la hernia inguinal (TEP). Hacen un seguimiento de hasta 6 meses posterior a la cirugía, evaluando el dolor crónico y las molestias inguinales. En resultados un 96% de los pacientes no presentaron molestia alguna y solo tuvieron un 0.6% de recurrencias.

Tolver y cols. (2013), comparan las fibrinas con los *tackers* como medios de fijación de las mallas en la cirugía laparoscópica transabdominal de la hernia inguinal (TAPP). Realizan un seguimiento de hasta 6 meses posteriores a la cirugía, evaluando el dolor crónico, la sensación de cuerpo extraño, y el confort en la vida diaria. Encontraron diferencias significativas a favor de las fibrinas en todos estos parámetros, concluyendo que las fibrinas tienen un mejor resultado a corto plazo en comparación con los *tackers*.

Eriksen y cols. (2013), realizan un estudio donde comparan el uso de las fibrinas *versus tackers* como medios de fijación para las mallas en la cirugía laparoscópica de la hernia umbilical. Hacen un seguimiento de un año, no encontrando diferencias significativas en ambos grupos en cuanto al dolor y calidad de vida. Obtuvieron un mayor porcentaje de recurrencia en el grupo de las fibrinas atribuyéndolo al mayor defecto herniario durante la cirugía.

Stoikes y cols. (2013), realizan un estudio donde emplean las fibrinas como medio de fijación y sellado de mallas en la reparación abierta de las hernias ventrales/incisionales. Realizan un seguimiento de hasta 19.5% meses postcirugía, teniendo como resultados complicaciones mínimas en cuanto a seromas, hematomas e infección de heridas. No tuvieron recurrencias. Concluyen que este es el primer estudio donde se emplea únicamente las fibrinas para fijar las mallas en cirugía abierta de la hernia incisional, teniendo buenos resultados a corto plazo.

Fortelny y cols. (2014), realizan un estudio comparando las fibrinas con las suturas para fijar las mallas de PTFE (Politetrafluoroetileno) en la cirugía abierta de la hernia inguinal (reparación de Lichtenstein), hicieron un seguimiento de un año, donde valoraron las complicaciones postoperatorias (seromas, infecciones), dolor, calidad de vida y recurrencias. Los resultados reflejaron que el grupo de las fibrinas tuvieron menos complicaciones y dolor postoperatorio. No observaron recurrencias.

Bracale y cols. (2014), comparan las fibrinas (Quixil®) con la sutura para fijar las mallas en la cirugía abierta de la hernia inguinal (reparación de Lichtenstein). Realizan un seguimiento de 12 meses, donde objetivan en el grupo de las fibrinas un menor dolor y sensación de parestesias en el postoperatorio. Solo tuvieron una recurrencia en el grupo de las fibrinas.

Chan y cols. (2014), realizan un estudio donde comparan las fibrinas y las grapas endoscópicas para la fijación de mallas en la cirugía laparoscópica extraperitoneal de la

hernia inguinal (TEP). Realizan un seguimiento de 1 año, donde no encuentran diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos en cuanto al dolor post operatorio, el dolor crónico y la calidad de vida.

Damiano y cols. (2014), realizan un estudio observacional prospectivo donde comparan las fibrinas con las suturas en la cirugía abierta de la hernia inguinal (reparación de Lichtenstein). No encuentran diferencias significativas en ambos grupos en cuanto al dolor y a las complicaciones postoperatorias.

Ferrarese y cols. (2014), comparan el uso de las fibrinas y las grapas endoscópicas en la fijación de las mallas en la cirugía laparoscópica transabdominal de la hernia inguinal (TAPP). Valoran el dolor y las complicaciones post operatorias tempranas. No encuentran diferencias significativas entre ambos grupos.

Odobasic y cols. (2014), realizaron un estudio donde comparan el uso de las fibrinas con las suturas en la cirugía abierta de la hernia inguinal (reparación de Lichtenstein), con un seguimiento de hasta 3 meses postoperatorio. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas a favor del grupo de las fibrinas en cuanto a menor tiempo quirúrgico y menor dolor postoperatorio.

Campanelli y cols. (2014), dan a conocer los resultados secundarios del estudio TIMELI y encuentran diferencias significativas a favor del grupo de las fibrinas en cuanto a menor aparición de parestesias y disconfort en la región inguinal, existiendo diferencias significativas en cuanto al dolor en ambos grupos a los 12 meses de seguimiento.

Phillips y cols. (2014), realizan un estudio donde emplean las fibrinas para fijar las mallas y aproximar el peritoneo en la cirugía laparoscópica transabdominal de la hernia inguinal (TAPP). Sus resultados indican que a los 21 días del post operatorio no hubo dolor residual y que la media de incorporación al trabajo fue de 10 días.

Stoikes y cols. (2015), realizan un estudio experimental en cerdos, comparando las fibrinas con las suturas para fijar las mallas en la cirugía laparoscópica de la hernia incisional. Realizan un seguimiento a las 24 horas, los 7 y los 14 días. No encontraron diferencias en cuanto a los resultados histopatológicos de integración y a la resistencia en ambos grupos en los días 7 y 14. Si encontraron que la resistencia de adhesión de la malla fue más fuerte en el grupo de las suturas que en el control de 24h.

1.5.2 Cianoacrilatos.

La primera referencia del uso de un CA en reparación herniaria fue comunicada en 1984 por Shapkina y cols. y Kravtsov y cols., empleándolos en reparación de hernias en niños.

Canónico y cols. (1995), compararon el uso de un AT biológico con una sutura en cirugía de hernia inguinal. No encontraron diferencias entre AT y sutura en cuanto a la incidencia de seromas, pero sí en el de hematomas. Farouk y cols. (1996) publican los resultados clínicos del empleo de Indermil® (butilo-2 CA) en la fijación de prótesis de hernioplastias tipo Lichtenstein. La media de seguimiento de los pacientes es de 9 meses (rango 6-12 meses) no observando recidiva alguna.

Jourdan y cols. (1998), reparan en 7 pacientes hernias inguinales por vía laparoscopia extraperitoneal y aplican un CA (n-butilo) para la fijación de una prótesis empleando un aplicador especial para cirugía laparoscópica. No encuentran recidivas (no especifican el tiempo de seguimiento). Supone una facilidad técnica frente a los *tackers*.

Birch y cols. (2001), realizan un estudio experimental en conejo, fijando una prótesis de PTFEe (Politetrafluoroetileno expandido) a un defecto total de la pared abdominal empleando sutura, *tackers* ó un CA n-octilo (Dermabond®). Sacrifican a los animales a las 2, 4 y 6 semanas. El CA produjo una reacción inflamatoria en los tejidos receptores y la integración a la prótesis fue peor que con las suturas y los *tackers*. La fuerza mecánica para provocar un desplazamiento del implante fijado con octilo fue

menor que la empleada para desplazar los implantes fijados con sutura o *tackers*. Aparentemente el CA provoca una inflamación que retrasa la emigración celular que coloniza los intersticios de la prótesis de PTFEe. A nivel peritoneal no interfiere con la reperitonización de la prótesis y no induce más adherencias que los *tackers* y suturas.

Helbling y cols. (2003), realizan un estudio en una población de 46 pacientes con hernia inguinal sometidos a hernioplastia de Lichtenstein, distribuidos en dos grupos en los cuales en un grupo fijan la prótesis con puntos de sutura de PDS (Polidioxanona) y en el otro con un CA n-butilo (Histoacryl®). Desde el punto de vista clínico observan un curso postoperatorio mejor en los pacientes en los cuales se aplicó el AT respecto al de la fijación de la prótesis con puntos de sutura.

Nowobilski y cols. (2004), realizan un estudio clínico en pacientes sometidos a hernioplastia de Lichtenstein, fijando las prótesis en un grupo de pacientes con sutura reabsorbible y en la otra con Indermil® (CA n-butilo). Además en este grupo de pacientes el AT es utilizado también para cierre de fascia y de piel. Los resultados son buenos en cuanto a dolor postoperatorio. El seguimiento de los pacientes es corto 4,7 meses (rango 3-9 meses) no existiendo recidivas en las hernioplastias con AT.

Miyano y cols. (2004), realizaron un estudio de obliteración del conducto peritoneo-vaginal en ratas empleando Dermabond® (CA n-octilo), por vía laparoscópica, obteniendo resultados favorables en los casos en los cuales se aplicaba el AT para obliterar dicho conducto. Se comprobaron los resultados con herniograma.

Fortelny y cols. (2007), realizan otro estudio experimental en ratas, creando defectos a ambos lados de la línea media del abdomen, de 1.5 cm de diámetro. Esperan 10 días a que el defecto se consolide como un defecto herniario y lo reparan con una prótesis de PP/titanio de 2x2 cm fijadas con Glubran® (CA n-butilo). No realizan controles con otro tipo de fijación de la prótesis. Los tiempos de estudio son 17, 28 días y tres meses. Concluyen que el AT altera las propiedades de integración de la prótesis

(dicha integración está ausente en los lugares donde hay residuos de CA) y la biomecánica de la pared (elasticidad) en el lugar del implante. Este trabajo presenta diversos sesgos como por ejemplo, el uso de las mismas prótesis empleadas para estudio mecánico y posteriormente utilizadas para estudio histológico. Mencionan la aparición de microabscesos.

Ladurner y cols. (2008), realizan un estudio experimental en conejo blanco Nueva Zelanda, comparando la fijación de prótesis en situación intraperitoneal empleando *tackers*, suturas transabdominales (Prolene®) ó un pegamento de CA n-butilo (Glubran®). Las prótesis utilizadas fueron de PTFEe (DualMesh®), PP (Polipropileno)/PVDF (Fluoruro de polivinilideno) (DynaMesh®-IPOM). Los animales fueron sacrificados a las 12 semanas. La formación adherencial fue mayor para las prótesis de PP/PVDF bien fijadas de forma transabdominal o con *tackers* respecto a las fijadas con CA. La fijación de las prótesis de PP/PVDF con CA mostró una resistencia tensil equivalente a las fijadas con *tackers*. Las prótesis fijadas con suturas transabdominales (tanto PTFE como PP/PVDF) mostraron una mayor resistencia mecánica que las fijadas con CA y *tackers*.

Kull y cols. (2009), comparan *in vitro* la resistencia mecánica de la adhesión provocada por un AT de CA n-butilo (Glubran®) con un AT de fibrina (Tissucol®). Realizan los test mecánicos en piel de cerdo. La resistencia a la rotura fue mayor para los CA.

Dilege y cols. (2010), realizan un trabajo experimental en ratas. Crean un defecto total en la pared abdominal e implantan una prótesis de polipropileno. La fijación de la prótesis la realizan con un CA (Glubran®) o sutura. Realizan los sacrificios a 21 y 42 días. El comportamiento cicatrizal con relación a los dos métodos de fijación fue similar, siendo la reacción de cuerpo extraño más importante en el grupo sutura. No encontraron diferencias en cuanto a resistencia mecánica.

Losi y cols. (2010), realizan otro modelo de hernia experimental en ratas, fijaciones con un CA (Glubran®) y con suturas de prótesis de polipropileno de baja densidad, en defectos músculo-fasciales de 1,2 cm con conservación del peritoneo. Sacrifican a los animales a 17, 28 días y 3, 4 y 5 meses. La reparación tisular fue similar en los grupos de fijación (AT *versus* suturas). Detectan una pequeña reacción inflamatoria en los lugares de aplicación del pegamento, con escasos macrófagos y células gigantes de cuerpo extraño. No observan necrosis ni células apoptóticas.

Testini y cols. (2010), en un estudio randomizado realizado en 154 pacientes portadores de 167 hernias (11 bilaterales), comparan la eficacia entre fijación de las prótesis con sutura, fibrina ó CA (n-butilo). Encuentran una mayor morbilidad postoperatoria (38,98%) en el grupo de fijación con sutura, respecto a los otros dos grupos de fijación de la prótesis (9,62 fibrina y 10,71 n-butilo).

Ladurner y cols. (2011), en un trabajo de experimentación preclínico randomizado, en el conejo blanco Nueva Zelanda, evalúan la fijación intraperitoneal de prótesis de PP/PVDF de 3x3 cm con suturas, *tackers* y un CA (Glubran 2®). El tiempo de estudio es a las 12 semanas de los implantes. Las prótesis fijadas con AT mostraron una mayor reacción inflamatoria. El porcentaje de adherencias fue menor en el grupo de fijación con *tackers* respecto a las suturas y el CA, no mostrando diferencias entre estos dos últimos. La resistencia mecánica fue mayor para suturas y *tackers* con respecto al pegamento (diferencias estadísticamente significativas).

Paajanen y cols. (2011), publican un trial en el cual fijan prótesis de polipropileno de baja densidad en hernioplastias tipo Lichtenstein con sutura reabsorbible ó un AT (Glubran®). Realizan el seguimiento a 1 año. No hubo diferencias en cuanto a la incidencia de dolor crónico entre los dos grupos de estudio. No se encontraron tampoco diferencias en cuanto a las recidivas.

Eldalbe y cols. (2012), en un estudio prospectivo sobre 198 pacientes, fijando prótesis con sutura con CA (n-butilo), encuentran menos dolor postoperatorio en los pacientes en los que se empleó un adhesivo (2,9 *versus* 10,3). Al año de revisión no hubo diferencias en cuanto a recidiva herniaria.

Shen y cols. (2012), utilizan en la reparación de hernias inguinales un AT (CA n-butilo) ó suturas para fijar una prótesis de baja densidad de polipropileno. Encuentran menos dolor post-operatorio y dolor crónico, y menor incidencia de hematomas en los pacientes en los que se emplea el AT. A 1 año no hay diferencias en cuanto a recidiva herniaria. En este trabajo se menciona el posible efecto hemostático de un AT.

Kukleta y cols. (2012), publican su experiencia clínica en 1336 reparaciones por laparoscopia de procesos herniarios inguinales empleando un AT (Glubran®). En el mismo trabajo ensayan *in vitro* e *in vivo* de forma experimental el comportamiento de un AT (Histoacryl®). *in vivo* comunican el buen comportamiento de Histoacryl® entre 3 días y 360 días, no diferenciándose en el mismo con relación a las suturas. En clínica emplean un AT diferente que en la fase experimental (Glubran®). Obtienen excelentes resultados en cuanto a presencia de dolor, corta estancia hospitalaria, ausencia de infecciones y un coste menor que la fijación con *tackers*.

Kim-Fuchs y cols. (2012), realizan un estudio clínico randomizado en 264 pacientes con operación de Lichtenstein, fijando las prótesis bien con sutura ó con un AT (Hsitoacryl®). En sus resultados encuentran una menor tendencia al dolor en los pacientes con AT. El índice de recurrencias es similar en ambos grupos. Recomiendan el uso de un AT en pacientes con tendencia a presentar dolor postoperatorio.

Brügger y cols. (2012), comparan los resultados de fijación de una prótesis por vía laparoscópica (intraperitoneal- TAPP) fijando la misma con *tackers* o con un AT (Gubran®). No hubo diferencias en la intensidad postoperatoria del dolor respecto a los dos tipos de fijaciones. La hipoestesia fue mayor después de la fijación con *tackers*.

De Goede y cols. (2013), en un meta-análisis revisando 1185 pacientes, en los que se emplearon suturas frente a un AT, encuentran menos dolor postoperatorio y un retorno a la actividad física más rápida con el empleo de AT. No encuentran diferencias en cuanto a recidivas entre los grupos de estudio. En el meta-análisis realizado no encuentran estudios de coste-efectividad entre el empleo de suturas y AT.

Ladurner y cols. (2013), ensayan de forma experimental en conejos blancos Nueva Zelanda, la capacidad de adhesión de prótesis de PP/PVDF previamente tratadas con un bioadhesivo compuesto por dextrano y quitosan. Emplean tres tipos de fijaciones en situación intraperitoneal implantando prótesis de 3x3 cm. El CA empleado es un n-butilo (Glubran 2®). La reacción inflamatoria fue significativamente mayor en las prótesis pretratadas. En los estudios mecánicos no observan ventajas del pretratamiento de las prótesis.

Colvin y cols. (2013), en una revisión con meta-análisis comparan la fijación de prótesis en reparaciones de hernias inguinales empleando AT (fibrina *versus* CA) o suturas. Seleccionan los estudios publicados recopilando un total de 1623 pacientes. El empleo AT redujo el dolor postoperatorio, la presencia de hematomas, y aceleró el retorno a las actividades de los pacientes. No se objetivó correlación del uso de AT con la tasa de recurrencia herniaria. En este meta-análisis no se distingue entre fibrina y CA en la valoración final de los parámetros estudiados. Ambos se analizan en cuanto a resultados como AT.

Ladwa y cols. (2013), realizan un meta-análisis en el que incluyen 1259 pacientes, de los cuales 628 fueron intervenidos fijando el material protésico con sutura y 653 con un AT (fibrina *versus* CA). No encuentran diferencias en cuanto a dolor y otras complicaciones postoperatorias entre los dos sistemas de fijación. Tampoco con relación a la estancia hospitalaria. Sí encuentran diferencias en cuanto al tiempo operatorio.

Moreno-Egea (2013), publica su experiencia con el empleo de un n-hexilo CA (Ifabond®) en la fijación de prótesis en reparaciones de hernia inguinal. Tanto en reparación abierta como laparoscópica las ventajas en cuanto a dolor postoperatorio y complicaciones como presencia de hematomas son menores con el empleo del AT.

Wang y cols. (2013), realizan la fijación de prótesis con un CA n-butilo por vía laparoscópica (técnica preperitoneal). Comparan los resultados con un grupo en el que además del pegamento se incluye una sutura. La media de seguimiento de los pacientes fue de 19 meses. Los pacientes en los que se fijaron las prótesis con el AT mostraron menos dolor postoperatorio y menor incidencia de hematoma, aunque las recidivas fueron iguales en ambos grupos.

Schug-Pass (2013), comparan en un modelo *in vitro* tres AT (uno de fibrina y dos sintéticos). Estudian la resistencia mecánica colocando una prótesis de polipropileno (Ti-Mesh®) sobre tejido fijándola con los diferentes AT. Obtienen mayores resistencias mecánicas (estadísticamente significativas) con los AT sintéticos respecto a la fibrina.

Moreno-Egea (2014), compara la reparación herniaria abierta y laparoscópica (preperitoneal) empleando respectivamente suturas *versus* un CA n-hexilo y *tackers versus* un CA n-hexilo. Encuentra menor dolor postoperatorio con el empleo del CA así como un menor tiempo operatorio en ambos procedimientos.

Reynvoet y cols. (2015), realizan un estudio experimental en 21 ovejas donde emplean un CA n-hexilo (Ifabond®) ó grapas endoscópicas (Securestrap®) para fijar las mallas intraperitoneales en la cirugía laparoscópica de la hernia incisional. Hacen un seguimiento con laparoscopia a las 24 horas, a las 2 semanas y a los 6 meses, valorando las adherencias intraperitoneales, la resistencia de la malla y la respuesta inflamatoria local. Las adherencias estuvieron presentes en ambos grupos (control y CA) a las 2 semanas y los 6 meses. En cuanto a la fuerza tensil fue de 100 N en todas las muestras en ambos grupos. Por último en cuanto a la respuesta inflamatoria, se objetivó una mayor

inflamación local a las 2 semanas en el grupo de los CA, pero a los 6 meses no hubo diferencias entre ambos grupos.

2. HIPÓTESIS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

En este trabajo de Tesis, se pretende evaluar de forma preclínica un nuevo adhesivo tisular de CA (n-octilo), destinado a ser empleado en la fijación de materiales protésicos en cirugía herniaria. En la reparación de hernias inguinales (*técnica de Lichtenstein*), se coloca una prótesis de polipropileno *versus* poliéster a nivel del canal inguinal fijando la misma con puntos de sutura. Sin embargo, la existencia de un gran número de terminaciones nerviosas en esa zona hace que la sutura al fijar la prótesis, pueda incluir alguna de esas estructuras nerviosas, generando en muchos casos dolor inguinal postoperatorio que puede afectar a la actividad cotidiana del paciente. Por este motivo, los AT sintéticos se presentan como una buena alternativa para la fijación de materiales protésicos, ya que pueden mejorar el confort postoperatorio de los pacientes y evitar el dolor residual inguinal que acontece después de algunas hernioplastias.

Los AT también se emplean en la cirugía herniaria realizada por abordaje laparoscópico. En estos procedimientos quirúrgicos las prótesis quedan en situación intraperitoneal. Los mecanismos de fijación de las mismas mediante *tackers*, dan lugar a complicaciones como adherencias, hematomas y atrapamiento nervioso, provocando molestias importantes en el paciente durante el postoperatorio. En algunos casos incluso se llegan a producir complicaciones mayores, como por ejemplo, fístulas intestinales. Una de las alternativas de fijación de los materiales protésicos en situación intraperitoneal es el uso de adhesivos tisulares, bien naturales ó bien sintéticos. Este área de utilización de pegamentos está siendo analizada en estudios prospectivos clínicos, aunque los resultados actuales todavía están en fase preliminar.

Hasta el momento, se emplean de forma preferente pegamentos de origen biológico, tipo fibrina y en una menor escala pegamentos de origen sintético. Entre estos últimos, los más utilizados han sido los derivados de CA. A pesar de que los AT sintéticos tienen una amplia historia, existe todavía una cierta desconfianza en su empleo en aplicaciones de uso interno debido a su viscosidad (a veces son demasiado líquidos y no permiten una aplicación precisa), el tiempo de polimerización (demasiado rápido) o al desconocimiento del efecto de su biodegradación sobre los tejidos. Las modificaciones de la estructura química de los mismos, alargando su cadena, han hecho surgir nuevos

adhesivos, con un menor grado de toxicidad, que podrían mejorar sus características y hacerlos más apropiados para su uso clínico.

El presente trabajo tiene por tanto, como objetivo principal, la evaluación de un nuevo AT de CA destinado a la fijación de material protésico en reparación herniaria, comparándolo con otros ya existentes en el mercado, en cuanto a determinar si proporciona una aplicación más fácil y puntual, teniendo en cuenta su viscosidad y tiempo de polimerización.

Por todo ello, el planteamiento de hipótesis del presente proyecto va dirigido al bioensayo de un nuevo CA (n-octilo) de uso interno en la fijación de materiales protésicos en situación intra y extraperitoneal, con el fin de dar respuesta a las siguientes preguntas:

¿Es posible el empleo para la fijación de materiales protésicos de un nuevo CA (n-octilo) en aplicaciones intra y extraperitoneales?

¿Ofrece este nuevo CA ventajas a los ya existentes con formulaciones químicas diferentes?

Con el fin de dar respuesta a estas preguntas se realizó el siguiente diseño experimental:

Como animal de experimentación se utilizará el conejo blanco de Nueva Zelanda. Se realizarán dos modelos experimentales, para determinar el efecto del adhesivo de CA tanto a nivel intraperitoneal como extraperitoneal.

Implante intraperitoneal

Los animales se distribuirán en 3 grupos de estudio en función del medio empleado para la fijación del material protésico:

- *Tackers* (n=18)
- Ifabond® (n=18)
- n-octilo (n=18)

La recogida de las muestras se realizará a los 14 y 90 días postimplante. Se destinarán 9 animales a cada grupo y tiempo de estudio.

De los 54 animales de este grupo, en 36 se realizará una laparotomía media y se colocará en un solo lado una prótesis de PTFEe (Preclude®) de 3x3 cm, sobre el peritoneo parietal, que quedará en contacto directo con el contenido de la cavidad peritoneal. La fijación de la prótesis se llevará a cabo con los diferentes AT (Ifabond® ó n-octilo) en los cuatro ángulos del implante o bien empleando Protack® (*tackers*), colocando estos de la misma forma que los AT. Antes de efectuar el implante y a las 2 semanas, se recogerá líquido libre peritoneal para el estudio de las citoquinas proinflamatorias (IL-6 y TNF- α).

En las muestras obtenidas transcurridos los tiempos de estudio establecidos, se realizarán estudios morfológicos tanto a microscopia óptica (MO) como a microscopía electrónica de barrido (MEB), y se realizarán técnicas inmunohistoquímicas para valorar la respuesta macrofágica y el daño celular.

También se realizará un ensayo tensiométrico estándar en T sobre probetas de 5x1,5 cm, según el modelo descrito para análisis de las propiedades de resistencia de AT (Kull y cols. 2009). Para este estudio se utilizarán 18 animales, en los que se colocarán 4 implantes de PTFEe de la misma manera que en el caso anterior (2 en la vertiente derecha y 2 en la vertiente izquierda), con el fin de obtener 12 muestras por grupo y tiempo de

estudio. De este modo se consigue reducir en la medida de lo posible, el número de animales necesarios para el estudio.

Implante extraperitoneal

En este grupo se incluirán 24 animales. En 12 de ellos se crearán defectos a ambos lados de la línea media abdominal (vertientes laterales del abdomen) de 5x3 cm que comprenderán los planos anatómicos de los músculos oblicuo externo e interno, respetando el músculo transverso y el peritoneo parietal. En los otros 12, solamente se realizará un defecto en el lado derecho, y en el lado izquierdo no se llevará a cabo ningún implante con el fin de crear un defecto parcial en el momento del sacrificio para utilizarlo como control en el estudio biomecánico. Los defectos serán reparados colocando una prótesis de Surgipro®, del mismo tamaño, fijando la misma mediante seis puntos de polipropileno de 4/0 ó con 6 gotas de los diferentes AT (Ifabond® ó n-octilo) en función del grupo de estudio. La fijación será realizada en los cuatro ángulos del implante y en la zona media del eje más largo de los mismos. Los materiales quedarán en contacto con el tejido celular subcutáneo (vertiente superficial) y con el plano músculo peritoneal (vertiente profunda). El cierre de piel se realizará con una sutura continua de polipropileno 3/0.

De este modo se obtendrá una n=12 para los diferentes grupos de estudio: suturas, Ifabond® y n-octilo.

La recogida de las muestras se realizará a los 14 y 90 días postimplante. Se destinarán 6 animales a cada grupo y tiempo de estudio.

Al igual que en el estudio intraperitoneal, se realizarán estudios morfológicos tanto a microscopía óptica (MO) como a microscopía electrónica de barrido (MEB), y se realizarán técnicas inmunohistoquímicas para valorar la respuesta macrofágica y el daño celular.

La caracterización mecánica se realizará mediante ensayos uniaxiales de tracción sobre probetas de 7x1,5 cm cortadas en dirección transversal al eje cráneo-caudal del animal de experimentación. Las probetas incluirán la zona de implante protésico y un cm a cada lado del tejido receptor y permitirán obtener las curvas tensión-alargamiento del conjunto, así como la máxima tensión de rotura del conjunto.

Para la realización de los ensayos mecánicos en los dos modelos intra y extraperitoneal, se empleará un tensiómetro INSTRON modelo 3342 provisto de mordazas neumáticas. La velocidad de travesía será de 5 cm/min. Los datos obtenidos del estudio tensiométrico se recogerán por el programa informático Bluehill 2 y se expresarán en Newtons.

Todos los datos extraídos de los diferentes experimentos serán sometidos a análisis estadístico. Los estudios estadísticos se realizarán utilizando el programa estadístico GraphPad Prism 5 para Windows. Los datos destinados al estudio estadístico serán comparados utilizando el test de la U de Mann-Whitney y se expresarán como la media \pm error de la media. Se considerará que las diferencias son estadísticamente significativas cuando el valor de $p < 0,05$.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 MATERIALES PROTÉSICOS.

- *Preclude®* (Gore, Flagstaff, AZ, USA), es un material de politetrafluoretileno expandido no poroso (PTFEe). El PTFE es un material muy inerte, y por lo tanto su toxicidad es prácticamente nula. Además es impermeable y presenta un coeficiente de rozamiento muy bajo, por lo que puede estar en contacto con vísceras. La variedad *Preclude®* está destinada a la sustitución de pericardio o duramadre. (*Figura 6*).

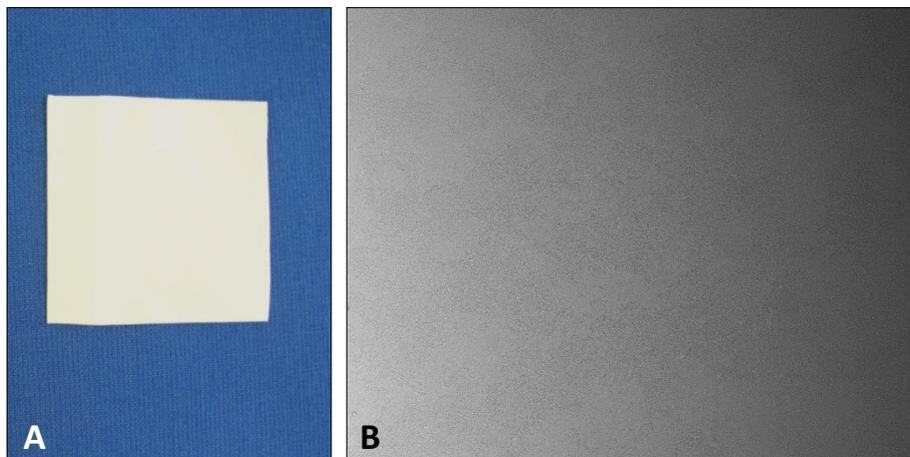


Figura 6. A) Preclude®; B) Imagen a microscopía electrónica de barrido (50x).

- *Surgipro®* (Covidien, Mansfield, MA, USA), es una malla de polipropileno de alta densidad (85 g/m^2) con un tamaño de poro de $0,26 \pm 0,03 \text{ mm}^2$ (*Figura 7*).

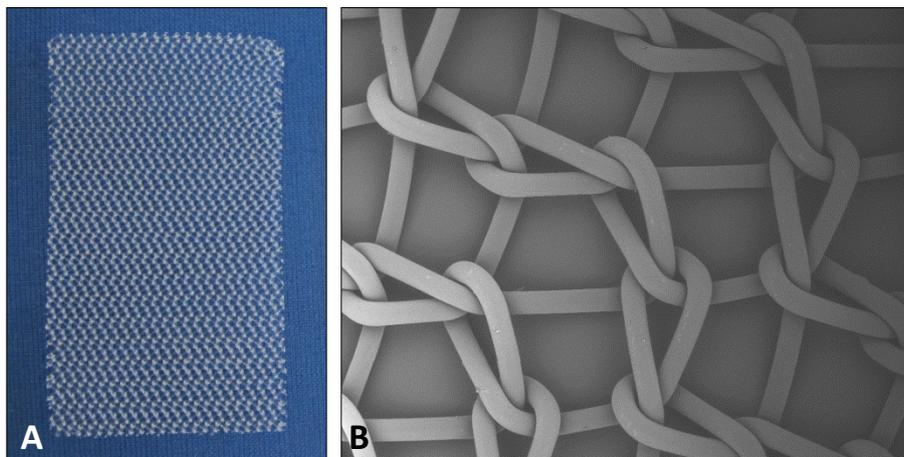


Figura 7. A) Surgipro®; B) Detalle de la superficie del biomaterial a microscopía electrónica de barrido (100x).

3.2 MEDIOS DE FIJACIÓN.

3.2.1 Adhesivos tisulares.

- Ifabond®. Cianoacrilato de n-hexilo (IFA medical, Francia).
- n-octilo. Cianoacrilato de n-octilo (CA experimental).

3.2.2 Tackers.

- Protack®. (Covidien, Mansfield, MA, USA).

3.2.3 Sutura.

- Surgipro II® 4/0. (Covidien, Mansfield, MA, USA).

3.3 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Como animal de experimentación se utilizó el conejo blanco de Nueva Zelanda macho. El peso de los animales se encontraba comprendido entre los 3,200 y 3,500 Kg al comienzo del estudio.

Los animales fueron mantenidos en un módulo de estabulación compuesto de doce unidades para el alojamiento individual de cada uno de ellos. La alimentación consistió en una dieta completa de mantenimiento para conejo (PANLAB®) que fue administrada tanto en el periodo preoperatorio como a partir de las veinticuatro horas del postoperatorio.

Las condiciones de luz y temperatura fueron constantes durante todo el tiempo del estudio. El manejo de los animales se hizo conforme a la Normativa Internacional vigente sobre animales de experimentación (Ley 32/2007, RD 1201/2005, Directiva Europea 2010/63UE y ETS 123). Todos los procedimientos fueron aprobados por el comité ético de la Universidad de Alcalá y realizados en esta institución.

3.4 ANALGESIA Y ANESTESIA.

La analgesia se realizó con buprenorfina a una dosis de 0,05 mg/kg (Buprecare[®], Divasa Farmavic, Barcelona, España) una hora antes y tres días después de la cirugía.

El protocolo anestésico se realizó por vía intramuscular con una mezcla de Ketamina a una dosis de 20 mg/kg (Imalgene[®] 1000, laboratorios Merial. Barcelona, España) y Xilacina 3 mg/kg (Xilagesic 2%, laboratorios Calier S.A., Barcelona, España) (100 mg/mL/kg).

La ketamina es un excelente tranquilizante. A altas dosis (más de 44 mg/kg) produce inmovilización pasados ocho a diez minutos de su administración; por otro lado, estimula la respiración y aumenta la presión arterial a dosis mayores de 60 mg/kg. A esto se añaden además las propiedades sedantes y miorelajantes de la Xilacina.

3.5 CIRUGÍA.

3.5.1 Modelos quirúrgicos.

3.5.1.1. Implante intraperitoneal (IP).

De los 54 animales de este grupo, en 36 se realizó una laparotomía media y se colocó en un solo lado una prótesis de PTFEe (*Preclude*[®]) de 3x3 cm, sobre el peritoneo parietal, de modo que quedó en contacto directo con el contenido de la cavidad peritoneal. La fijación de la prótesis se llevó a cabo con los diferentes AT (Ifabond[®] ó n-octilo) en los cuatro ángulos del implante (50 µl por gota) o bien empleando Protack[®], colocando los tackers de la misma forma que los AT (*Figura 8*).

Para el estudio de resistencia biomecánica se utilizaron 18 animales adicionales, en los que se colocaron 4 implantes de PTFEe de la misma manera que en el caso anterior (2 en la vertiente derecha y 2 en la vertiente izquierda), con el fin de obtener 12 muestras por grupo y tiempo de estudio.

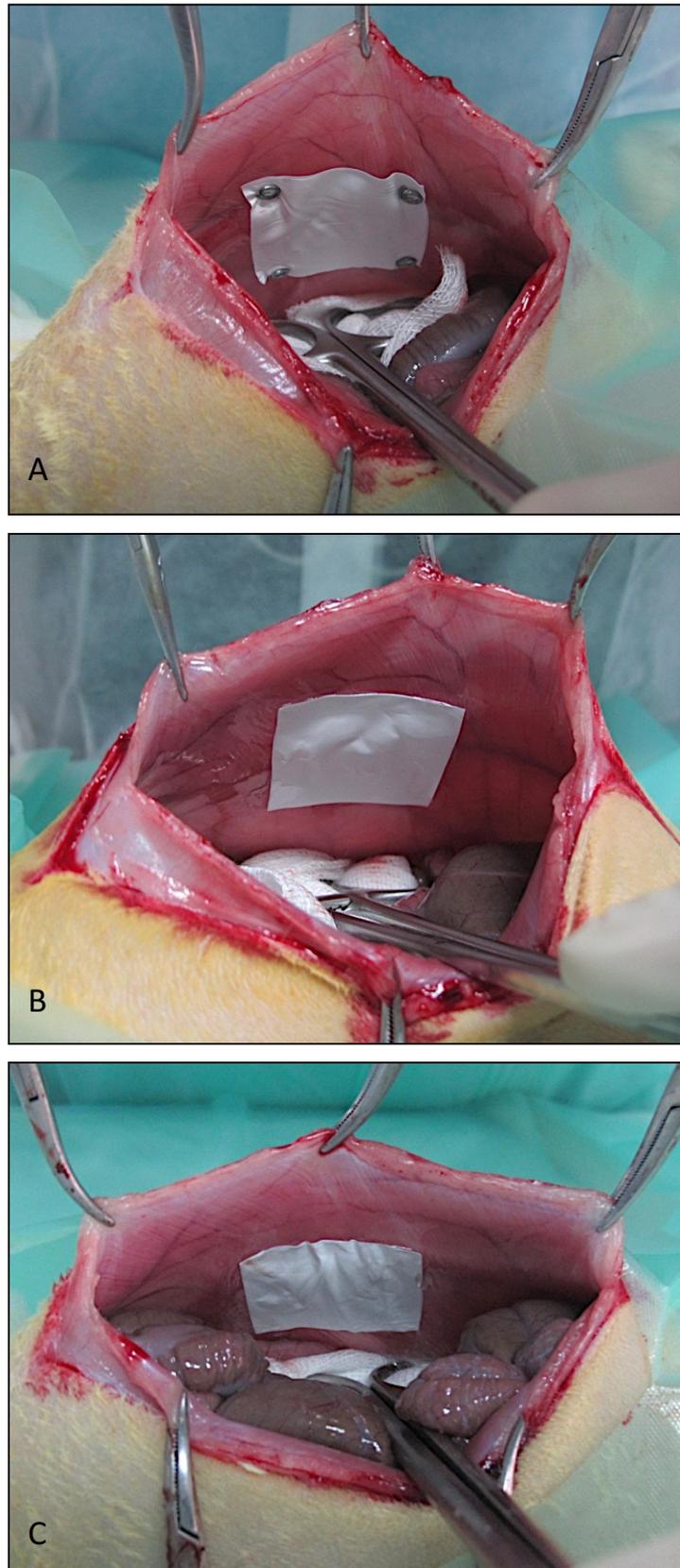


Figura 8. Implante intraperitoneal de lámina de PTFEe. A) Implante de PTFEe fijada con Tackers; B) PTFEe fijado con Ifabond®; C) Prótesis fijada con n-octilo.

3.5.1.2 *Implante extraperitoneal (EP).*

Este grupo estaba formado por 24 animales. En 12 de ellos se crearon defectos a ambos lados de la línea media abdominal (vertientes laterales del abdomen) de 5x3 cm que comprendían los planos anatómicos de los músculos oblicuo externo e interno, respetando el músculo transverso y el peritoneo parietal. En los otros 12, solo se realizó un defecto en el lado derecho, mientras que en el lado izquierdo no se llevó a cabo ningún implante con el fin de crear un defecto parcial en el momento del sacrificio para utilizarlo como control en el estudio biomecánico. Los defectos fueron reparados colocando una prótesis de Surgipro, del mismo tamaño, fijando la misma mediante seis puntos de polipropileno de 4/0 ó 6 gotas (50 µl por gota) de los diferentes AT (Ifabond® ó n-octilo) en función del grupo de estudio. La fijación se realizó en los cuatro ángulos del implante y en la zona media del eje más largo de los mismos. Los materiales quedaron en contacto con el tejido celular subcutáneo (vertiente superficial) y con el plano musculo peritoneal (vertiente profunda). El cierre de piel se realizó con una sutura continua de polipropileno 3/0 (*Figura 9*).

3.5.2 *Obtención de las muestras.*

En todos los animales del modelo de implante IP (excepto en las destinadas al estudio biomecánico), en el momento de la cirugía y en el momento del sacrificio, se recogió una alícuota del líquido intraperitoneal estéril a través de una pequeña incisión en la línea media de la pared abdominal, poniendo especial cuidado en no contaminar el líquido peritoneal con sangre. El líquido se almacenó a -80°C hasta su utilización.

Antes de cada intervención, durante el periodo de estudio y previo a cada sacrificio, los animales fueron examinados macroscópicamente con el objetivo de recoger una serie de datos como el peso, dehiscencia de la herida cutánea, formación de seroma, y presencia de signos de infección. A los 14 y 90 días post-implante, los animales fueron sedados con xilacina y se les administró una inyección intravenosa de pentobarbital sódico al 20% (Dolethal, etoquinol S.A., Francia), tal y como indican los protocolos para eutanasia de animales de experimentación.

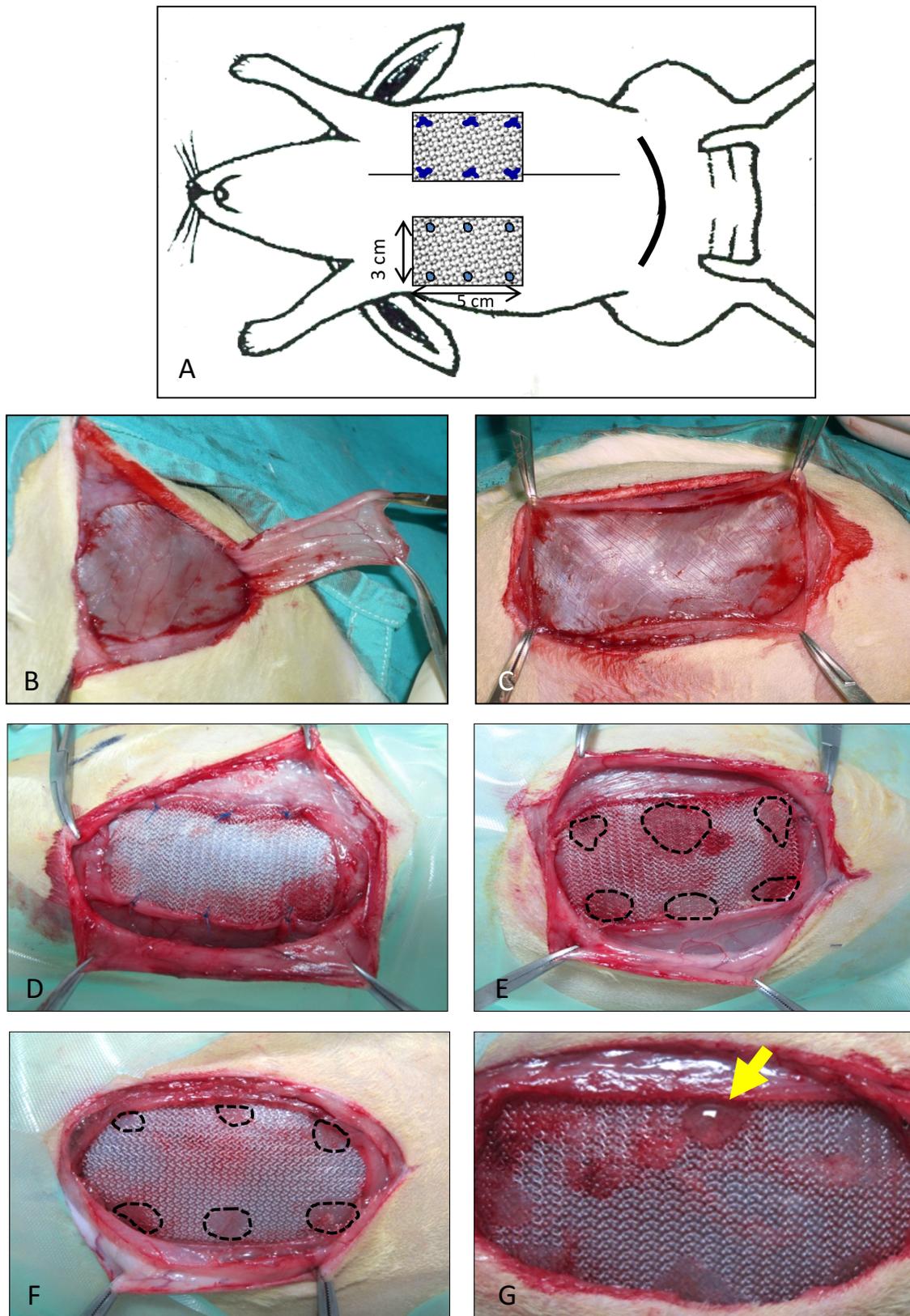


Figura 9. A) Modelo quirúrgico de implante extraperitoneal; B y C) Visión macroscópica de defecto aponeurótico; D) Malla de Surgipro® fijada con 6 puntos de sutura; E) Prótesis fijada con Ifabond®; F) Malla fijada con n-otilo; G) Detalle de la aplicación de la gota del AT.

Para la recogida de las muestras en el implante IP se procedió a la apertura de la cavidad abdominal a través de la línea media y se realizaron amplias incisiones alrededor de los implantes, dejando suficiente margen de tejido receptor. En el modelo EP se realizó una incisión en U en el abdomen que favoreció una visualización amplia de los implantes. Las muestras obtenidas fueron fragmentadas y destinadas al estudio del comportamiento tisular/biodegradación de los AT y a la caracterización biomecánica.

3.6 PROCESADO DE LAS MUESTRAS.

3.6.1 Análisis del líquido peritoneal.

Las muestras del líquido peritoneal fueron descongeladas y centrifugadas para eliminar la turbidez y las partículas. Posteriormente se sometieron a un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para la detección de citoquinas pro-inflamatorias (IL-6 y TNF- α), una técnica utilizada para la detección de diversas moléculas biológicas, basándose en la especificidad del reconocimiento antígeno-anticuerpo y en la sensibilidad de las pruebas enzimáticas.

Para ello se emplearon dos kits de ELISA específicos de conejo, uno para la detección de IL-6 (CSB-E06903RB, Cusabio, Hubei, China) y otro para la detección de TNF- α (CSB-E06998RB, Cusabio, Hubei, China), siguiendo el protocolo que se describe a continuación:

- Añadir la solución estándar y las muestras en cada uno de los pocillos. Incubar durante 2 horas a 37°C.
- Retirar la mezcla de solución estándar más la muestra de cada uno de los pocillos.
- Añadir el anticuerpo-biotinado. Incubar durante 1 hora a 37°C.
- Retirar la solución de anticuerpo-biotinado.
- Lavar con la solución de lavado, 2 pases de 2 minutos.
- Añadir el complejo Avidina-Peroxidasa a cada pocillo. Incubar 1 hora a 37°C.
- Lavar con la solución de lavado, 5 pases de 2 minutos.

- Añadir el sustrato TMB (3,3,5,5-tetrametilbencidina) a cada pocillo. Incubar 15-30 minutos a 37°C en oscuridad.
- Añadir la solución de paro a cada pocillo.

La lectura de la paca debe realizarse durante los 5 minutos siguientes a la adición de la solución de paro, en un lector de absorbancia iMark de microplacas (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). Los niveles de citoquinas se determinaron utilizando una logística de ajuste de curva de cuatro parámetros (4-PL).

3.6.2 Estudios morfológicos.

3.6.2.1 Microscopía óptica.

Las muestras destinadas al estudio mediante microscopía óptica fueron recogidas en el momento del sacrificio y fijadas con F13, una mezcla fijadora compuesta por: etanol absoluto (60%), metanol (20%), polietilenglicol (7%) y agua destilada (13%).

Una vez transcurridos los periodos de tiempo establecidos para la correcta fijación de las muestras, fueron deshidratadas e incluidas en parafina siguiendo el protocolo que se detalla a continuación:

▪ Alcohol 70%	10 minutos.
▪ Alcohol 96%	20 minutos.
▪ Alcohol 100%	21 minutos (3x7 min.).
▪ Alcohol 100%-Acetato n-butilo (1:1)	10 minutos.
▪ Acetato n-butilo	20 minutos (2x10 min.).
▪ Acetato n-butilo-Parafina (1:1)*	15 minutos.
▪ Parafina*	30 minutos.

* estos pasos deben realizarse en una estufa a 60°C.

Para finalizar la inclusión, las muestras fueron incorporadas en moldes que contenían parafina líquida a 60°C y orientadas en la posición correcta para que, una vez solidificada la parafina pudiesen ser cortadas con un micrótopo rotatorio MICROM HM-325. De esta forma se obtuvieron cortes seriados de 5 µm que eran estirados en un baño de agua caliente y recogidos en portaobjetos impregnados con una solución de poli-lisina al 10% en agua destilada para facilitar la adhesión de las muestras al vidrio.

Una vez secos, los cortes se desparafinaron con xilol (30 minutos) y se rehidrataron con alcoholes de concentración decreciente (100%, 96%, 70%) hasta obtener su rehidratación completa con agua. Los cortes fueron destinados a estudios histológicos o a estudios inmunohistoquímicos.

Para los estudios histológicos fueron teñidos con diferentes técnicas para la observación de los componentes de la pared abdominal: hematoxilina-eosina, tricómico de Masson (variante de Goldner-Gabe) y rojo sirio.

Tras el proceso de tinción y montaje, fueron observadas en un microscopio óptico (Zeiss Axiophot, Jena, Alemania).

Hematoxilina-eosina.

- Tinción con hematoxilina de Carazzi durante 20 minutos.
- Lavado con agua corriente durante 10 minutos para virar la hematoxilina.
- Tinción con eosina alcohólica durante 3 minutos.
- Lavado de los cortes en agua.
- Deshidratación en alcohol al 96% durante 5 minutos
- Deshidratación en alcohol al 100% durante 5 minutos.
- Aclaramiento en xilol 5 minutos.
- Montaje con bálsamo de Canadá.

Tricrómico de Masson.

- Tinción con hematoxilina de Carazzi durante 20 minutos.
- Lavado con agua corriente durante 10 minutos.
- Tinción con fucsina durante 10 minutos.
- Lavado rápido en agua acética al 1%.
- Tinción con orange G durante 10 minutos.
- Lavado rápido en agua acética al 1%.
- Tinción con verde luz durante 10 minutos.
- Lavado con agua con unas gotas de alcohol al 96%.
- Deshidratación en alcohol al 96% durante 2 minutos.
- Deshidratación en alcohol al 100% durante 5 minutos.
- Aclaramiento en xilol 5 minutos.
- Montaje con bálsamo de Canadá.

Rojo Sirio.

Esta técnica permite distinguir entre el colágeno inmaduro (colágeno tipo III), que aparece en tonos amarillo-verdosos, y el colágeno maduro (colágeno tipo I), en tonos rojizos cuando se realiza la observación con luz polarizada. La técnica se basa en la interacción y orientación entre los grupos sulfónicos del colorante con los grupos amino de la lisina e hidroxilisina y los grupos guanidina de la arginina de las fibras de colágeno, que dan lugar a coloraciones diferentes en función del grado de maduración del colágeno.

- Tinción con rojo sirio 30 minutos.
- Lavado con ácido clorhídrico 0,01N durante 10 minutos.
- Tinción con hematoxilina de Weigert 10 minutos.
- Lavado con agua corriente.
- Deshidratado los cortes en alcohol al 100% (rápido).
- Pasar los cortes por xilol y montar con bálsamo de Canadá o Dépex.

3.6.2.2. Microscopía electrónica de barrido.

Las muestras se fijaron en glutaraldehído al 3% entre una y tres horas a 4°C. Transcurrido este periodo de tiempo el fijador fue sustituido por tampón Millonig (pH=7.3) y se mantuvieron a la misma temperatura hasta su procesamiento.

La deshidratación se realizó con acetonas de concentraciones crecientes:

- Acetona 30% 15 minutos.
- Acetona 50% 15 minutos.
- Acetona 70% 15 minutos.
- Acetona 90% 15 minutos.
- Acetona 100% 15 minutos.

Tras la deshidratación, las muestras se conservaron en acetona 100% hasta ser llevadas a un POLARON E-3000 (Polaron Ltd, England), donde se desecaron hasta el punto crítico. Posteriormente se montaron en platinas de aluminio para scanning de 0,5 pulgadas, siendo adheridas a estas mediante cinta adhesiva de doble cara. Por último, se metalizaron con oro-paladio y se estudiaron en un microscopio electrónico de barrido ZEISS DSM-950 (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemania).

3.6.2.3. Estudios inmunohistoquímicos.

Se realizaron dos métodos de estudio inmunohistoquímico, el primero de la respuesta macrofágica y la técnica de Tunel.

Macrófagos (Técnica de la fosfatasa alcalina).

Se utilizó un anticuerpo monoclonal específico para macrófagos de conejo RAM-11 (dilución 1/50) (DAKO M-633), sobre cortes incluidos en parafina. En todos los casos, se utilizó como control negativo el mismo material biológico al que no se le había añadido anticuerpo primario, siendo sustituido por tampón fosfato salino (PBS).

El protocolo de la técnica inmunohistoquímica fue el siguiente:

- Lavados con PBS (tampón fosfato salino) (pH=7,4), tres pases de 5 minutos cada uno.
- Bloqueo de zonas de unión inespecíficas con BSA (albúmina sérica bovina) al 3% en PBS (pH=7,4), durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Incubación con el Anticuerpo primario diluido en PBS. Se mantiene durante toda la noche en cámara húmeda a 4 °C.
- Lavado con PBS, tres pases de 5 minutos cada uno.
- Incubación con el Anticuerpo secundario biotinado diluido en PBS, durante 60 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente.
- Lavado con PBS, tres pases de 5 minutos cada uno.
- Complejo Extreptavidina®-Fosfatasa alcalina, durante 60 minutos a temperatura ambiente.
- Lavado en PBS, tres pases de 5 minutos.
- Añadir el sustrato cromogénico e incubar 15 minutos (controlando la aparición de marcaje bajo el microscopio).

La preparación del sustrato cromogénico se realizó de la siguiente forma: Se prepara inmediatamente antes del revelado, añadiendo a 10 ml de PBS 10 mg de naftol AS-BI fosfato y se mezcla. A esta solución se le añade 10 mg de Fast red y se mezcla con lo anterior. Se añaden 100 ml de levamisole 0,1 M. Por último, se filtra toda la mezcla y se añade inmediatamente sobre el tejido. Esta técnica permite obtener un marcaje en rojo intenso.

- Lavado con agua destilada, tres pases de 5 minutos.
- Tinción de los núcleos celulares con hematoxilina de Carazzi, durante 15 minutos. Lavado en agua corriente, 10 minutos.
- Montaje en medio acuoso con Plasdon.

La visualización del marcaje se realizó en un microscopio óptico Zeiss Axiophot. La cantidad de células positivas se realizó mediante el recuento de 20 campos elegidos al

azar (400x) y se expresó como el porcentaje de células marcadas con respecto al número de células totales.

Daño Celular (Técnica TUNEL).

La visualización del daño celular tisular será desarrollada siguiendo una modificación de la técnica de TUNEL (Negoescu y cols. 1996). Se basa en la detección *in situ* del DNA nucleosomal fragmentado característico de la apoptosis, por unión específica de deoxinucleótidos a los extremos 3'OH de la cromatina fragmentada mediante la enzima transferasa terminal (TdT). La detección del DNA fragmentado se llevará a cabo utilizando un kit (Calbiochem, CN Biosciences Inc., USA). La visualización del marcaje se realizará en un microscopio óptico Zeiss Axiophot (Jena, Alemania). El porcentaje de células TUNEL positivas se calculará sobre 20 secciones histológicas por espécimen de cada uno de los grupos experimentales y tiempos de estudio. Se cuantificará el número de células marcadas y no marcadas en diferentes campos microscópicos (200x) elegidos al azar.

- Lavado con TBS 1X (tampón tris salino) (pH 7.6)
- Irradiación en microondas en tampón citrato 0.01M (pH 6). 2 pulsos de 2 minutos.
- Lavado con TBS 1X, tres pases de 5 minutos cada uno.
- Incubación con proteinasa K (2 mg/ml) durante 10 minutos.
- Lavado con TBS 1X, tres pases de 5 minutos cada uno.
- Inhibición de la peroxidasa endógena con metanol:peróxido de hidrógeno (9:1) durante 5 minutos.
- Lavado con TBS 1X, tres pases de 5 minutos cada uno.
- Incubación con tampón de equilibrio durante 20 minutos.
- Incubación con la mezcla de reacción durante 1 hora y 30 minutos a 37°C.
- Lavado con TBS 1X, tres pases de 5 minutos cada uno.
- Incubación con tampón de paro durante 5 minutos.
- Lavado con TBS 1X, tres pases de 5 minutos cada uno.
- Incubación con tampón de bloqueo durante 10-15 minutos.
- Incubación con estreptavidina-peroxidasa durante 30 minutos.

- Lavado con TBS 1X, tres pases de 5 minutos cada uno.
- Incubación con el complejo DAB (diaminobencidina) durante 15 minutos.
- Lavado con agua destilada durante 5 minutos.
- Tinción de los núcleos celulares con verde de metilo al 0.3%, durante 5 minutos.
- Lavado rápido con alcohol de 100%.
- Pasar los cortes por xilol y montar con Bálsamo de Canadá ó Dépex.

3.6.3 Estudios biomecánicos.

Una vez extraídas, las piezas se sumergieron en medio de cultivo MEM (Medio Mínimo Esencial) para mantenerlas en condiciones óptimas antes de cada bioensayo. Los ensayos tensiométricos siempre fueron realizados inmediatamente después del sacrificio de los animales.

Para el estudio biomecánico se utilizó un tensiómetro tipo INSTRON®, modelo 3342 (Instron Corp., Canton, MA, USA) provisto de mordazas neumáticas (*Figura 10*).

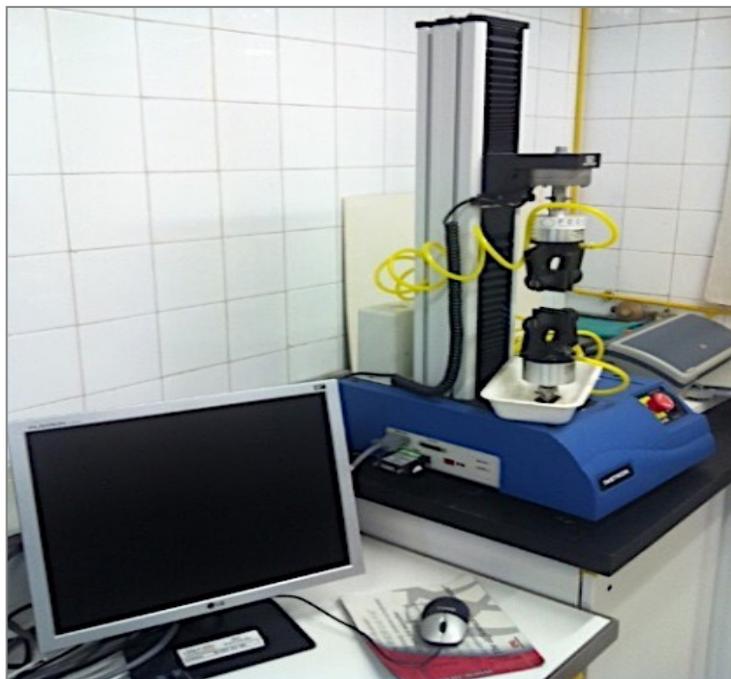


Figura 10. Imagen de Tensiómetro INSTRON® modelo 3342 (Instron Corp., Canton, MA, USA).

3.6.3.1 Implante intraperitoneal.

En este caso se realizó un ensayo tensiométrico estándar sobre probetas de 5x1,5 cm y se sometieron a un ensayo de despegado en T (T-peel), modelo previamente descrito para análisis de las propiedades de resistencia de adhesivos tisulares (Kull y cols. 2009). Para ello, las muestras fueron colocadas de manera que la mordaza superior del INSTRON® sujetaba la parte superior del fragmento protésico (previamente separado de la pared abdominal) y la mordaza inferior sujetaba la pared abdominal justo por debajo de la parte inferior del biomaterial. (*Figura 11*).

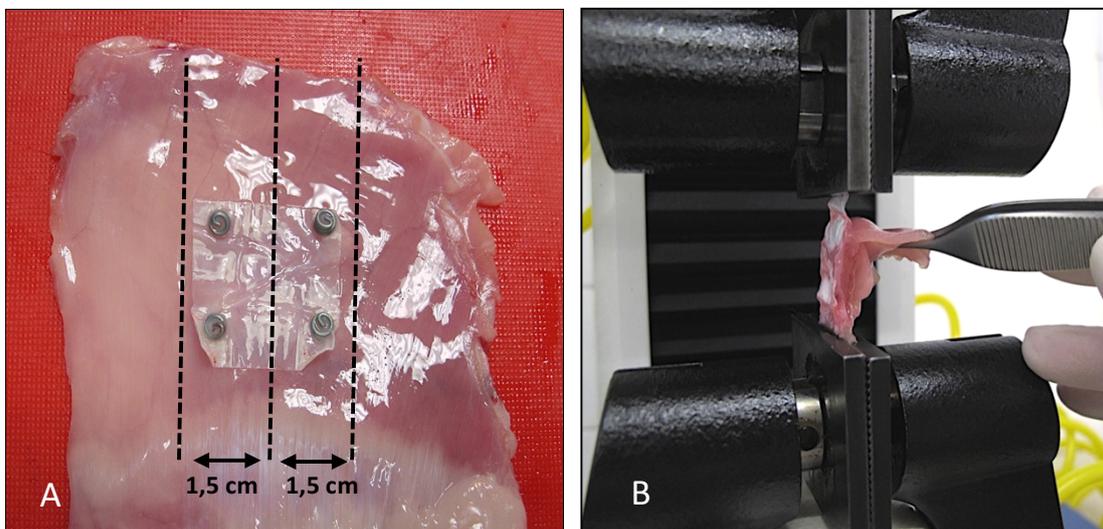


Figura 11. A) Esquema de corte para la obtención de probetas para el estudio Biomecánico en T; B) Colocación de la probeta en la mordazas del INSTRON®.

3.6.3.2 Implante extraperitoneal.

La caracterización mecánica se realizó mediante un ensayo uniaxial de tracción sobre probetas de 7x1,5 cm cortadas en dirección transversal al eje cráneo-caudal del animal de experimentación. Las probetas incluían la zona de implante protésico y un cm a cada lado del tejido receptor, permitiendo de este modo, obtener curvas tensión-alargamiento y de máxima tensión de rotura del conjunto (*Figura 12*).

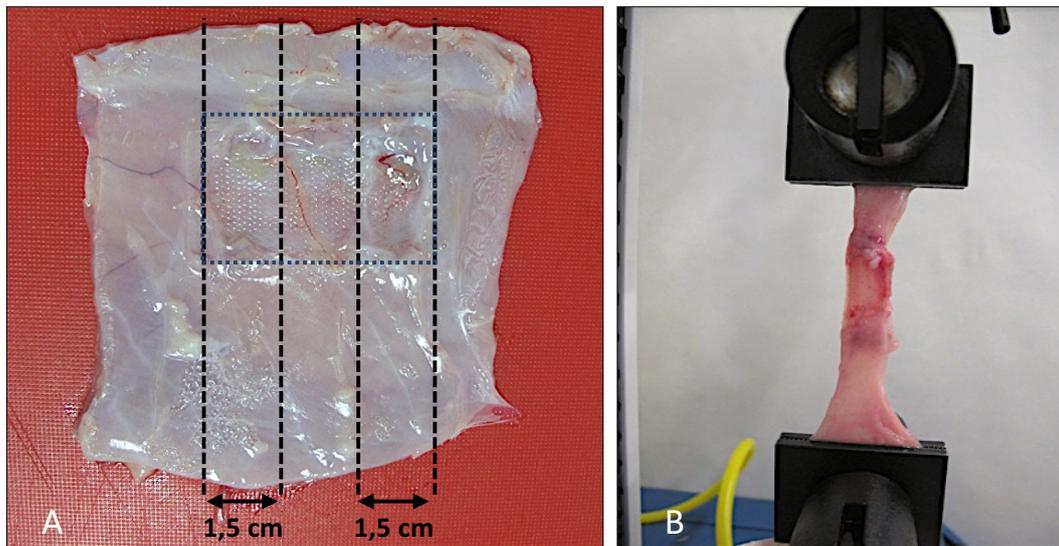


Figura 12. A) Esquema de corte para la obtención de probetas para el estudio Biomecánico; B) Colocación de la probeta en la mordazas del INSTRON®.

En todos los casos se utilizó una célula de carga de 0,5 KN. La velocidad de la travesía fue de 5 cm/min. Los datos obtenidos del estudio tensiométrico fueron recogidos por el programa informático Bluehill 2. Los resultados de resistencia biomecánica a la tracción fueron expresados en Newtons.

3.6.4 Análisis estadístico.

Todos los estudios estadísticos se realizaron utilizando el programa informático GraphPad Prism 5 para Windows. Los datos fueron comparados utilizando el test de la U de Mann-Whitney y se expresaron como la media \pm error de la media. Se consideró que las diferencias eran estadísticamente significativas cuando el valor de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS.

4.1 IMPLANTE INTRAPERITONEAL.

4.1.1 Análisis macroscópico.

Las láminas de PTFEe se encontraban bien adheridas a la superficie peritoneal, sin que se observara desplazamiento de su posición inicial en los dos tiempos de estudio. Solo en algunos casos, pudieron apreciarse pequeños pliegues en la base o las esquinas inferiores del implante.

A las dos semanas, se observó la formación de adherencias en 1 de los 6 animales del grupo de *tackers*. Era una adherencia de tipo laxo constituida por *omentum* y se encontraba adherida a los dos *takers* de la vertiente inferior del implante. El grupo en el que la fijación del PTFEe se realizó con Ifabond® fue el que registró un mayor número de adherencias (5 de 6 animales). En este caso, en 2 de los animales fueron adherencias de tipo laxo de *omentum*, que se localizaron fundamentalmente en los bordes del implante, mientras que en otros tres animales de este mismo grupo, se vieron implicadas las asas intestinales. En el grupo de n-octilo solo se detectó una adherencia laxa de *omentum* en 1 de los 6 animales.

A los tres meses, solo se observó una delgada adherencia de tipo laxo formada por *omentum* en 1 de los 6 animales del grupo de Ifabond®. En el resto de los animales de los diferentes grupos de estudio no hubo formación adherencial (*Figura 13*).

4.1.2 Expresión de citoquinas en el líquido peritoneal.

Las concentraciones de citoquinas inflamatorias IL-6 y TNF- α se determinaron antes de la cirugía (niveles basales) y a los 14 días del implante. En todos los grupos, se observó un incremento en los niveles de IL-6 y TNF- α a los 14 días respecto a los niveles basales, aunque solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la expresión de IL-6 en el grupo de los *tackers* (*Figura 14*).

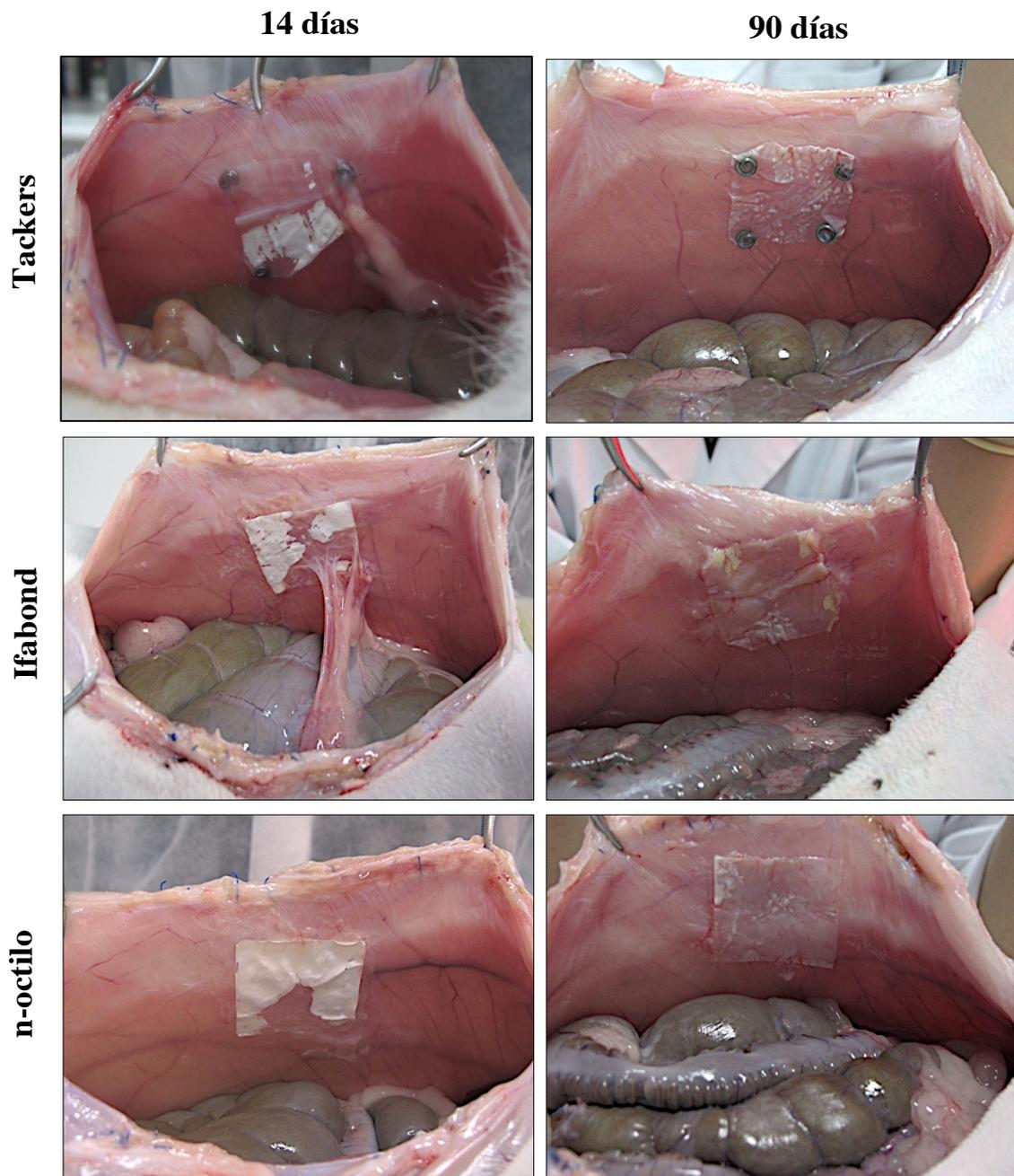


Figura 13. Láminas de PTFEe fijadas con tackers (imágenes superiores), Ifabond® (imágenes centrales) y n-octilo (imágenes inferiores), a los 14 días (izquierda) y a los 90 días (derecha) del implante.

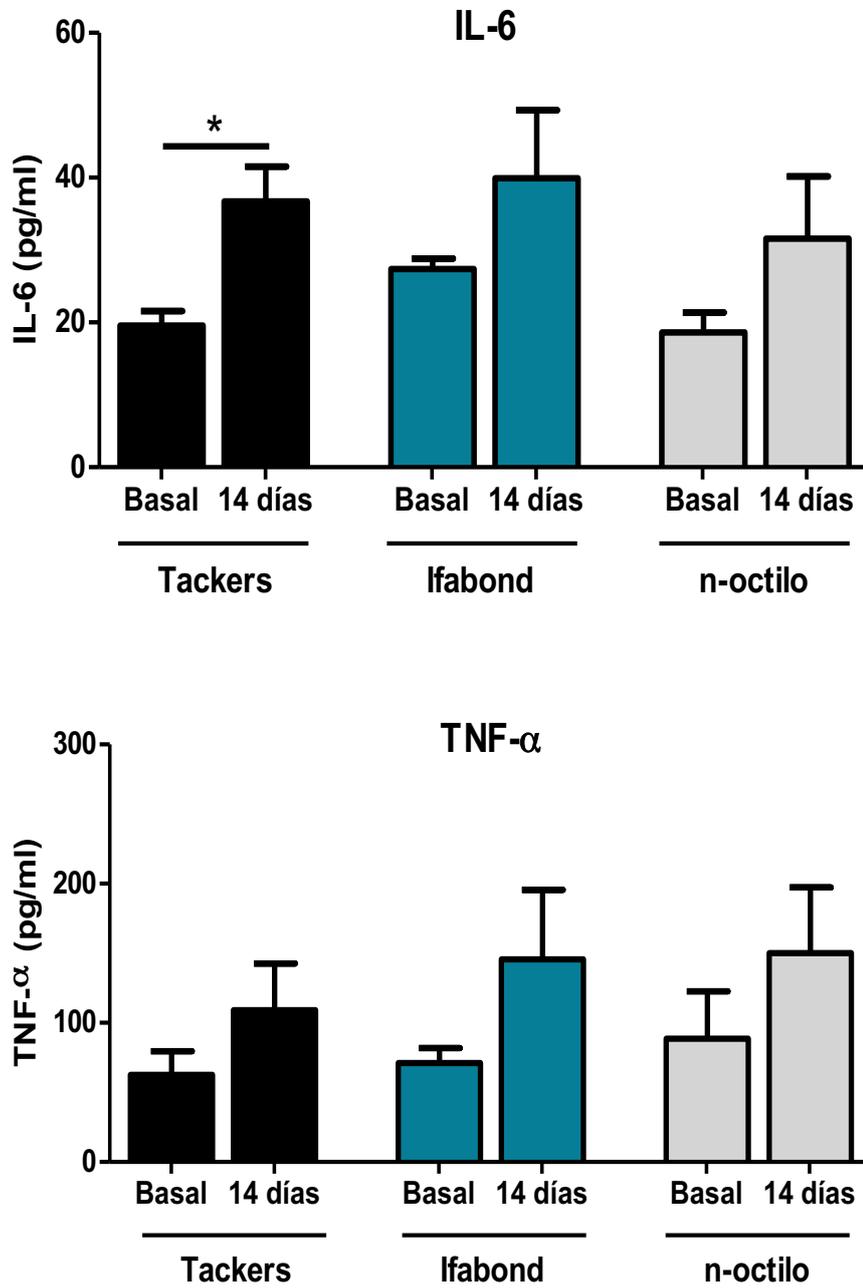


Figura 14. Expresión de las citoquinas en los 3 grupos de estudio a 14 días del implante. (* $p < 0,05$).

4.1.3 Análisis morfológico.

En los implantes fijados con *tackers*, a los 14 días, en la zona en la que se introdujo el *tacker*, el tejido de cicatrización se disponía rodeándolo, formando una delgada cápsula de tejido conjuntivo rico en colágeno de tipo III (inmaduro), en cuyo interior pudo observarse además la presencia de células blancas (*Figura 15 A y B*).

En la zona del implante, el tejido conjuntivo de nueva formación se disponía formando haces de fibras paralelas a la prótesis. Se observaron células inflamatorias en todo el perímetro del biomaterial y también dispersas por la nueva capa. La angiogénesis había comenzado, siendo evidente en el tejido conectivo la presencia de pequeños y numerosos vasos. En el neoperitoneo se observó con la tinción de rojo sirio, predominancia de colágeno tipo III (*Figura 15 C y D*). Tapizando el peritoneo podía distinguirse una capa aún discontinua de células mesoteliales. A microscopía electrónica de barrido estas células presentaron un aspecto inmaduro, de morfología redondeada, con características secretoras (*Figura 15 E*).

A los tres meses, en la zona de interposición del *tacker*, la cápsula de tejido fibroso que lo rodea aparecía más engrosada, y se apreciaba una mayor proporción de colágeno maduro (tipo I). La reacción inflamatoria alrededor del *tacker* parece disminuir respecto a las dos semanas (*Figura 16 A y B*).

El neoperitoneo era más homogéneo, conformado por tejido conectivo, en el que los haces fibrosos se disponían de forma paralela a la superficie protésica. Dentro de esta capa se observaron también numerosos vasos sanguíneos, fibroblastos ordenados entre las fibras y paralelos al mesotelio, y células blancas y macrófagos delimitando la lámina de PTFEe. Esta lámina, al carecer de porosidad no era infiltrada por tejido. Incremento de colágeno de tipo I (maduro) en el neoperitoneo (*Figura 16 C y D*). En este estadio el mesotelio constituía ya una capa continua de células planas, de morfología típica poligonal (*Figura 16 E*).

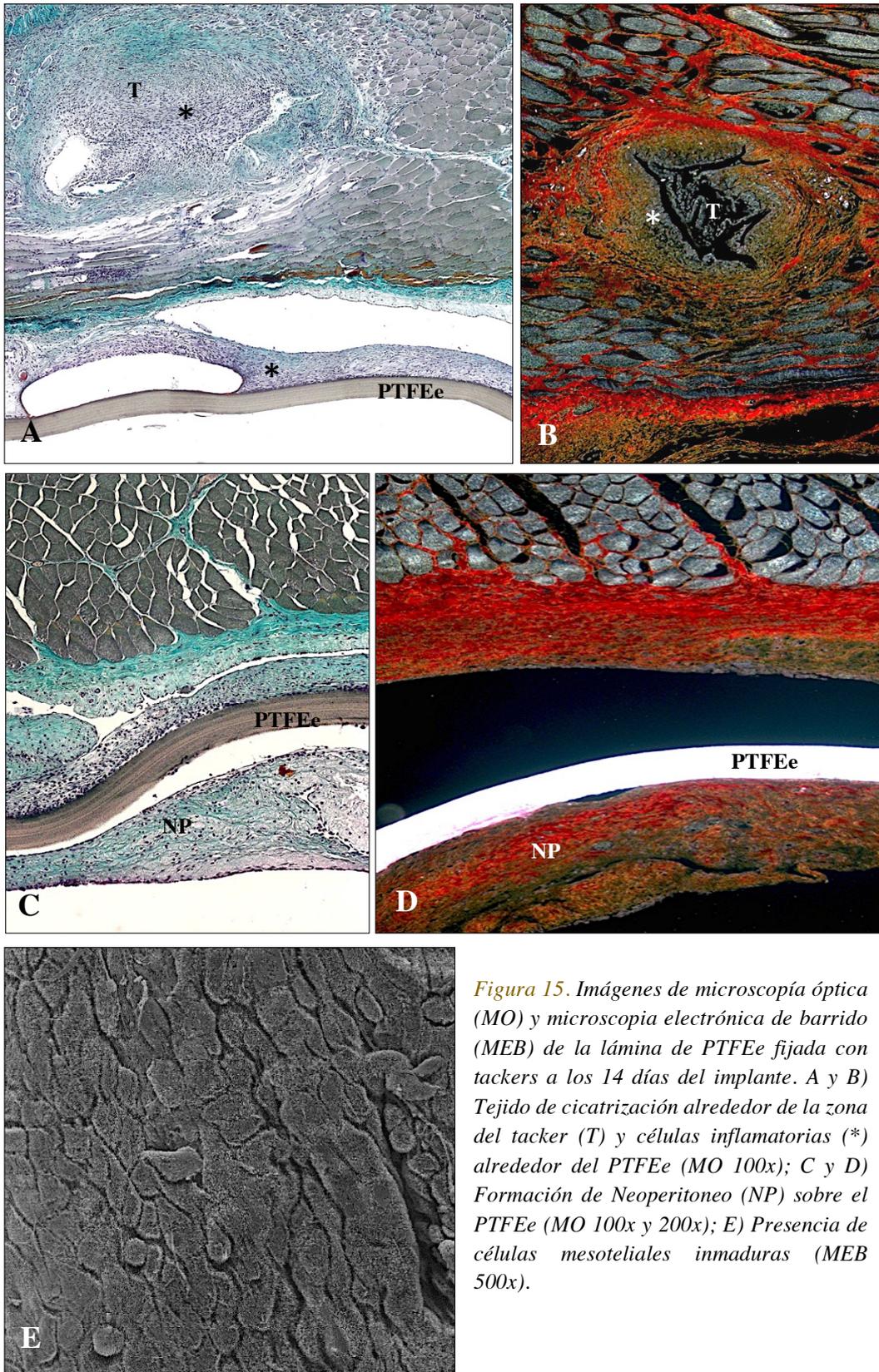


Figura 15. Imágenes de microscopía óptica (MO) y microscopia electrónica de barrido (MEB) de la lámina de PTFEe fijada con tackers a los 14 días del implante. A y B) Tejido de cicatrización alrededor de la zona del tacker (T) y células inflamatorias () alrededor del PTFEe (MO 100x); C y D) Formación de Neoperitoneo (NP) sobre el PTFEe (MO 100x y 200x); E) Presencia de células mesoteliales inmaduras (MEB 500x).*

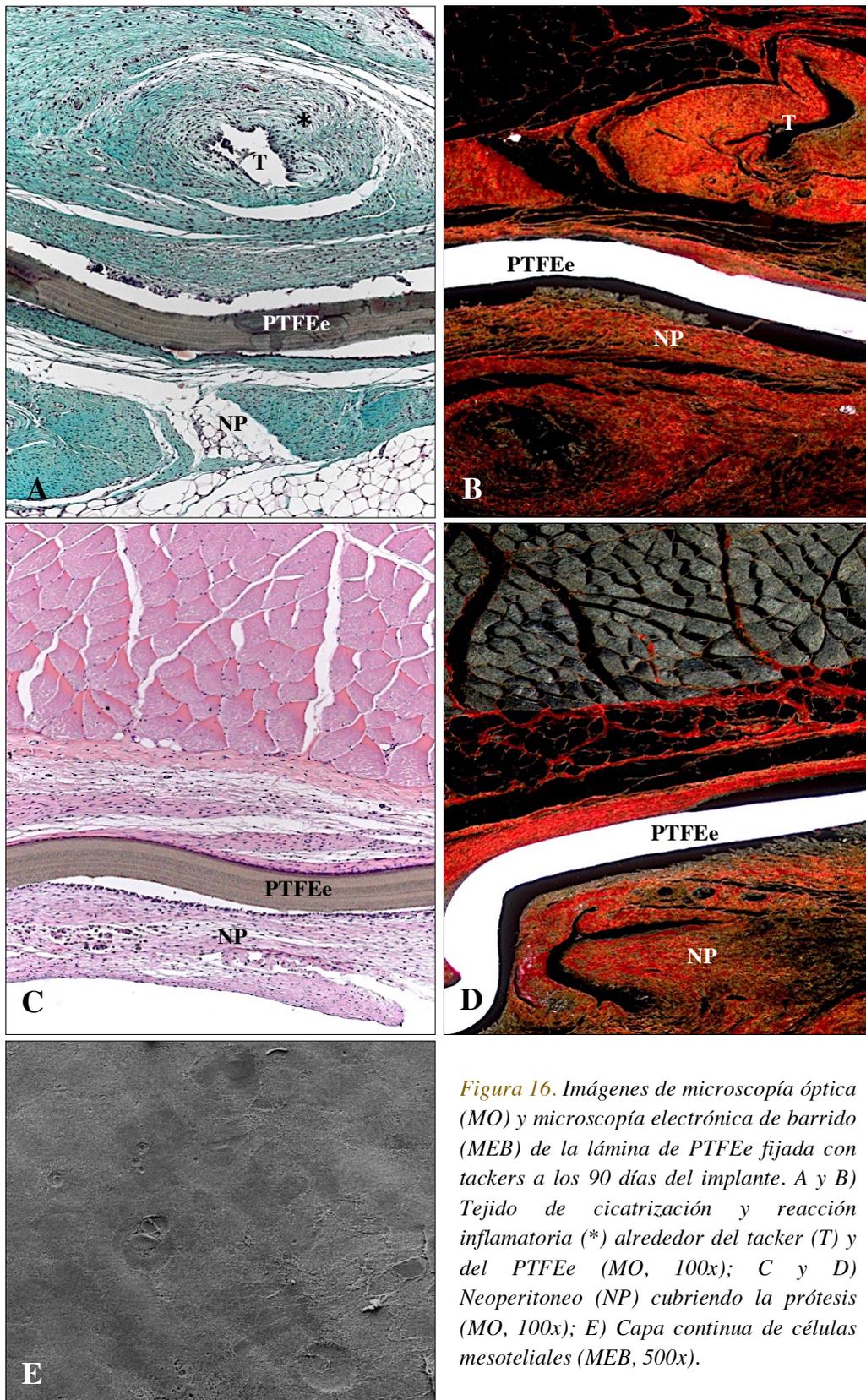


Figura 16. Imágenes de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB) de la lámina de PTFEe fijada con tackers a los 90 días del implante. A y B) Tejido de cicatrización y reacción inflamatoria (*) alrededor del tacker (T) y del PTFEe (MO, 100x); C y D) Neoperitoneo (NP) cubriendo la prótesis (MO, 100x); E) Capa continua de células mesoteliales (MEB, 500x).

En el grupo en el que se utilizó como medio de fijación Ifabond®, a las dos semanas, fue frecuente la formación de seroma. El tejido de cicatrización, alrededor del adhesivo estaba constituido por tejido conjuntivo laxo y numerosos vasos sanguíneos, y se disponía formando lenguas de tejido conjuntivo que penetraba entre la superficie irregular que dejaba la gota de AT (*Figura 17 A*). Con la tinción de rojo sirio se observó la presencia de colágeno de tipo I en las zonas más próximas al tejido muscular, mientras que alrededor del AT, al igual que en el neoperitoneo predominaba colágeno de tipo inmaduro (*Figura 17 B*). En otras zonas cercanas al implante el AT aparecía más disperso, y se encontraba totalmente rodeado de células gigantes de cuerpo extraño (*Figura 17 C*). El mesotelio presentaba áreas con una mayor continuidad celular que en el caso de los tackers a este tiempo de estudio. Las células presentaban un aspecto secretor, pero aún existían zonas en las que las células aparecían algo redondeadas (*Figura 17 D*).

A los 90 días, no se apreció una disminución del contenido de AT en las muestras respecto a los 14 días (*Figura 18 A*). El tejido conjuntivo neoformado presentó una mayor cantidad de colágeno de tipo I (maduro) a nivel del neoperitoneo, pero en la zona superior del biomaterial, donde se encontraba el Ifabond® todavía pudo apreciarse la presencia de colágeno de tipo III (*Figura 18 B*). La reacción inflamatoria alrededor del AT persiste a este tiempo de estudio, sin que se observen grandes diferencias respecto a las dos semanas. Así mismo, en algunas zonas pudieron observarse fragmentos de AT rodeados de células gigantes de cuerpo extraño y células inflamatorias (*Figura 18 C*). La capa mesotelial que delimitaba el neoperitoneo estaba constituida por una monocapa de aspecto continuo (*Figura 18 D*).

En las zonas libres de AT, el proceso de cicatrización progresaba de forma similar al grupo de los tackers; la prótesis de PTFEe aparecía rodeada de una delgada capa de células inflamatorias y tejido conjuntivo cuyas fibras seguían el eje longitudinal del biomaterial. El grosor del neoperitoneo aumentaba a los 90 días y aparecía más homogéneo y compacto (*Figura 18 E*).

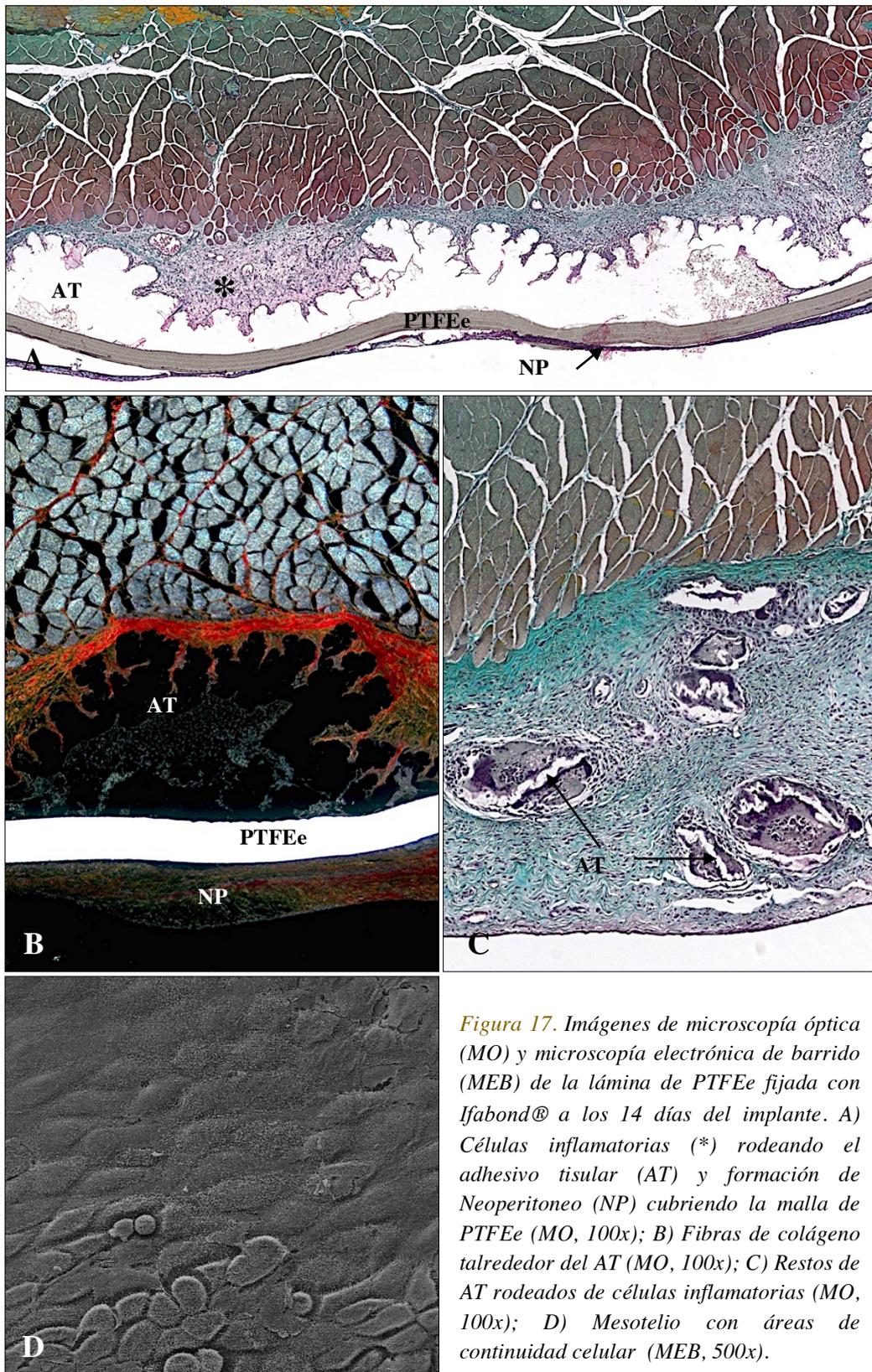


Figura 17. Imágenes de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB) de la lámina de PTFEe fijada con Ifabond® a los 14 días del implante. A) Células inflamatorias (*) rodeando el adhesivo tisular (AT) y formación de Neoperitoneo (NP) cubriendo la malla de PTFEe (MO, 100x); B) Fibras de colágeno talrededor del AT (MO, 100x); C) Restos de AT rodeados de células inflamatorias (MO, 100x); D) Mesotelio con áreas de continuidad celular (MEB, 500x).

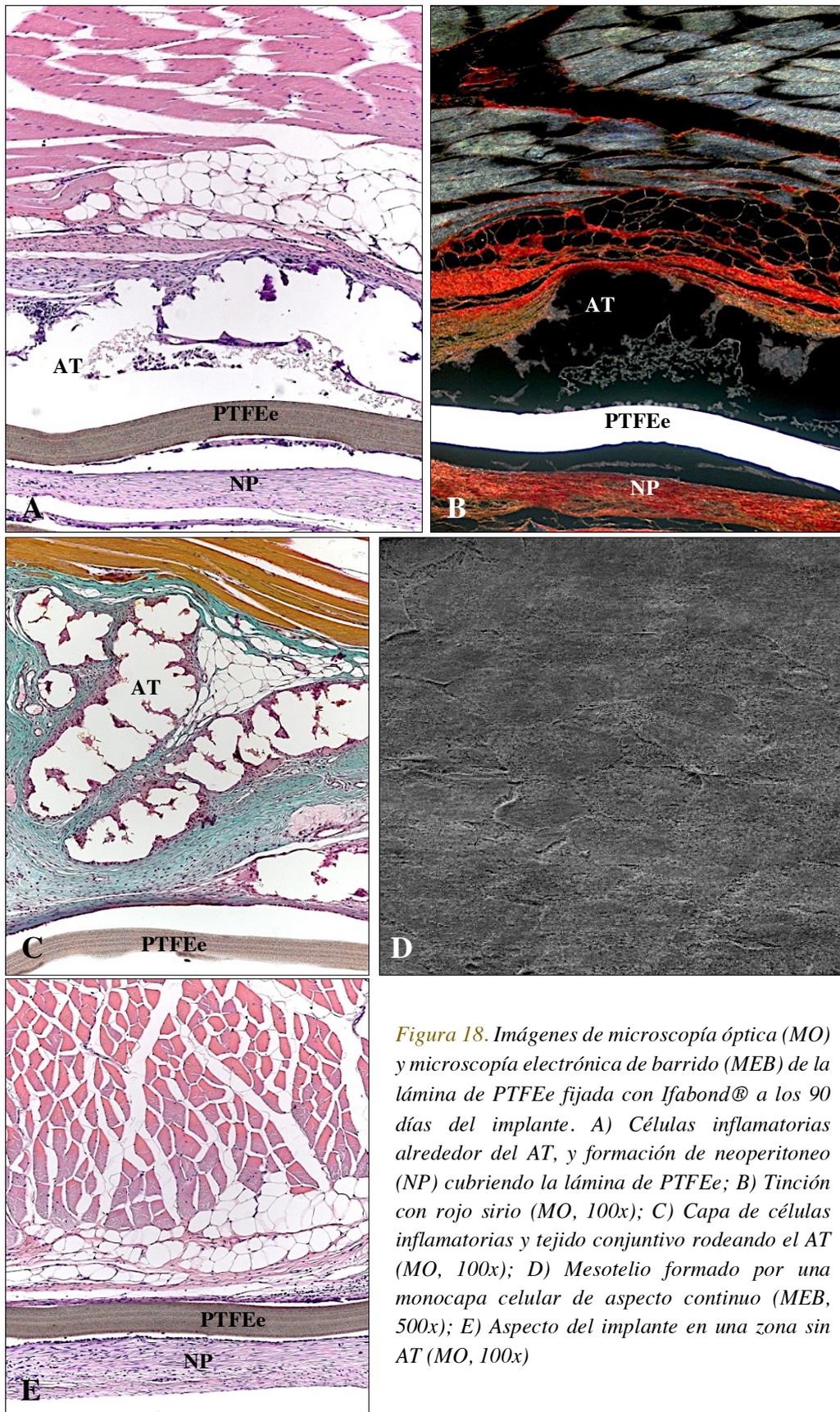


Figura 18. Imágenes de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB) de la lámina de PTFEe fijada con Ifabond® a los 90 días del implante. A) Células inflamatorias alrededor del AT, y formación de neoperitoneo (NP) cubriendo la lámina de PTFEe; B) Tinción con rojo sirio (MO, 100x); C) Capa de células inflamatorias y tejido conjuntivo rodeando el AT (MO, 100x); D) Mesotelio formado por una monocapa celular de aspecto continuo (MEB, 500x); E) Aspecto del implante en una zona sin AT (MO, 100x)

El comportamiento de n-octilo fue similar al observado para Ifabond®, aunque en general, se observó una mayor reacción inflamatoria alrededor del AT.

A los 14 días, también fue frecuente la aparición de seroma en las inmediaciones de la zona de aplicación del n-octilo (*Figura 19, A y B*). La superficie de la gota de n-octilo presentaba un aspecto más regular, sobre la que podía observarse una intensa reacción inflamatoria (*Figura 19 C*). Por debajo de la lámina de PTFEe el neoperitoneo aparecía formado por una capa de células blancas que bordeaba el biomaterial, inmersas en una delgada capa de tejido conjuntivo laxo. Con la tinción de rojo sirio, pudo apreciarse una proporción similar de colágeno I y III en el tejido de nueva formación (*Figura 19 D*). A microscopía electrónica de barrido, las células mesoteliales presentaban en algunas zonas un aspecto redondeado con características secretoras, alternado con zonas donde podía observarse su estructura poligonal y continua características (*Figura 19 E*).

A los 90 días, en las zonas de aplicación del AT, seguía apreciándose la presencia de n-octilo rodeado por tejido inflamatorio (*Figura 20, A y B*). El tejido formado entre el tejido muscular y el AT presentó una distribución de colágeno de tipo III y de tipo I similar, sin que fuera posible apreciar, a simple vista, una mayor cantidad de uno de ellos (*Figura 20 C*). Se incrementó el grosor del neoperitoneo, en el que el tejido conjuntivo contenía una mayor proporción de colágeno maduro. El mesotelio presentó un aspecto continuo y compacto (*Figura 20 D*).

El aspecto de los implantes en la zonas libres de AT el aspecto del tejido neoformado fue similar al descrito en los dos grupos anteriores.

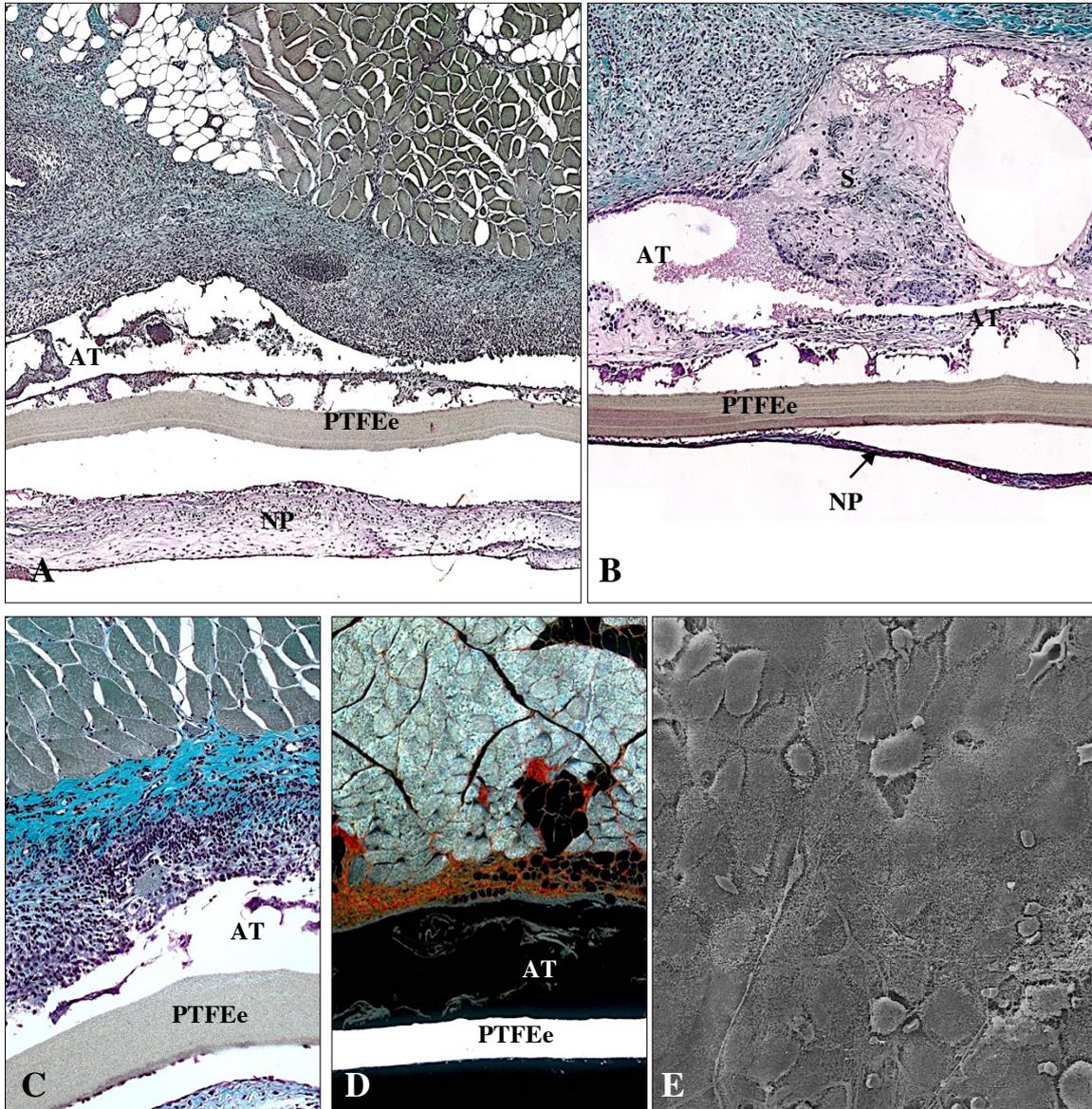


Figura 19. Imágenes de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB) de la lámina de PTFEe fijada con *n*-octilo a los 14 días del implante. A) Aspecto del implante fijado con *n*-octilo (MO, 100x); B) Presencia de seroma (S) en la zona de aplicación del AT (MO, 100x); C) Células inflamatorias alrededor del AT (MO, 200x); D) Presencia de colágeno tipo I y III (MO, 100x); E) Células mesoteliales redondeadas con características secretoras, alternando con las de forma poligonal continua (MEB, 500x).

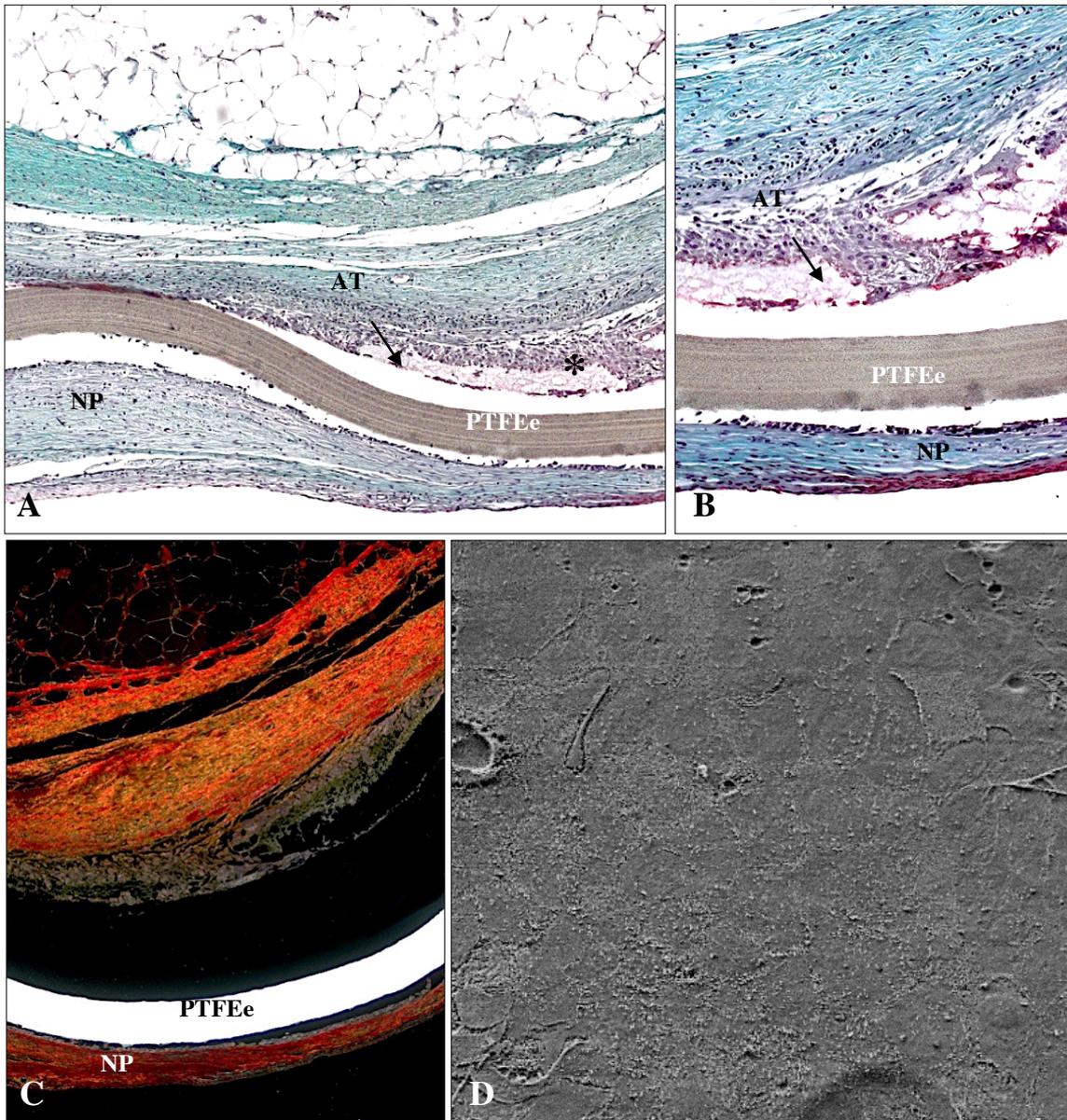


Figura 20. Imágenes microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB) de la lámina de PTFEe fijada con n-octilo a los 90 días del implante. A y B) Aspecto del tejido inflamatorio () que rodea el AT, y neoperitoneo (NP) que cubre el implante (MO, 100x); C) Presencia de colágeno tipo I y III entre el músculo y el AT (MO 100x); D) Mesotelio (MEB, 500x).*

4.1.4 Respuesta macrofágica.

Tras la utilización de un anticuerpo monoclonal específico para macrófagos de conejo, RAM-11, se observaron células positivas en los tres grupos de estudio.

La presencia de macrófagos y células gigantes de cuerpo extraño se localizó en torno a la lámina de PTFEe en el grupo *tackers*, tanto a nivel del tejido comprendido entre la capa muscular y la prótesis, como en el neoperitoneo.

En los grupos de AT, las células positivas (macrófagos y células gigantes de cuerpo extraño) además de distribuirse en torno a la lámina de PTFEe, eran especialmente numerosas en los bordes en contacto con el adhesivo, confirmando los resultados preliminares observados en el estudio histológico.

El recuento de células marcadas a los 14 días, fue mayor para el grupo de n-octilo respecto a los grupos de *tackers* e Ifabond®, aunque no se establecieron diferencias significativas entre Ifabond y n-octilo, sí que lo fueron cuando se compararon los grupos de n-octilo y *tackers*.

A los 90 días postimplante, no se observó una reducción del número de macrófagos respecto a las dos semanas, pero sí un ligero incremento. De hecho, en el caso de Ifabond® se producía un incremento significativo. Aunque el número de células positivas fue menor en el grupo de los *tackers*, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos a este tiempo de estudio (*Figura 21*).

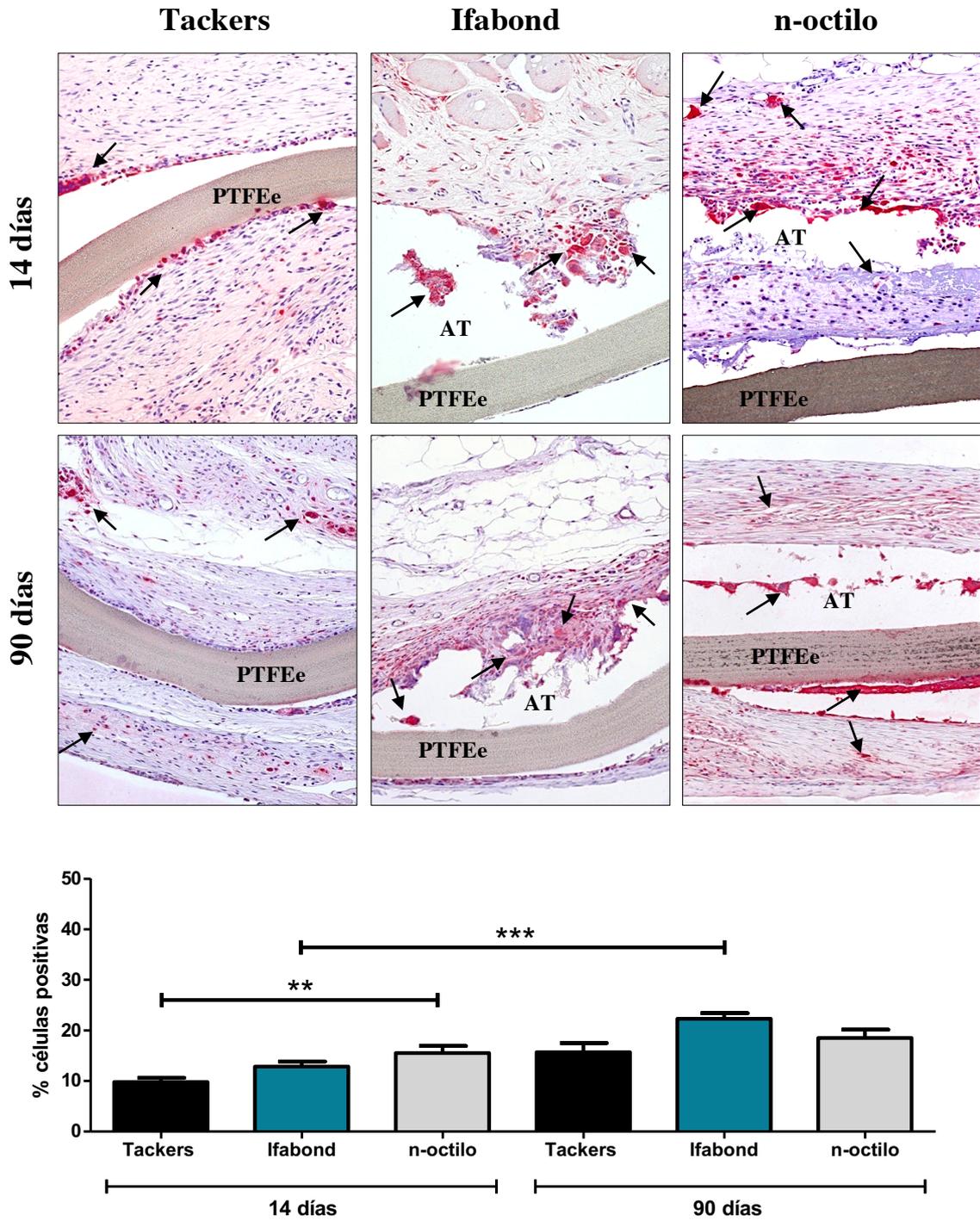


Figura 21. Inmunohistoquímica usando anticuerpo monoclonal específico para macrófagos de conejo RAM-11 (flechas), en los 3 grupos de estudio, a los 14 y a los 90 días, y porcentaje de células positivas para RAM-11 (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

4.1.5 Daño celular.

En el grupo en el que la fijación de la prótesis de PTFEe se realizó con los *tackers*, las células positivas se observaron fundamentalmente en el tejido próximo al *tacker* y también en las inmediaciones del material protésico. La cantidad de células positivas se reducía de forma considerable entre los 14 y los 90 días.

En los grupos de AT, las células TUNEL positivas fueron más abundantes que en el grupo de los *tackers* y se localizaron en torno al biomaterial y en el tejido en contacto con las zonas de aplicación del AT. Al igual que en el grupo de los *tackers*, se apreció una disminución en su número entre los 14 y los 90 días.

A las dos semanas, los valores obtenidos tras el recuento de células positivas fueron significativamente mayores en los grupos de AT respecto a los *tackers*. No se observaron diferencias entre los dos grupos de CA.

Transcurridos 90 días, la presencia de células TUNEL positivas se redujo de forma significativa en los tres grupos de estudio respecto a los 14 días. El grupo de *tackers* fue el que presentó una menor cantidad de células marcadas, siendo las diferencias estadísticamente significativas cuando se comparó con los AT. Cuando se compararon entre sí los grupos de Ifabond® y n-octilo, el primer grupo mostró una mayor cantidad (significativa) de células TUNEL positivas (*Figura 22*).

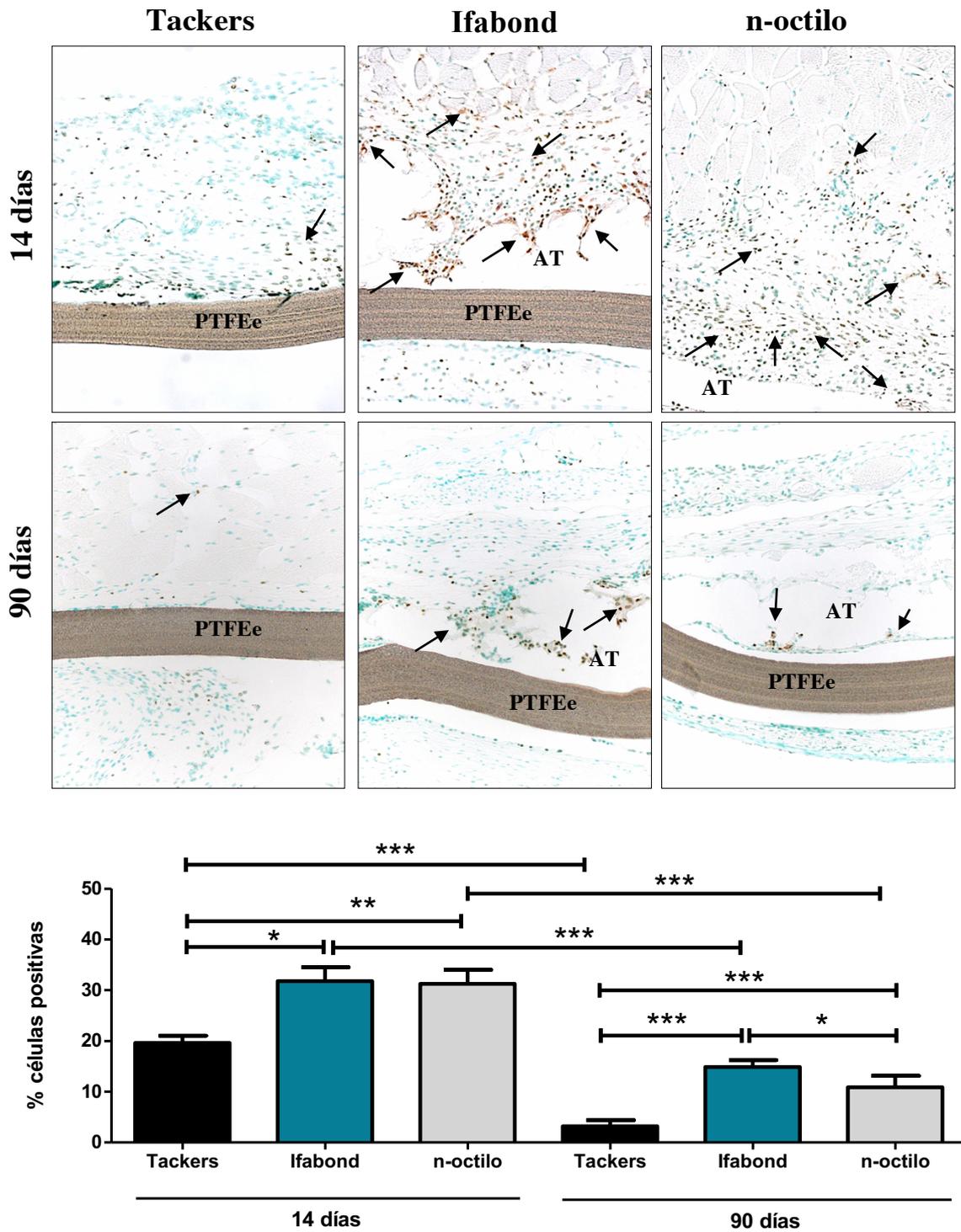


Figura 22. Células positivas según la técnica TUNEL (flechas), en los 3 grupos de estudio, a los 14 y a los 90 días, y porcentaje de células positivas para la técnica TUNEL (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

4.1.6 Estudios de resistencia biomecánica.

El estudio de resistencia biomecánica demostró una fuerza de resistencia a la tracción significativamente mayor en las prótesis fijadas con Ifabond respecto a n-octilo, tanto a los 14 como a los 90 días postimplante. Cuando se compararon los adhesivos con los *tackers*, a las dos semanas no se observaron diferencias entre la fijación realizada con los *tackers* e Ifabond®. Además estos dos métodos de fijación ofrecieron unos valores de resistencia biomecánica significativamente mayores que el n-octilo.

Estas diferencias se mantuvieron también a los 90 días, pero en este caso si se obtuvo una mayor resistencia biomecánica (significativa) en el grupo de *tackers* respecto al grupo fijado con Ifabond® (Figura 23). Las curvas de resistencia biomecánica para cada grupo se muestran en las Figuras 24 y 25.

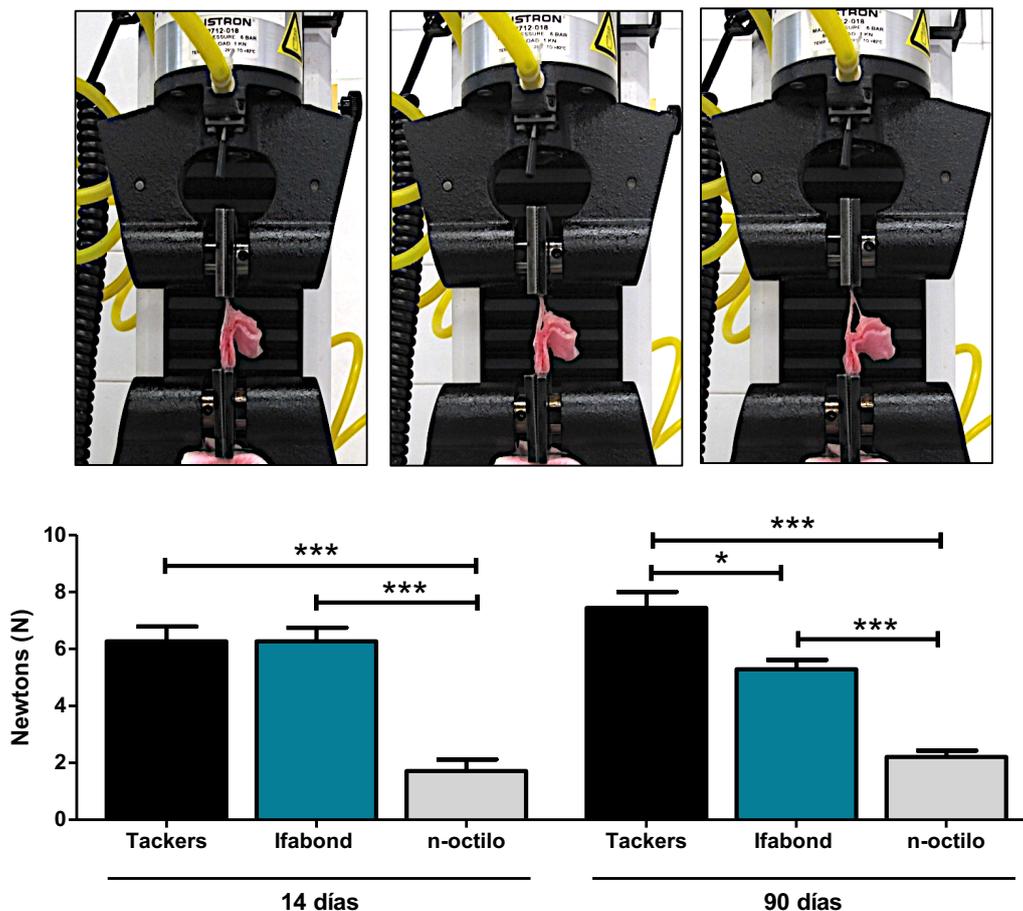


Figura 23. Resultados de la resistencia a la tracción mecánica, utilizando un tensiómetro INSTRON (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$).

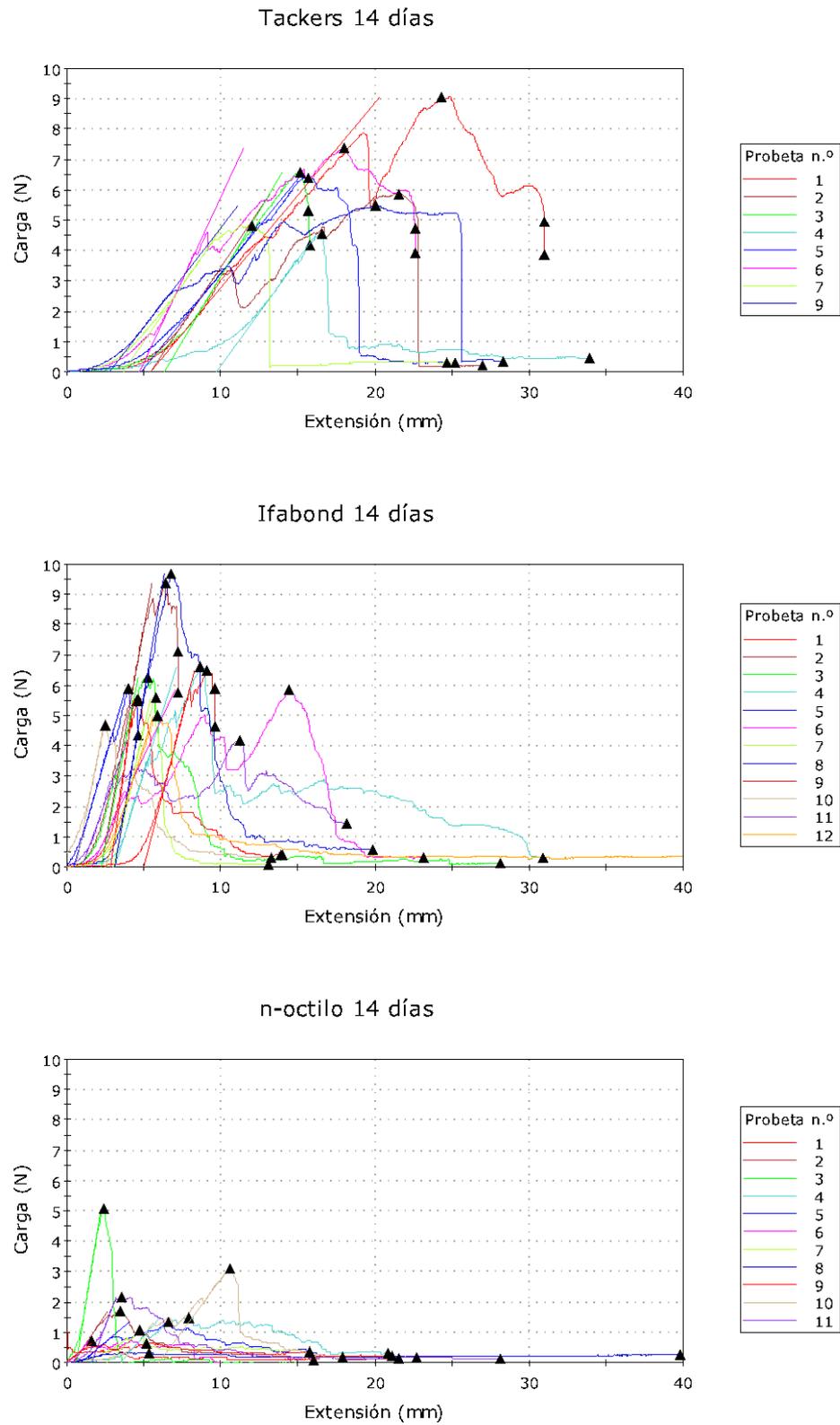


Figura 24. Gráficas de la resistencia biomecánica en los 3 grupos de estudio a 14 días.

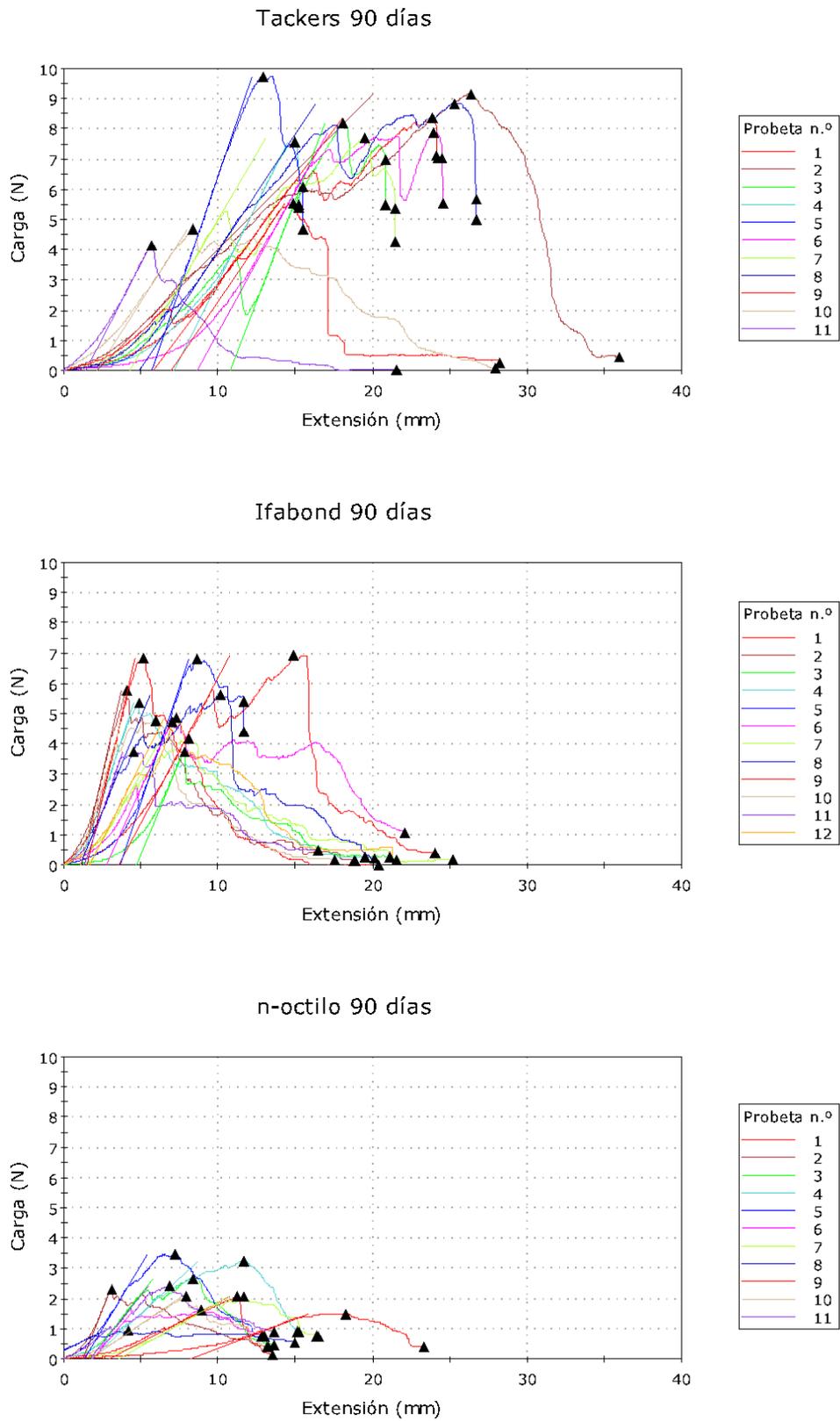


Figura 25. Gráficas de la resistencia biomecánica en los 3 grupos de estudio a 90 días.

4.2 IMPLANTE EXTRAPERITONEAL.

4.2.1 Análisis macroscópico.

No se observaron signos de infección ni desinserción o migración de las mallas fijadas con puntos de sutura o con los adhesivos tisulares a los 14 ó a los 90 días (*Figura 26*).

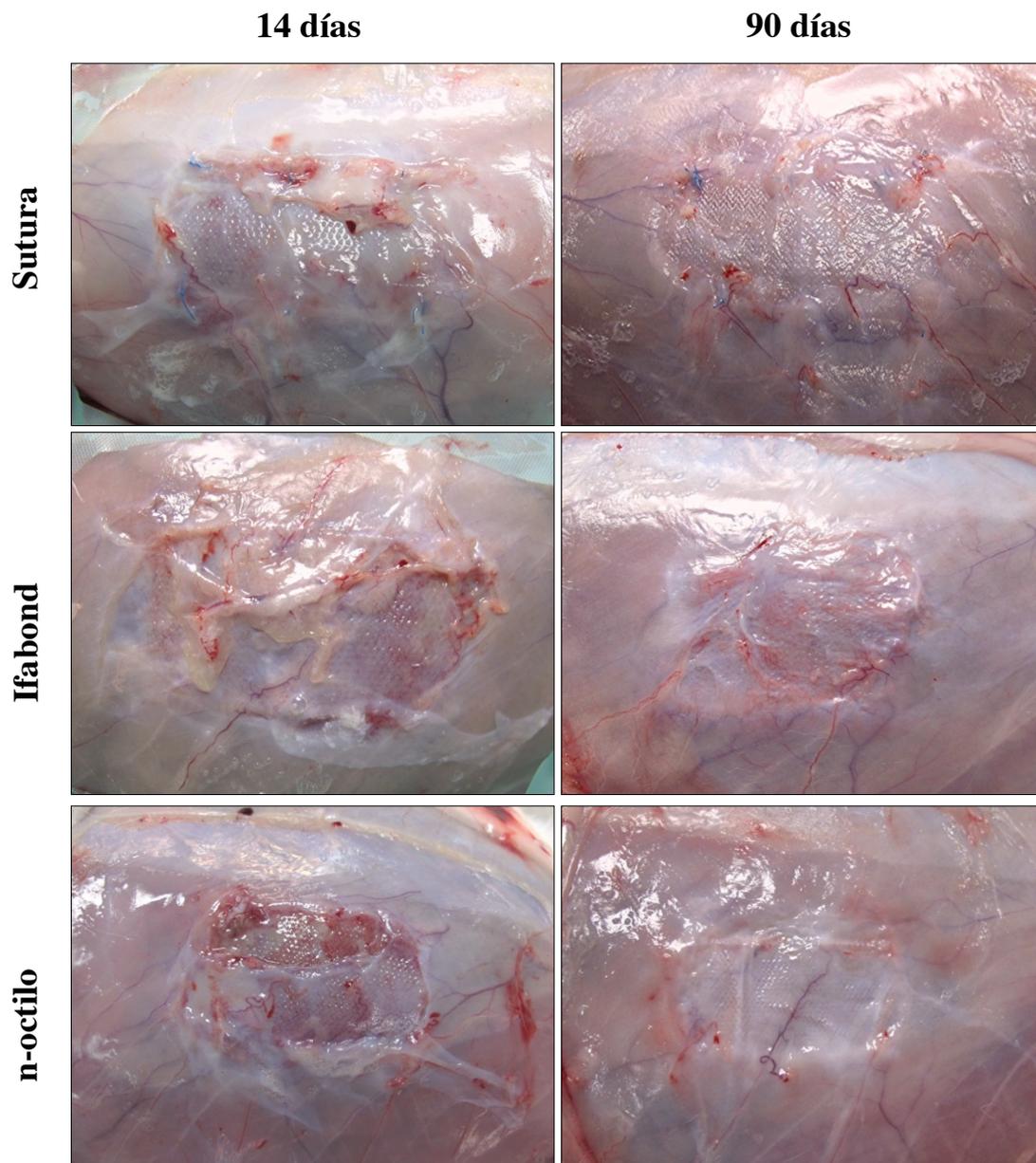


Figura 26. Mallas de Polipropileno sobre el defecto parcial aponeurótico, fijadas con puntos de sutura (imágenes superiores), Ifabond® (imágenes centrales) y n-octilo (imágenes inferiores), a los 14 días (izquierda) y 90 días (derecha) del implante.

Tanto en el grupo en que la malla fue fijada con puntos de sutura, como en los dos grupos en los que la fijación se realizó con AT se observó la formación de seroma a las dos semanas postimplante. En el grupo de suturas se observó en 2 de 6 animales, en el grupo Ifabond en 2 de 6 animales y en n-octilo en 1 de un total de 6 animales (*Figura 27*). La presencia de seroma no pareció afectar a la integración de la malla al tejido receptor, encontrándose esta ya muy consolidada a las dos semanas del implante. No se observó seroma a los 90 días en ninguno de los grupos de estudio.

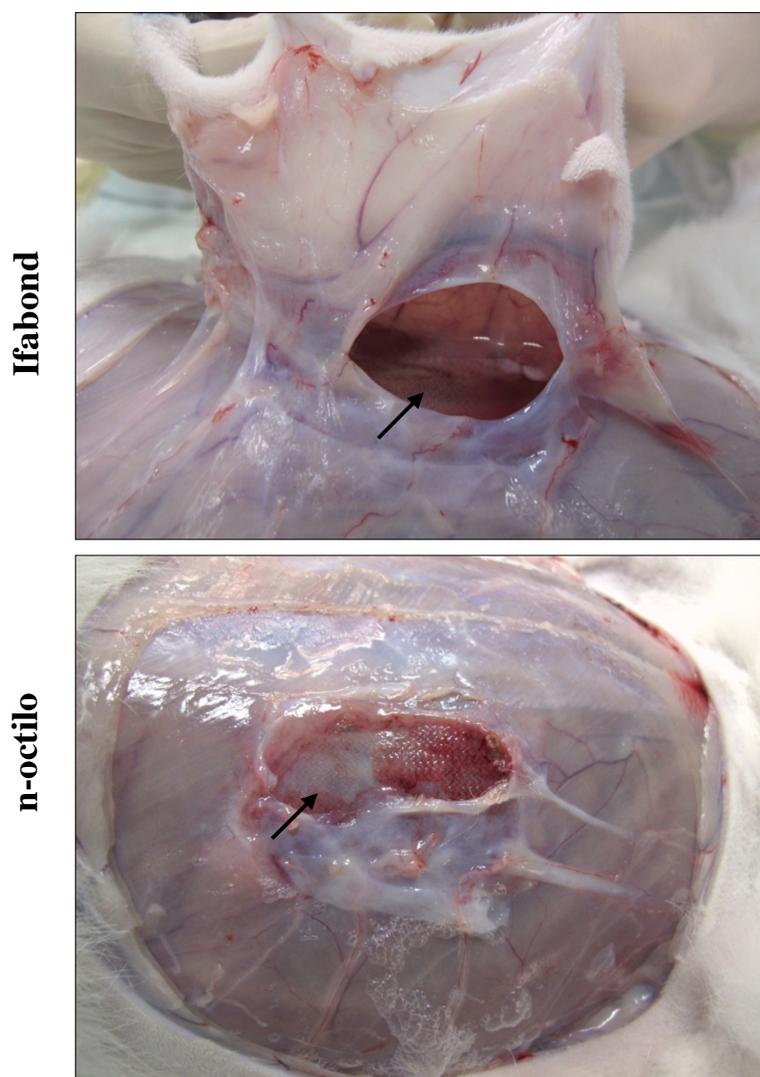


Figura 27. Mallas de Polipropileno sobre defecto parcial aponeurótico, fijadas con Ifabond® y n-octilo a los 14 días del implante, donde se observa la presencia de seroma (flechas).

4.2.2 Análisis morfológico.

En el grupo fijado con suturas, a las dos semanas, los espacios interfilamento de la malla de polipropileno (PP) se encontraban infiltrados por tejido conjuntivo de nueva formación cuyas fibras de colágeno (en su mayoría de tipo III) se disponían de forma concéntrica a los filamentos protésicos rellenando los espacios interfilamento. También se observaron vasos sanguíneos de mediano y pequeño calibre y células de aspecto inflamatorio en toda el área ocupada por la prótesis. A microscopía electrónica de barrido la integración a los 14 días parece que se encuentra ya muy consolidada alrededor de los filamentos (*Figura 28*).

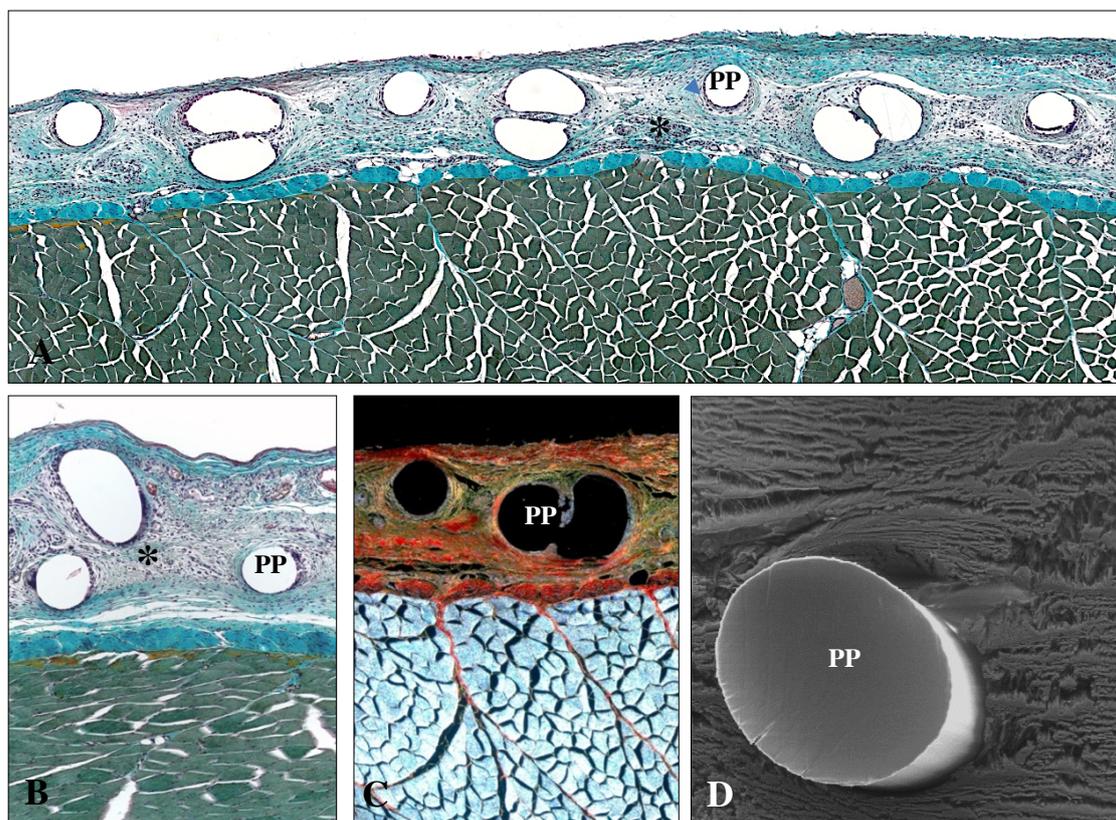


Figura 28. Imágenes de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB) de la malla de polipropileno (PP) fijada con suturas a los 14 días del implante. A y B) Presencia de células inflamatorias (*) cubriendo los filamentos PP (MO, 100x); C) Filamentos de PP rodeados por tejido conjuntivo con fibras de colágeno tipo III (MO, 100x); D) Filamento de PP con buena integración (MEB, 200x).

Pasados 90 días, el tejido que envolvía el material protésico fue sustituido en su mayoría por tejido adiposo, hecho que era perfectamente visible tanto a microscopía óptica, como a microscopía electrónica de barrido. En el tejido conjuntivo fue mayoritario el colágeno de tipo III. Alrededor de los filamentos de polipropileno se observó un gran número de células que correspondían en su mayoría a macrófagos y células gigantes de cuerpo extraño (*Figura 29*).

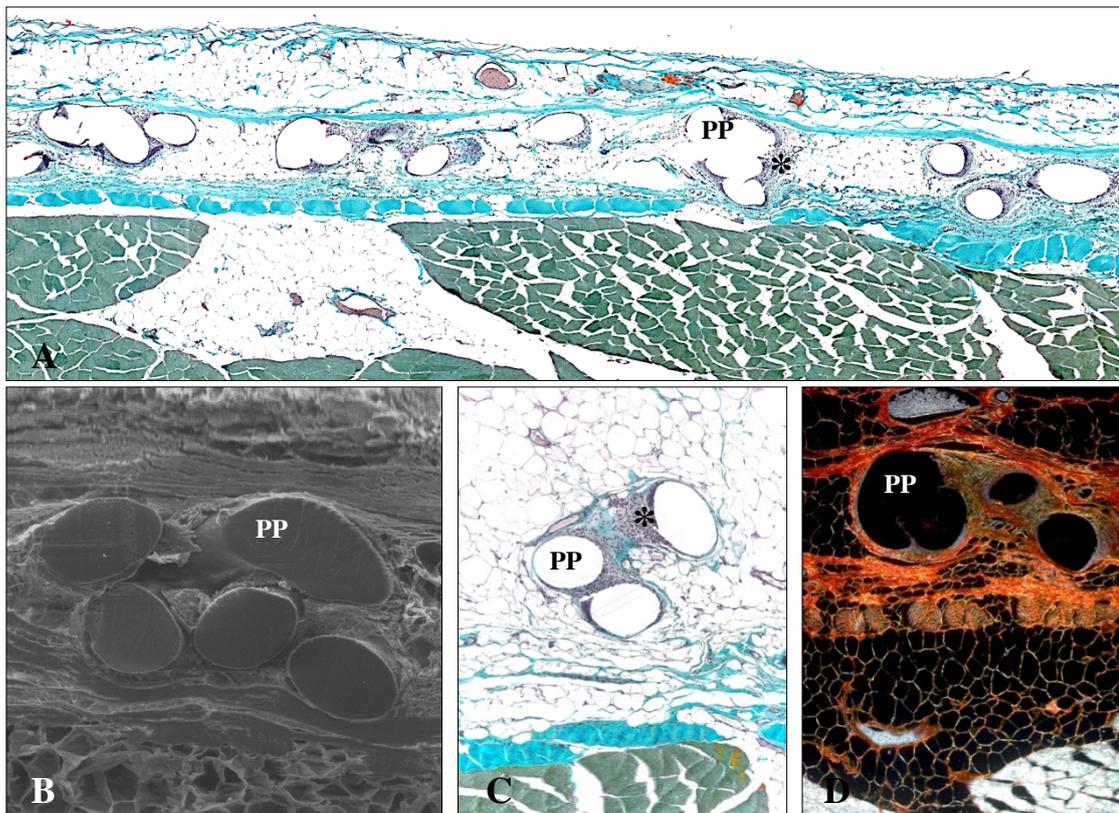


Figura 29. Imágenes de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB) de la malla de PP fijada con suturas a los 90 días del implante. A) Presencia de células inflamatorias (*) cubriendo los filamentos PP (MO, 100x); B) Filamento de PP a MEB (100x); C) Filamentos de PP cubiertos por tejido adiposo y rodeados por células inflamatorias (*); D) Filamentos de PP cubiertos por tejido conjuntivo (MO, 100x).

En los grupos de los AT, a los 14 días de la cirugía, pudo apreciarse como el cianoacrilato ocupaba los espacios interfilamento de la malla de polipropileno. En torno a la zona de aplicación del AT se observó la formación de seroma y numerosas células inflamatorias, que se disponían rodeando el adhesivo aislándolo del tejido adyacente. Con la tinción de rojo sirio en las proximidades del adhesivo, se apreció una mayor cantidad de colágeno III y en las zonas algo más alejadas aumentaba la cantidad de colágeno I. A microscopía electrónica de barrido, el AT presentaba un aspecto compacto, con algunas zonas huecas correspondientes posiblemente a microburbujas (Figuras 30-31). En las zonas adyacentes a la gota de pegamento, los implantes presentaron un aspecto similar al grupo de suturas en cuanto a la integración al tejido receptor.

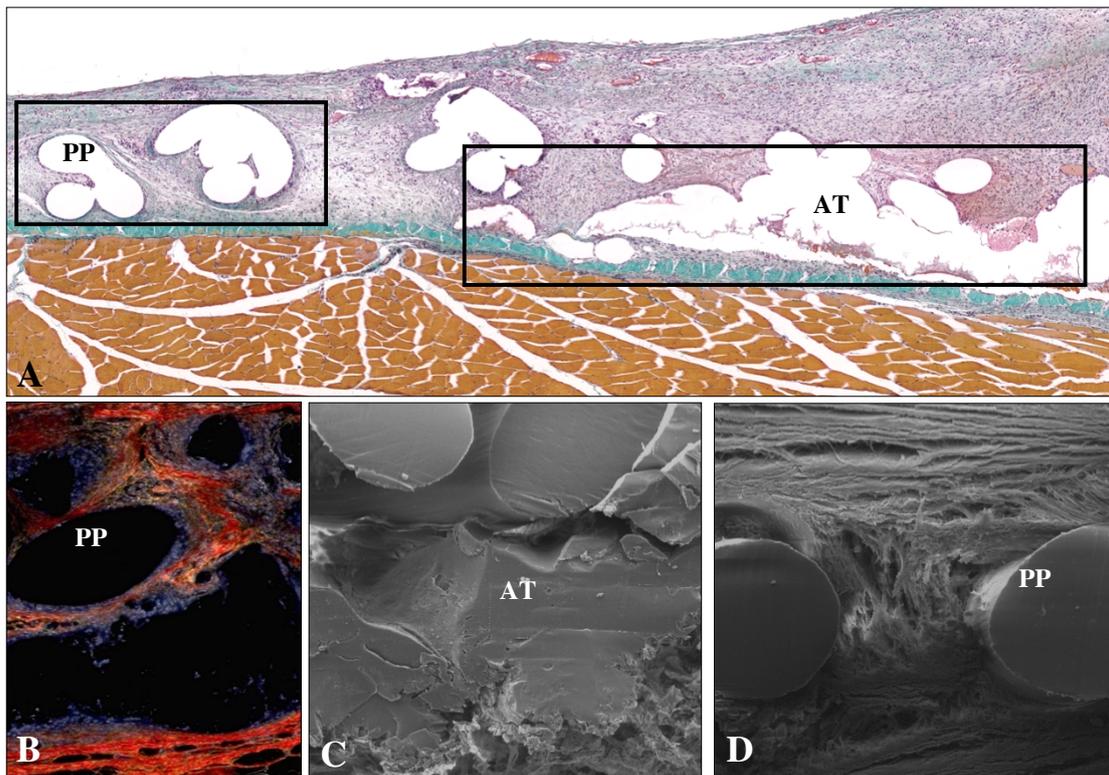


Figura 30. Imágenes de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB) de la malla de PP fijada con Ifabond® a los 14 días del implante. A) Imagen panorámica del implante en la que se observa la zona de aplicación del AT (derecha) y la zona adyacente sin adhesivo (izquierda) (MO, 100x); B) Tejido conjuntivo rodeando el AT (MO, 100x); C) Filamentos de PP rodeados de AT (MEB, 200x); D) Tejido de integración alrededor de los filamentos de PP (MEB, 200x).

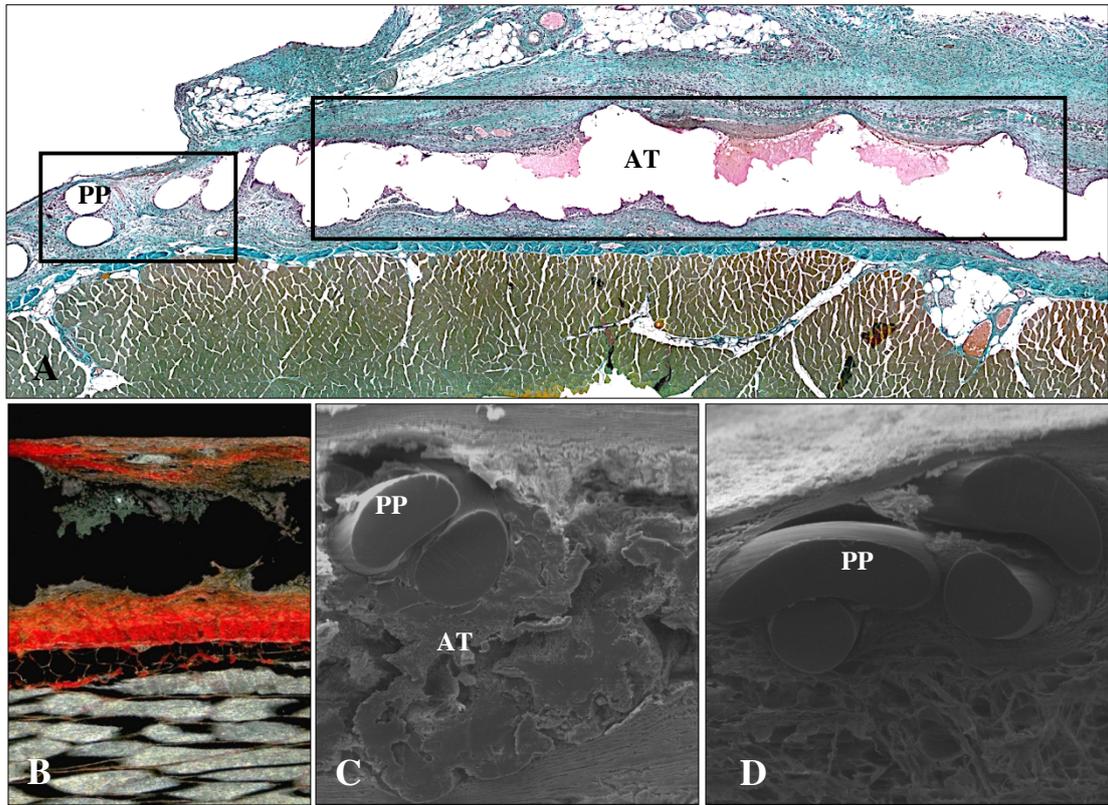


Figura 31. Imágenes de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB) de la malla de PP fijada con n-octilo a los 14 días del implante. A) Panorámica del implante en la que se observa la zona de aplicación del AT (derecha) y la zona adyacente sin adhesivo (izquierda) (MO, 100x); B) Tinción con rojo sirio (MO, 100x); C) Filamentos de PP rodeados de AT (MEB, 100x); D) Tejido de integración alrededor de los filamentos de PP en la zona libre de AT (MEB, 100x).

El aspecto de los implantes a los 90 días fue similar al observado a las dos semanas en los dos grupos de los AT. Aunque parecía apreciarse un ligero adelgazamiento del espesor del adhesivo, no fueron evidentes signos de absorción/desaparición. Al igual que en el grupo de las suturas, a este tiempo de estudio, el tejido receptor pasaba a estar ampliamente infiltrado por tejido adiposo. La zona en la que se aplicaron los AT aparecía rodeada por una cápsula fibrosa, con más contenido de colágeno I que a los 14 días, aunque todavía era abundante el colágeno de tipo III ó inmaduro, en la que se podía apreciar la presencia de células inflamatorias, especialmente células gigantes de cuerpo extraño (*Figuras 32-33*).

Las zonas libres de AT presentaron un proceso de cicatrización similar al descrito en el grupo de suturas en ambos tiempos de estudio.

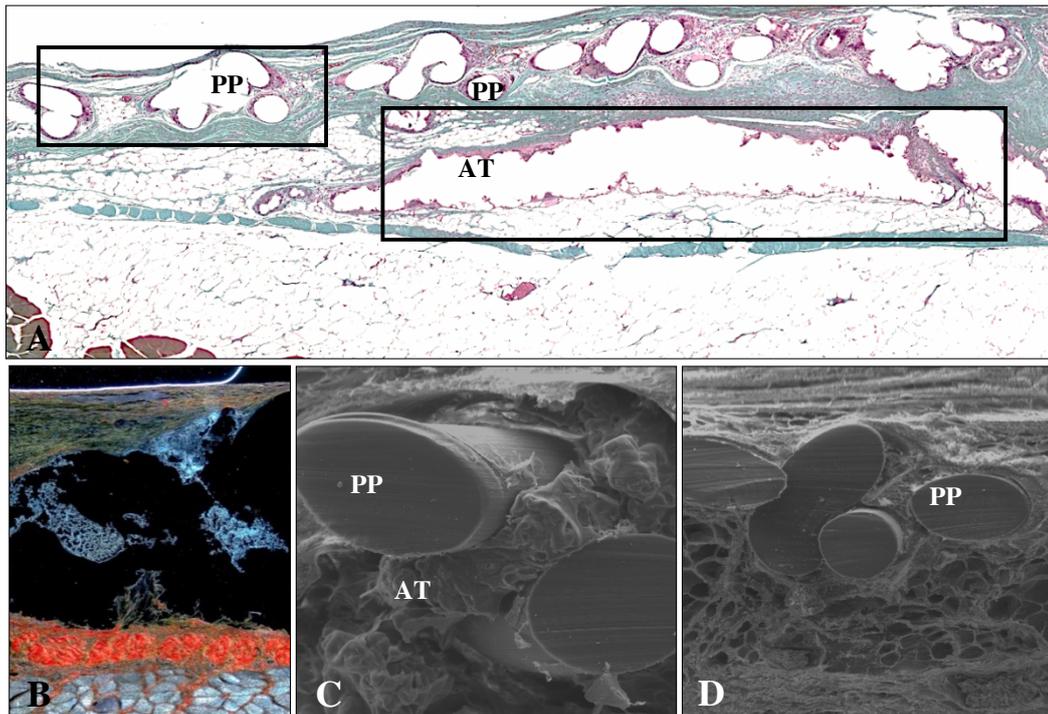


Figura 32. Imágenes de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB) de la malla de PP fijada con Ifabond® a los 90 días del implante. A) Panorámica del implante en la que se observa la zona de aplicación del AT (derecha) y la zona adyacente sin adhesivo (izquierda) (MO, 100x); B) Tinción con rojo sirio (MO, 100x); C) Filamentos de PP rodeados de AT (MEB, 200x); D) Aspecto de los filamentos de PP en la zona libre de AT (MEB, 100x).

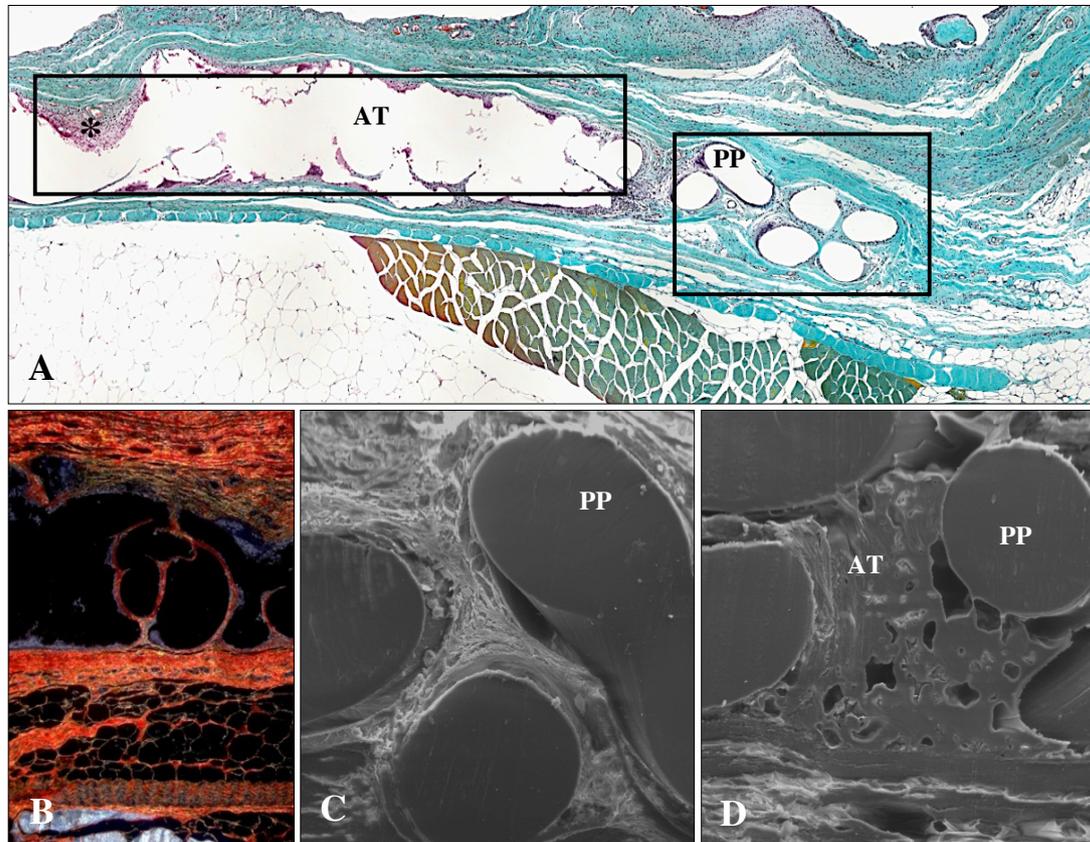


Figura 33. Imágenes de microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de barrido (MEB) de la malla de PP fijada con n-octilo a los 90 días del implante. A) Imagen en la que se aprecia la zona de aplicación del AT (izquierda) y la zona sin AT (derecha) (MO, 100x); B) Tinción para colágeno (MO, 100x); C) Filamentos de PP sin AT (MEB, 200x); D) n-octilo (AT) entre los filamentos de PP (MEB, 200x).

4.2.3 Respuesta macrofágica.

En el grupo en el que la malla se fijó con la suturas, a los 14 días, se observaron numerosos macrófagos marcados con el anticuerpo RAM-11 rodeando los filamentos de polipropileno. Con frecuencia se observó como estas células se unían formando células gigantes de cuerpo extraño que envolvían los filamento protésicos. También se

localizaron células positivas dispersas por el tejido de integración. A los tres meses, las células marcadas se localizaron principalmente en torno a los filamentos del biomaterial.

En los grupos de CA, el marcaje se localizó además del tejido de nueva formación y alrededor de los filamentos, delimitando el perímetro del área ocupada por el AT.

Las células positivas para RAM-11 fueron significativamente mayores en el grupo de Ifabond® respecto a la sutura y al n-octilo a los 14 días.

A los 90 días, los valores del recuento macrofágico se incrementaron de forma significativa respecto a los 14 días en los dos grupos de AT. En el grupo de suturas, se observó, en cambio, una ligera disminución, aunque no se obtuvieron diferencias significativas respecto a los 14 días. A los 3 meses, los grupos de AT mostraron una reacción macrofágica significativamente superior al grupo de suturas. Ifabond® y n-octilo mostraron valores similares en el porcentaje de células marcadas (*Figura 34*).

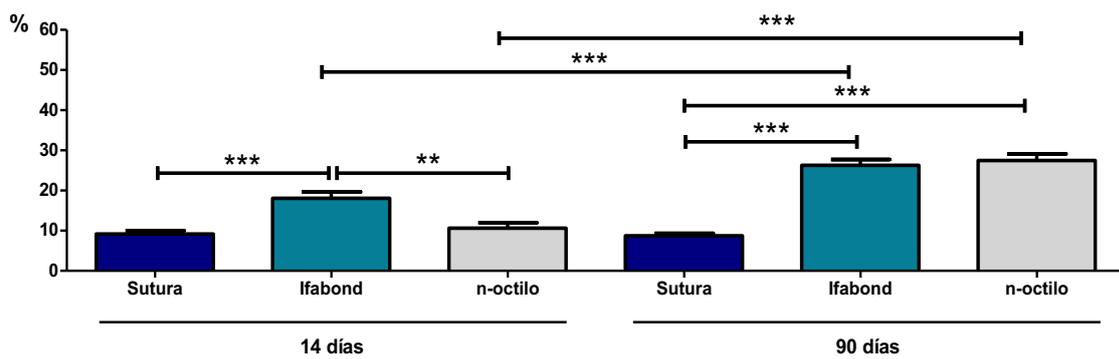
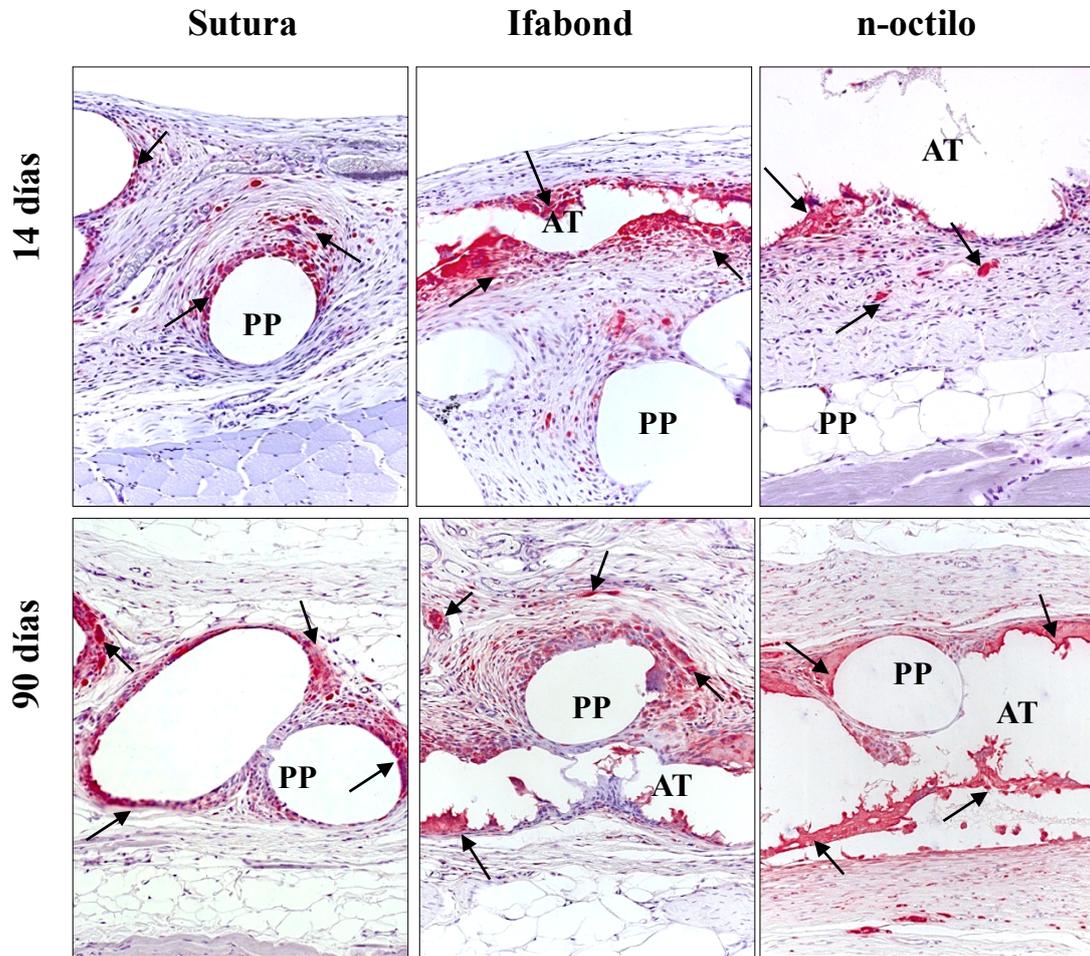


Figura 34. Inmunohistoquímica usando anticuerpo monoclonal específico para macrófagos de conejo RAM-11 (flechas), en los 3 grupos de estudio a los 14 y a los 90 días, y porcentaje de células positivas RAM-11 (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

4.2.4. Daño celular.

En general, las células positivas se distribuían en todo el tejido de neoformación. En el grupo de suturas, se observaron células marcadas alrededor de los filamentos protésicos. En los grupos de los AT se localizó además bordeando la gota de CA.

El porcentaje células TUNEL positivas fue mayor a las dos semanas en el grupo de n-octilo respecto al grupo de suturas. A los 90 días se redujo significativamente la proporción de células positivas respecto a los 14 días en todos los grupos. No se obtuvieron diferencias entre los diferentes grupos de los AT utilizados a los tres meses postimplante. Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de suturas y el de los AT (*Figura 35*).

4.2.5 Estudios de resistencia biomecánica.

El empleo de suturas o CA para la fijación de una malla de tipo reticular, como Surgipro, incrementó la resistencia biomecánica de forma significativa respecto al defecto parcial sin reparar tanto a los 14 como a los 90 días. Sin embargo, no se apreciaron diferencias entre usar las suturas como método de fijación o los AT, ya que se obtuvieron valores muy similares entre los distintos grupos a 14 días.

Los valores de resistencia biomecánica obtenidos a 90 días, se incrementaron significativamente respecto a los 14 días. A este tiempo de estudio tampoco se registraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de suturas y los AT (*Figura 36*).

Las curvas de resistencia biomecánica para cada grupo se muestran en las *Figuras 37-38*.

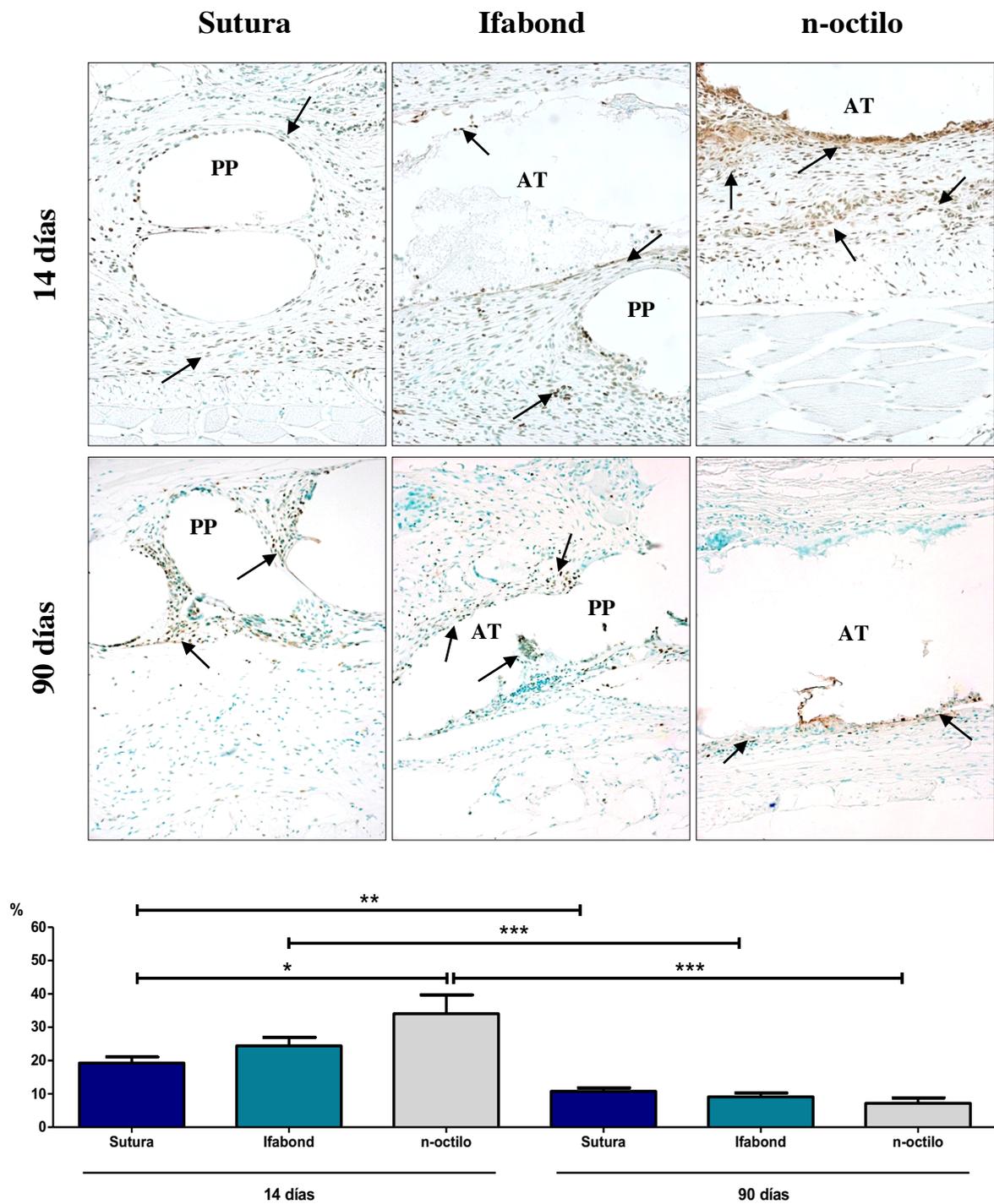


Figura 35. Células positivas según técnica TUNEL (flechas), en los 3 grupos de estudio a los 14 y a los 90 días, y porcentaje de las células positivas (*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001).

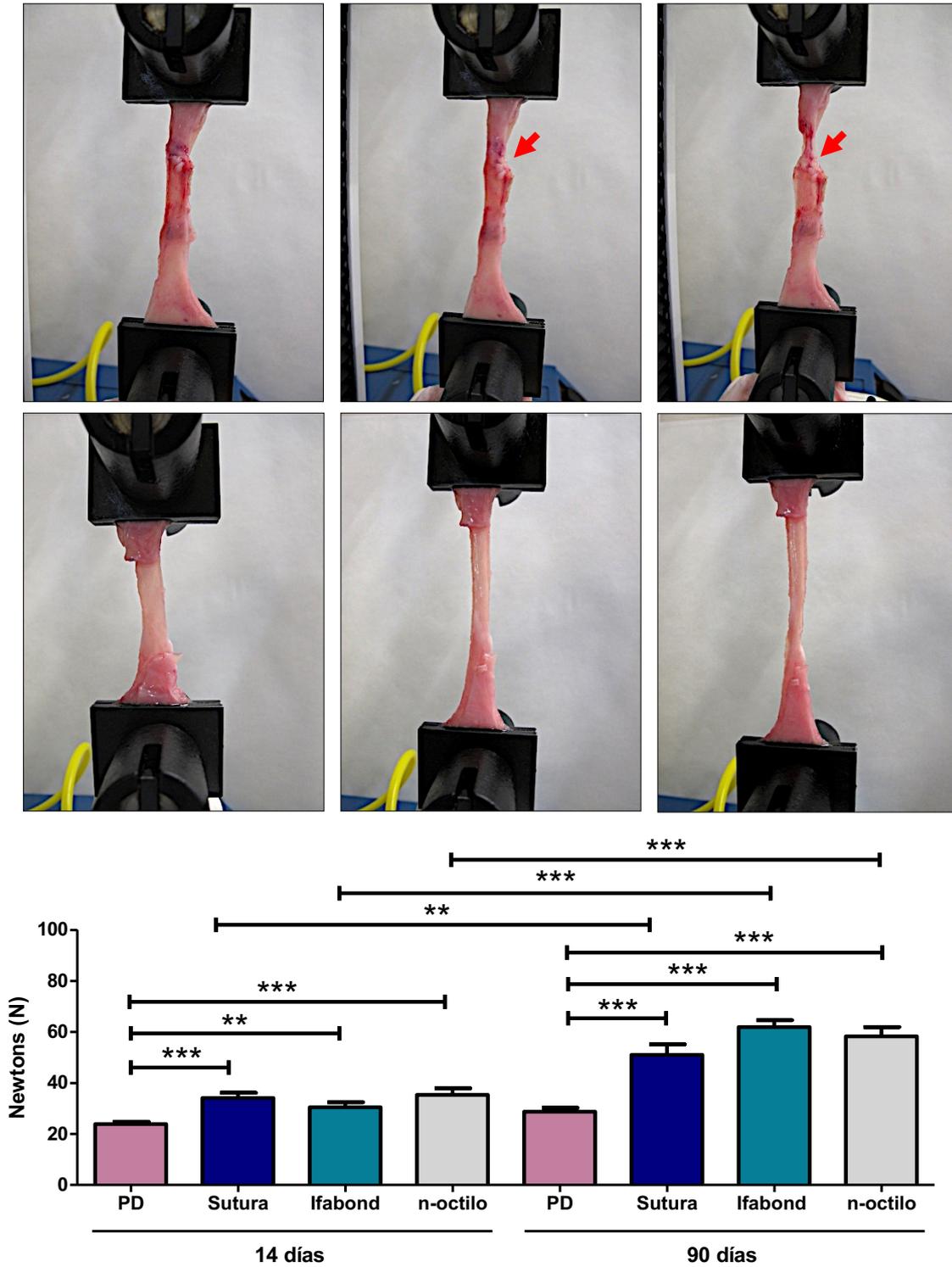
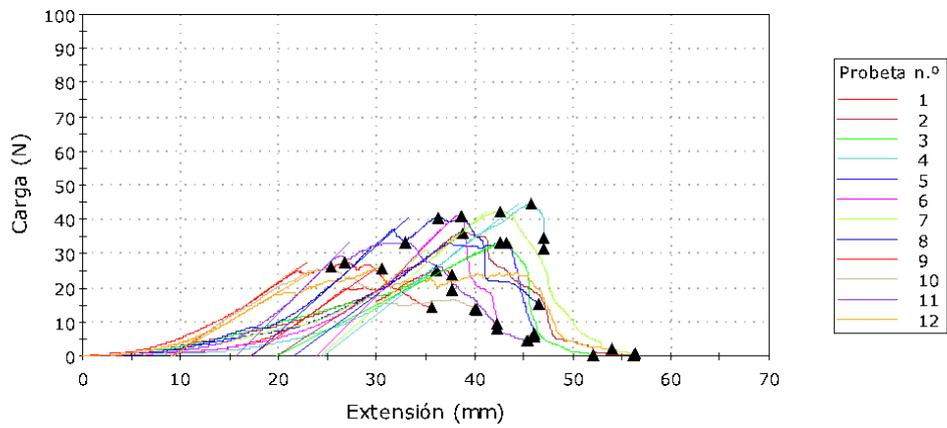
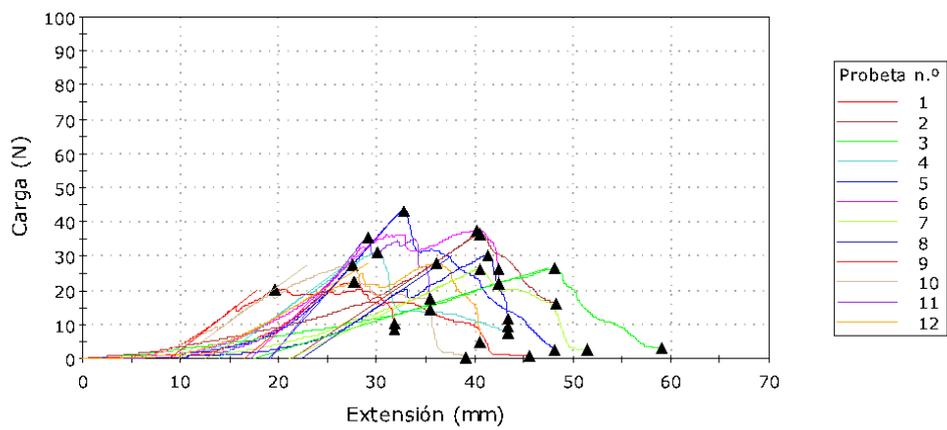


Figura 36. Resultados de la resistencia a la tracción mecánica. Secuencia de rotura de una muestra del grupo de Ifabond® (imágenes superiores) y de defecto parcial (imágenes inferiores). (*p<0,05; **p<0,01;***p<0,001).

Sutura 14 días



Ifabond 14 días



n-octilo 14 días

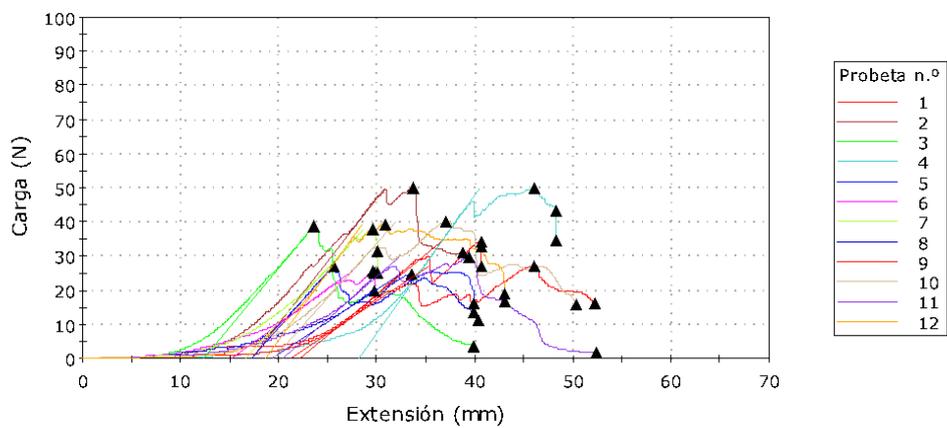


Figura 37. Gráficas de la resistencia biomecánica en los 3 grupos de estudio a 14 días.

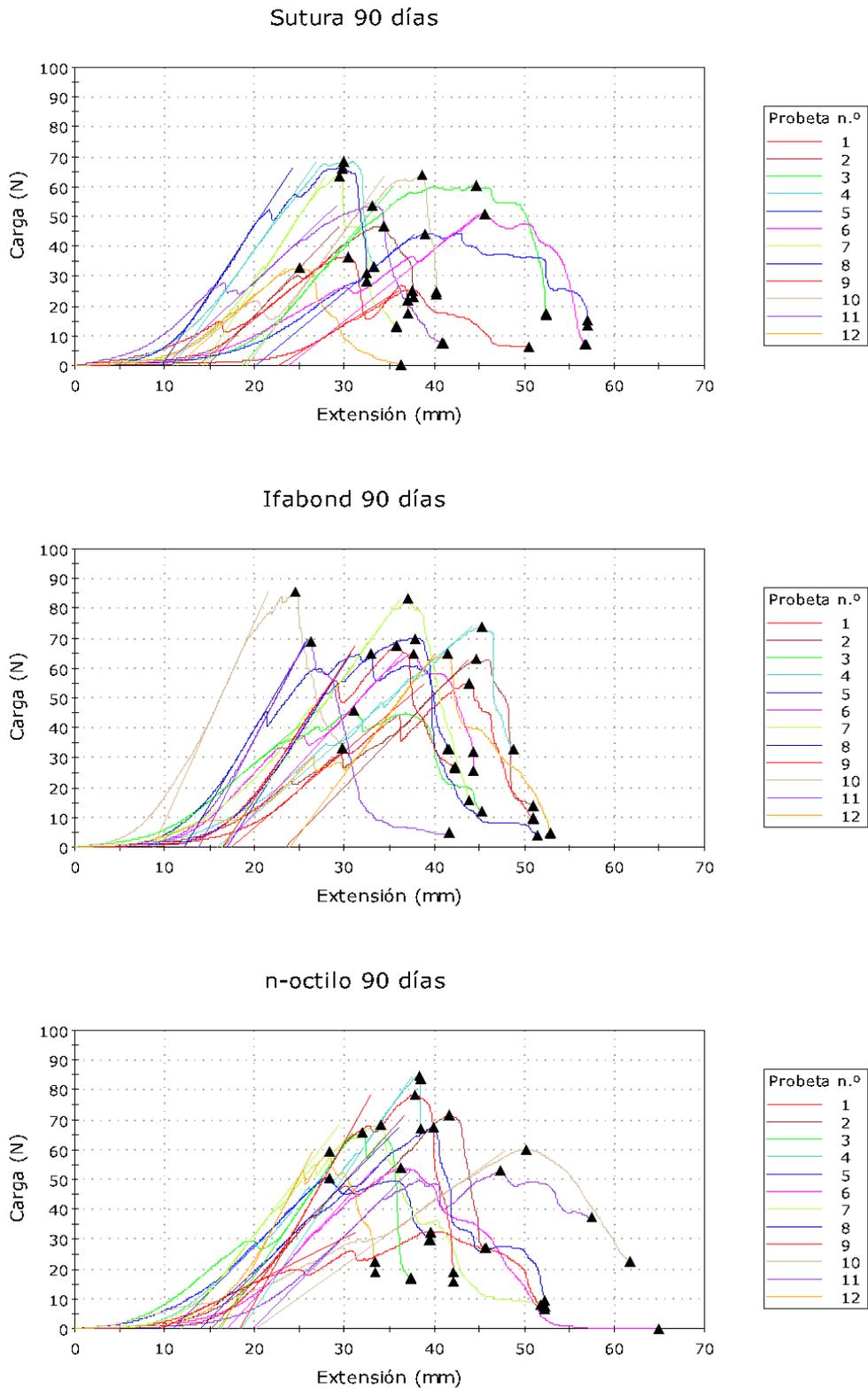


Figura 38. Gráficas de la resistencia biomecánica en los 3 grupos de estudio a 90 días.

5. DISCUSIÓN.

Una alternativa en la práctica clínica al empleo de suturas quirúrgicas, es el uso de AT. Conceptualmente son sustancias que se aplican para unir superficies y conseguir una resistencia a su separación (Singer y Thode, 2004). Son capaces de polimerizar (es decir pasar de un estado líquido a sólido) en contacto con los tejidos, de manera que la reacción a la que dan lugar permite una unión entre los mismos. Pueden también actuar como sellantes, favoreciendo finalmente el proceso de cicatrización. En los últimos años ha resurgido el interés por estos AT, dadas las ventajas de su aplicación y la ampliación de las indicaciones de los mismos en el campo de la cirugía. En 2001 en una revisión sobre los AT, Cuschieri (2001), no dudó en afirmar que los adhesivos acabarían reemplazando a muchas de las indicaciones del empleo de suturas.

En 1970, Heiss, estableció las propiedades que debería reunir un AT para uso quirúrgico, siendo las mismas:

- Poseer un alto poder adherente.
- Polimerización rápida sin cambio de volumen en medio húmedo.
- Baja toxicidad y ausencia de irritación tisular.
- Acción rápida en unos segundos.
- No poseer propiedades carcinogénicas.
- Reabsorción lenta tras el cierre de la solución de continuidad.
- Esterilización eficaz sin cambiar sus propiedades.

En función de su origen, existen diversos tipos de AT: *Biológicos*, como por ejemplo fibrina homóloga y fibrina autóloga; *Semi-sintéticos*, entre los que se incluyen la trombina bovina, la gelatina porcina y el resorcinol y *Sintéticos*, como los CA.

La naturaleza biológica de los dos primeros grupos de AT hace que sean considerados como “medicamentos” (*drugs*) por la Organización Mundial de la Salud (OMS) mientras que los AT sintéticos son clasificados como “dispositivos médicos” (*medical devices*). Además, la obtención de los primeros requiere una preparación previa que garantice la inocuidad de estos compuestos, cuyos componentes proceden de animales o humanos, con el riesgo que ello implica en cuanto a la posibilidad de

transmisión de enfermedades. Por el contrario, los AT sintéticos basados la mayoría de ellos en derivados de CA, pueden ser aplicados de forma más rápida y segura. Por ello, la tendencia actual va dirigida al uso cada vez más frecuente de compuestos sintéticos de este tipo.

Existen dos tipos principales de CA atendiendo a la longitud del radical en el grupo éster del monómero:

- a) Los de cadena corta (*metilo-* ó *etilo-*), de rápida polimerización con gran desprendimiento de calor, se degradan también muy rápidamente *in vivo*. Generan sustancias como formaldehído y cianoacetato causantes de toxicidad celular y por tanto pueden influir de forma negativa en el proceso de cicatrización. Por este motivo no son empleados para uso médico.
- b) Los de cadena larga (*butilo-*, *hexilo-* y *octilo-*), son menos citotóxicos, ya que presentan una degradación mucho más lenta, sin alcanzar una concentración de formaldehído superior a la que se presenta en la sangre de forma habitual y, por ello, pueden ser utilizados de forma segura en múltiples aplicaciones médicas, tanto a nivel externo como interno (Henderson y cols. 1992). Estos CA de cadena larga polimerizan lentamente, por lo que es necesario adicionar un acelerador para que el adhesivo polimerice en un tiempo clínicamente razonable.

Los CA de cadena larga como AT, poseen tres características que son importantes: resistencia a la adhesión, biocompatibilidad y biodegradabilidad.

Son estos CA de cadena larga los que se emplean habitualmente en clínica humana, pudiendo ser de uso externo (fundamentalmente heridas cutáneas) o bien de uso interno. Estos últimos (n-butilo y n-octilo), están orientados a aplicaciones tales como el refuerzo de anastomosis gastrointestinales (Vakalopoulos y cols. 2013), refuerzo de anastomosis vasculares (arterial/venoso) (Lumsden 2006), y a la fijación de materiales protésicos en reparación herniaria (Rönkä y cols. 2015).

Es esta última aplicación la que nos ha motivado a la realización de este trabajo de investigación. En el mismo se pretende evaluar de forma preclínica un nuevo AT basado en un cianoacrilato de *octilo* destinado a ser empleado en la fijación de materiales protésicos en cirugía herniaria.

En la reparación de una hernia inguinal (“*reparación de Lichtenstein*”), se coloca una prótesis de polipropileno *versus* poliéster a nivel del canal inguinal fijando la misma con puntos de sutura. Sin embargo, la existencia de un gran número de terminaciones nerviosas en esa zona hace que la sutura al fijar la prótesis, pueda incluir alguna de esas estructuras nerviosas, generando en muchos casos dolor inguinal postoperatorio a veces invalidante para el paciente. Por este motivo, los adhesivos sintéticos se presentan como una buena alternativa para la fijación de materiales protésicos ya que pueden mejorar el confort postoperatorio de los pacientes y evitar el dolor residual inguinal que acontece después de algunas hernioplastias (Ladwa y cols. 2013, Colbin y cols 2013).

También los AT se emplean en la cirugía herniaria realizada por abordaje laparoscópico. En estos procedimientos quirúrgicos las prótesis quedan en situación intraperitoneal. Los mecanismos de fijación de las mismas mediante *tackers*, dan lugar a complicaciones de adherencias, hematomas y atrapamiento nervioso, provocando un discomfort importante en el paciente durante el postoperatorio y también a largo plazo. En algunos casos incluso se llegan a producir complicaciones mayores generados por los mismos, tipo fístula intestinal. Una de las alternativas de fijación de los materiales protésicos en situación intraperitoneal es el uso de AT, bien naturales o sintéticos. Este área de utilización de adhesivos está siendo analizada en estudios prospectivos clínicos, aunque los resultados actuales todavía están en fase preliminar (Kukleta y cols. 2012).

Si bien los AT están siendo empleados en clínica, en todos estos procedimientos de cirugía herniaria, hay que mencionar que muchos de los AT tipo cianoacrilato utilizados en el momento actual, tienen propiedades relacionadas con la viscosidad, y el tiempo de polimerización no del todo idóneas o incluso desconocidas como sucede con la biodegradación de los mismos.

Por todo ello, uno de los objetivos en la investigación de los AT sintéticos es la mejora en algunas propiedades fundamentales de los mismos, como son el tiempo de polimerización, conseguir un mejor resultado mecánico tras la fijación de materiales protésicos y finalmente lograr que el AT sea biodegradable a lo largo del tiempo no dejando residuo en el tejido receptor.

El diseño de este estudio como ya hemos mencionado, ha contemplado la comparación entre dos CA, ambos de cadena larga, por tanto con una supuesta buena tolerancia por parte del tejido receptor, siendo uno de ellos (n-octilo) un adhesivo no comercial.

El modelo quirúrgico realizado comprende un uso intraperitoneal y otro extraperitoneal, empleando materiales protésicos utilizados convencionalmente en clínica humana.

En ambos modelos se han empleado dos AT y se han contrastado con dos fijaciones también convencionales. En el caso de la fijación intraperitoneal se han empleado *tackers* y en el caso de la fijación extraperitoneal una sutura de polipropileno.

El animal de experimentación seleccionado ha sido el conejo blanco Nueva Zelanda, con el que existe una buena experiencia por parte del grupo investigador. Este animal permite el estudio a nivel de la interfaz peritoneal de materiales protésicos de buenas dimensiones y en la vertiente extraperitoneal permite la simulación de defectos parietales que semejan o simulan un proceso herniario.

Los tiempos de estudio elegidos han sido 14 y 90 días. El primer tiempo nos da a conocer la reacción de respuesta aguda a los implantes fijados con los diferentes AT y el segundo tiempo nos orienta hacia la biocompatibilidad del adhesivo así como la evolución en el comportamiento mecánico de la fijación de las prótesis.

La fijación de material protésico tras reparación laparoscópica de defectos herniarios, especialmente hernias incisionales, sigue constituyendo un problema no

resuelto. Los métodos de fijación convencionales empleando suturas o bien *tackers* tienen un buen comportamiento mecánico pero generan complicaciones, de forma especial estos últimos, estando descritos cuadros de dolor abdominal por atrapamiento de terminaciones nerviosas (Eriksen y cols. 2009; Brüggwe y cols. 2012), obstrucción intestinal (Karahasanoglu y cols. 2004) e incluso fístula/perforación intestinal (Ladurner y cols. 2004; Peach y cols. 2008). Los AT tanto de origen biológico (fibrina) como sintético (CA), constituyen una alternativa a la fijación de los materiales en reparación herniaria, especialmente en hernioplastia realizada por cirugía abierta (Ying-Mo y cols. 2012; De Goede y cols. 2013).

La experiencia clínica en cirugía laparoscópica empleando AT biológicos ha dado buenos resultados en defectos herniarios pequeños (Olmi y cols. 2010). Sin embargo, el empleo de cianoacrilatos para el mismo fin es escasa, limitándose la misma a su utilización en procedimientos de reparación por vía preperitoneal (Jourdan y cols. 1998; Kükleta y cols. 2012).

El uso clínico de CA ha generado desconfianza especialmente en su empleo en la cavidad peritoneal. La dificultad de aplicación de los mismos en cirugía laparoscópica es obvia al tener que trabajar en una bóveda bajo el efecto de la gravedad y sin un control manual directo. Las propiedades del AT sintético en relación con la viscosidad (mayor o menor fluidez) y el tiempo de polimerización más ó menos rápido, son factores que influyen en el empleo de los mismos (Cuschieri 2001). En el momento de la aplicación, el AT puede sobrepasar los límites requeridos para la fijación y caer sobre las asas intestinales o sobre algún espacio de reflexión del peritoneo, pudiendo dar lugar a posibles efectos adversos.

Son bien conocidas las reacciones exotérmicas de los CA y la liberación de formaldehído en contacto con los tejidos (Quinn 2005; Leggat y cols. 2007).

Implante intraperitoneal

En este trabajo de investigación, hemos realizado la fijación intraperitoneal de una prótesis de PTFEe con *tackers* de la misma forma que se realiza en clínica y con los dos AT. En el diseño hemos considerado oportuno, realizar estudios puntuales sobre el comportamiento de los mismos de forma comparativa, con el fin de analizar aspectos acerca de su biocompatibilidad, degradación y resistencia mecánica. Además de los estudios pertinentes de integración tisular con microscopía óptica y de barrido, con el fin de evaluar la respuesta inflamatoria aguda y los posibles efectos de los AT sobre el peritoneo, se recogió líquido peritoneal en el momento de realizar los implantes (niveles basales) y a los 14 días de realizados los mismos. Fueron seleccionadas dos citoquinas (IL-6 y TNF- α) para estudio. De acuerdo con otros autores (Viallon y cols. 2000; Dziunycz y cols. 2009; Wicklewic y cols. 2013), estas dos citoquinas serían las más apropiadas para evaluar el efecto inflamatorio inducido por el AT en líquido peritoneal, ya que TNF- α es una citoquina proinflamatoria de relevancia en las fases iniciales de la reparación tisular y producida por la activación de macrófagos en el líquido peritoneal (Mori y cols. 1991), mientras que IL-6 es expresada por macrófagos durante el proceso inflamatorio (Hirano 1998).

Cuando se analizaron los resultados de la respuesta a las citoquinas, en todos los grupos, se observó un incremento en los niveles de IL-6 y TNF- α a los 14 días respecto a los niveles basales, aunque solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la expresión de IL-6 en el grupo de los *tackers*. La interpretación de la expresión de esta citocina puede estar en relación con el traumatismo tisular provocado por los *tackers*, respecto a la producida por los AT.

Entre los grupos de AT la IL-6 se incrementó, aunque las cifras a las dos semanas no mostraron diferencias estadísticamente significativas con relación a la cifra basal previa a los implantes. Este resultado obtenido con esta citoquina es similar al encontrado por otros autores en función de la severidad de la agresión (Mahnke y cols 2000) y podría traducir la buena tolerancia por parte del peritoneo al uso de los dos AT.

La determinación de TNF- α presentó un comportamiento similar a la IL-6, sin que se observaran diferencias significativas entre las cifras basales y las obtenidas tras el implante del material protésico. Ambas citoquinas han mostrado un comportamiento poco reactivo frente a los dos AT, lo cual es indicativo de que el proceso inflamatorio no está sobre-expresado tras el uso de los mismos. Esto podría atribuirse a la estructura de cadena larga de los dos CA, lo cual los haría menos reactivos en contacto con el tejido receptor. Por el contrario, la agresión tisular provocada por los “*tackers*” sí se reflejó en el incremento de IL-6.

Respecto a la integración tisular, cuando analizamos la integración tisular en los puntos en los que se aplicaban los AT, este permanecía aún visible a los 90 días. Como es obvio, en las zonas de contacto entre el material protésico y el AT no hay zona de integración. El depósito mesotelial sobre el PTFE fue similar tras la aplicación de ambos AT, observando a los 90 días la existencia de un neoperitoneo correcto. Este dato consideramos que es importante y coincide con lo referido por otros autores (Birch y cols. 2001), ya que es indicativo de que las células mesoteliales se expanden y proliferan adecuadamente en presencia de los cianoacrilatos.

En cuanto a la fijación con *tackers* a las dos semanas se aprecia una delgada cápsula de tejido conjuntivo compuesto predominantemente por colágeno III. El neoperitoneo está formado por una capa discontinua de células mesoteliales. A los tres meses, el tejido conjuntivo aparece más engrosado. El neoperitoneo es más homogéneo y forma una capa continua de morfología típica poligonal.

El recuento de macrófagos a los 14 días, fue mayor para el grupo de *n-octilo* respecto a los grupos de *tackers* e Ifabond®, aunque no se establecieron diferencias significativas entre los dos AT, sí que lo fueron cuando se compararon los grupos de *n-octilo* y *tackers*. A los 90 días post-implante, se observó un ligero incremento de las células marcadas respecto a 14 días, siendo este incremento significativo para Ifabond®. Aunque el número de células positivas fue menor en el grupo de los *tackers*, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos grupos a este

tiempo de estudio. De cualquier forma, estos últimos mostraron una menor reacción macrofágica que los AT.

Con relación a la prueba TUNEL para determinar la aparición de daño celular, se observó a los 14 días, una proporción de células marcadas similar en los dos grupos de AT. Ambos mostraron diferencias estadísticamente significativas frente a los *tackers*, los cuales mostraron valores más bajos. La interpretación de este resultado está relacionada con el menor daño celular producido por los *tackers*, a diferencia de los AT, que en este período de tiempo provocan tras su aplicación, reacciones exotérmicas y liberación de otros productos como formaldehído. A los 90 días, las células TUNEL positivas disminuyeron en los tres grupos de estudio. Al igual que a las dos semanas, el grupo de *tackers* fue el que mostró una menor cantidad de células marcadas, siendo estadísticamente significativo respecto a los AT. De estos, Ifabond® mostró diferencias significativas respecto a n-octilo.

Otros autores (Losi y cols. 2010) no encontraron células TUNEL positivas empleando un cianoacrilato tipo butilo.

Correlacionando la respuesta macrofágica y los datos obtenidos del recuento de células marcadas mediante la técnica TUNEL, Ifabond® mostró un comportamiento similar a 90 días. Esto podría sugerir que este AT es más reactivo que n-octilo. No obstante, es necesario ser cauteloso frente a estos resultados, dadas las características en cuanto a la viscosidad de Ifabond®, muy diferentes a las de n-octilo. Cuando se fija la prótesis de PTFEe en la vertiente peritoneal es difícil controlar la cantidad de adhesivo empleado para la fijación. Obviamente cuando el adhesivo es poco viscoso la cantidad empleada para la fijación puede ser mayor que la del otro adhesivo con mayor grado de viscosidad. Aunque la cantidad empleada sea igual en volumen, una menor viscosidad del adhesivo, puede condicionar los resultados comparativos en cuanto a respuesta macrofágica y el daño celular. Los valores obtenidos podrían variar e incrementarse en el caso del adhesivo menos viscoso (Bellón y cols. 2015).

Si se analiza de forma conjunta la respuesta macrofágica y el daño celular, el medio de fijación mejor tolerado y más inerte han sido los *tackers*, aunque es el más traumático desde el punto de vista de respuesta a citoquinas.

Al analizar la resistencia mecánica, a las dos semanas de estudio, Ifabond® mostró de forma significativa una resistencia a la tracción superior a n-octilo y no mostró diferencias estadísticamente significativas respecto a los *tackers*. A los 90 días, los *tackers* mostraron diferencias significativas de resistencia a la tracción respecto a los dos AT.

No hay correlación entre este resultado y la integración de ambos AT, aunque la superficie peritoneal en la cual se apoya el material es lisa y ello podría influir finalmente sobre los resultados mecánicos obtenidos. Posiblemente el grado de viscosidad del AT (menor en el n-octilo) y mayor en el Ifabond® pueda tener una influencia directa sobre la resistencia mecánica final obtenida. La menor viscosidad de este último permite que la difusión del pegamento se realice sobre una mayor superficie, siendo por tanto la superficie de adhesión mayor que la que puede encontrarse con n-octilo que es algo más viscoso y por tanto, con una superficie de adhesión mas limitada.

En otros estudios y con un modelo similar de implante intraperitoneal (Birch y cols. 2001; Ladurner y cols. 2008; Losi y cols. 2011; Ladurner y cols. 2011), la resistencia mecánica fue menor para AT sintéticos respecto a otros medios de fijación (suturas ó *tackers*). En este sentido la propuesta de algunos autores (Ladurner y cols. 2008) en cuanto a utilizar un método de fijación mixto (suturas versus *tackers* y AT) sería una buena alternativa con el fin de lograr una buena fijación mecánica del material protésico, disminuyendo el número de suturas ó *tackers* a emplear (Ladurner y cols. 2011).

El presente estudio tiene las limitaciones de todo trabajo experimental, aunque el ensayo en la especie animal utilizada (conejo) ha demostrado la relativa buena tolerancia de los cianoacrilatos ensayados en una interfaz tan compleja como es la peritoneal.

En resumen, en los implantes intraperitoneales de PTFEe, de los dos AT empleados en la vertiente peritoneal, Ifabond® fue más reactivo que n-octilo en cuanto a

respuesta macrofágica y la presencia de daño celular, aunque son resultados a valorar dadas las diferentes viscosidades de ambos AT. El medio de fijación más inerte y mejor tolerado atendiendo a estos parámetros fueron los *tackers*. Desde el punto de vista mecánico los *tackers* fueron más efectivos que los AT. De estos Ifabond® mostró los mejores resultados de resistencia mecánica. Estos resultados requieren una valoración crítica debido a que los dos AT tienen viscosidades diferentes y por ello el control del adhesivo depositado para conseguir la fijación de la prótesis puede variar, no cuantitativamente, pero sí en la superficie que ocupa el adhesivo en contacto con el material protésico.

Implante extraperitoneal

Con relación a los resultados de los implantes extraperitoneales, tanto los dos AT como las suturas promovieron una buena fijación parietal de la prótesis de polipropileno sin observar desplazamientos o desinserciones de la misma. Se evidenció la presencia de seroma tanto en los implantes realizados con AT como en aquellos que fueron fijados con la sutura. La incidencia de los mismos fue mínima y no interfirió con el proceso de integración tisular del biomaterial. El seroma es una reacción después del implante de materiales en reparación herniaria más frecuente, cuando el implante es de prótesis laminares. Otros autores (Losi y cols. 2010) no observan presencia de seroma en implantes fijados con un adhesivo compuesto de n-butilo.

A nivel de la integración tisular los implantes fijados con suturas mostraron una buena integración tisular tanto a 14 como a 90 días. El colágeno III predominó en los primeros estadios, existiendo una buena angiogénesis en el tejido de nueva formación.

En los implantes fijados con AT la integración se produjo coincidiendo con otros autores (Fortenly y cols. 2007) en las zonas de la prótesis libres de AT. A los 90 días aunque parecía existir un pequeño adelgazamiento en la zona del adhesivo, no hubo zonas de absorción ni penetración de células en los lugares donde se ubicaba el mismo. Estos datos también han sido recogidos por otros autores (Fortenly y cols. 2007), los cuales tampoco observan biodegradación alguna del adhesivo.

La respuesta macrofágica a los 14 días fue mayor para Ifabond® respecto a las suturas y al n-octilo. A los 90 días hubo un incremento de la respuesta macrofágica en los dos AT respecto a las suturas. Existieron diferencias estadísticamente significativas con relación a los 14 días, de modo que la persistente presencia de los AT, mantiene la reacción de cuerpo extraño en el tejido receptor. Este hecho es referido por otros autores (Losi y cols. 2010; Dilege y cols. 2011), aunque ninguno de ellos realiza cuantificación de estas células y solamente mencionan la existencia de macrófagos en los márgenes del adhesivo. Las suturas, tanto a 14 como a 90 días, presentaron una reacción macrofagica similar.

El daño celular a 14 días fue mayor para n-octilo siendo esta diferencia significativa respecto a las suturas. A los 90 días el porcentaje de células TUNEL positivas disminuyó de forma significativa tanto para los AT como para el grupo de fijación con sutura. Otros autores (Losi y cols. 2010) no encuentran signos de daño celular empleando una técnica similar.

En cuanto a la resistencia mecánica, la fuerza tensil no mostró diferencias entre la fijación con suturas y los diferentes AT, tanto a 14 como a 90 días. Se observó un incremento de la resistencia a la tracción entre 14 y 90 para las suturas y los AT que fue significativo desde el punto de vista estadístico. Este incremento depende en parte obviamente, de la propia integración de la prótesis al tejido receptor. Podríamos decir que la adhesión inicial realizada por los AT sirve como inicio a la integración tisular de la prótesis y, posteriormente, el propio proceso del material protésico hace que la resistencia se incremente de forma significativa a lo largo del tiempo.

Estos resultados, al igual que sucede en los implantes efectuados en la vertiente intraperitoneal, deben de ser tomados con cautela. Aunque los dos AT son de cadena larga y por tanto su biotolerancia buena, hay un parámetro diferente entre ambos, que puede modular alguno de los datos obtenidos. Este parámetro, en nuestra opinión, es la viscosidad del adhesivo. Ambos adhesivos han mostrado una viscosidad diferente, siendo más viscoso el n-octilo. La menor viscosidad de Ifabond® puede explicar alguno de los comportamientos de este adhesivo tanto en la fijación intra como extraperitoneal. De esta

forma la sobreexpresión de macrófagos a 90 días en la vertiente intraperitoneal de este adhesivo, así como la misma a 14 días en la vertiente extraperitoneal podrían ser debidas a ese parámetro de viscosidad. En el momento de la aplicación es difícil controlar no sólo el volumen incluido en el aplicador, sino también la extensión que va a ocupar en la superficie del tejido (Bellón y cols. 2015).

De cualquier forma, el comportamiento en la vertiente extraperitoneal consideramos que ha sido bueno, especialmente desde el punto de vista mecánico en donde la resistencia a la tracción en el ensayo uniaxial practicado, no mostró diferencias entre las suturas y los dos AT. Este resultado confirma la utilidad de estos AT frente a las suturas en el caso de la reparación herniaria con material protésico en vertientes extraperitoneales.

6. CONCLUSIONES.

De los resultados obtenidos y respondiendo a las preguntas de hipótesis planteadas en este trabajo de TESIS, podemos establecer las siguientes conclusiones:

Implantes intraperitoneales

- a) La respuesta medida en líquido peritoneal de IL-6 y TNF- α fue similar en ambos cianoacrilatos. La fijación con *tackers* mostró una sobreexpresión de IL-6.
- b) La reacción macrofágica así como el porcentaje de daño celular a los 90 días de estudio fue superior en Ifabond® respecto a n-octilo y *tackers*.
- c) Aunque la integración tisular tanto a 14 como a 90 días fue similar para ambos cianoacrilatos, la resistencia mecánica fue significativamente superior en Ifabond®. La fijación con *tackers* mostró una resistencia mecánica superior respecto a los dos AT a los 90 días.

Implantes extraperitoneales

- a) La presencia de macrófagos y el porcentaje de daño celular, fue menor cuando la fijación del material protésico se realizó con la sutura respecto a los dos cianoacrilatos.
- b) Ambos cianoacrilatos han mostrado una resistencia mecánica similar, sin diferencias estadísticamente significativas respecto a la fijación con material de sutura, lo cual los hace válidos como medio de fijación del material protésico en una interfaz extraperitoneal.

En ambas interfaces, intra y extraperitoneal, no se observaron signos de degradación en ninguno de los dos cianoacrilatos estudiados.

7. BIBLIOGRAFÍA.

Agresta F, Bedin N. Transabdominal laparoscopic inguinal hernia repair: is there a place for biological mesh? *Hernia*. 2008; 12: 609–612.

Agresta F, Mazzarolo G, Balbi P, Bedin N. Inguinal-scrotal hernias in young patients: is laparoscopic repair a possible answer? Preliminary results of a single-institution experience with a transabdominal preperitoneal approach. *Hernia*. 2010; 14:471–475.

Alfieri S, Di Miceli D, Pericoli M, Ridolfini F, Rotondi A, Di Giorgio G B. Occlusione del dotto pancreatico dopo duodenocefalopancreasectomia. *Doglietto Osp Ital Chir*. 2006;12:1.

Bachet J, Gigou F, Laurian C, Bical O, Goudot B, Guilmet D. Four year clinical experience with the gelatin-resorcine-formol biological glue in aortic dissection. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1982;83:212-217.

Bachet J, Goudot B, Teodori G, Brodaty D, Dubois C, De Lentdecker P, Guilmet D. Surgery of type A acute aortic dissection with gelatine-resorcine-formol biological glue: a twelve-year experience. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 1990;31:263-273.

Bachet J, Goudot B, Dreyfus G, Banfi C, Ayle NA, Aota M, Brodaty D, Dubois C, Delentdecker P, Guilmet D. The proper use of glue: a 20 year experience with the GRF glue in aortic dissection. *J Card Surg* 1997; 12:243-255.

Bae JH, Kim GC, Ryeom HK, Jang YJ. Percutaneous embolization of persistent biliary and enteric fistulas with Histoacryl. *J Vasc Interv Radiol*. 2011;22:879–883.

Barto W. Randomized study of the effectiveness of closing laparoscopic trocar wounds with octylcyanoacrylate, adhesive papertape or poliglecaprone. *Br J Surg*. 2002;89:1370–1375.

Battaglia G, Morbin T, Patarnello E, Carta A, Coppa F, Ancona A. Diagnostic et traitement endoscopique des varices gastriques. *Acta Endoscopica*. 1999;29:97–107.

Baxter Healthcare Corp. Tisseel VH package insert. Glendale, CA: Baxter Healthcare; 2002.

Bayfield MS, Spotnitz WD. Fibrin sealant in thoracic surgery. Pulmonary applications, including management of bronchopleural fistula. *Chest Surg Clin N Am* 1996;6:576-583.

Belletrutti PJ, Romagnuolo J, Hilsden RJ, Chen F, Kaplan B, Love J, Beck PL. Endoscopic management of gastric varices: efficacy and outcomes of gluing with N-butyl-2-cyanoacrylate in a North American patient population. *Can J Gastroenterol*. 2008;22:931–936.

Bellón JM, Fernández-Gutiérrez M, Rodríguez M, Sotomayor S, Pérez-Khóler B, Kuhnhardt A, Pascual G, San Román J. Bioassay of cyanoacrylate tissue adhesives used for intraperitoneal mesh fixation. *J Biomed Mat Res (Applied Biomat)* 2015, (*in press*).

Benizri EI, Rahili A, Avallone S, Balestro JC, Cai J, Benchimol D. Open inguinal hernia repair by plug and patch: the value of fibrin sealant fixation. *Hernia*. 2006;10:389–394.

Bergel S. Uber Wirkungen des Fibrins. *Dtsch Med Wochenschr* 1909;35:633.

Berney CR, Yeo AE. Mesh fixation with fibrin sealant during endoscopic totally extraperitoneal inguinal hernia approach: a review of 640 repairs. *Hernia*. 2013; 17:709-717.

Birch DW, Park A. Octylcyanoacrylate tissue adhesive as an alternative of mechanical fixation of expanded polytetrafluoroethylene prosthesis. *Am Surg* 2001; 67: 974-978.

Bittner R, Gmahle E, Gmahle B, Schwarz J, Aasvang E, Kehlet H. Lightweight mesh and noninvasive fixation: an effective concept for prevention of chronic pain with laparoscopic hernia repair (TAPP). *Surg Endosc*. 2010; 24:2958–2964.

Borley NR, Mortensen NJ. Topical adhesive as a wound dressing for elective abdominal surgery. *Ann R Coll Surg Engl.* 2001;83:285–286.

Bracale U, Rovani M, Picardo A, Merola G, Pignata G, Sodo M, Di Salvo E, Ratto EL, Noceti A, Melillo P, Pecchia L. Beneficial effects of fibrin glue (Quixil) versus Lichtenstein conventional technique in inguinal hernia repair: a randomized clinical trial. *Hernia.* 2014; 18:185-192.

Braunwald NS, Tatooles CJ. Use of a cross linked gelatin tissue adhesive to control hemorrhage from liver and kidney. *Surg Forum* 1965;1 6:345-346.

Braunwald NS, Gay W, Tatooles CJ. Evaluation of crosslinked gelatin as a tissue adhesive and hemostatic agent: an experimental study. *Surgery* 1966;59:1024-1030.

Brügger L, Bloesch M, Ipakchi R, Kurmann A, Candinas D, Beldi G. Objective hypoesthesia and pain after transabdominal preperitoneal hernioplasty: a prospective, randomized study comparing tissue adhesive versus spiral tacks. *Surg Endosc* 2012; 26: 1079-1083.

Buckenham T, McKewen M, Laing A, Roake J, Lewis D, Gordon MK. Cyanoacrylate embolization of endoleaks after abdominal aortic aneurysm repair. *ANZ J Surg.* 2009;79:841–843.

Byrne DJ, Hardy J, Wood RA, McIntosh R, Hopwood D, Cuschieri A. Adverse influence of fibrin sealant on the healing of high-risk sutured colonic anastomoses. *J R Coll SurgEdinb.* 1992;37:394-398.

Cambal M, Zonca P, Hrbaty B. Comparison of self-gripping mesh with mesh fixation with fibrin-glue in laparoscopic hernia repair (TAPP). *Bratisl Lek Listy.* 2012;113:1037.

Campanelli G, Hidalgo M, Hoeflerlin A, Rosenberg J, Champault G. Randomized controlled trial of Tisseel for mesh fixation in patients undergoing Lichtenstein technique for inguinal hernia repair: the TIMELI trial. *Hernia*. 2009; 13:S10–S11.

Campanelli G, Pascual MH, Hoeflerlin A, Rosenberg J, Champault G, Kingsnorth A, Miserez M. Randomized, controlled, blinded trial of Tisseel/Tissucol for mesh fixation in patients undergoing Lichtenstein technique for primary inguinal hernia repair: results of the TIMELI trial. *Ann Surg*. 2012; 255:650-657. A

Campanelli G, Sfeclan C, Cavalli M, Biondi A. Reducing postoperative pain: the use of Tisseel for mesh fixation in inguinal hernia repair. *Surg Technol Int*. 2012; 22:134-139. B

Campanelli G, Pascual MH, Hoeflerlin A, Rosenberg J, Champault G, Kingsnorth A, Bagot d'Arc M, Miserez M. Post-operative benefits of Tisseel(®)/Tissucol (®) for mesh fixation in patients undergoing Lichtenstein inguinal hernia repair: secondary results from the TIMELI trial. *Hernia*. 2014; 18:751-760.

Canonico S, Pacifico F, Santoriello A. La prevenzione delle complicanze emocoagulative nella chirurgia protésica delle ernie inguinali. *Chirurgia* 1995; 8: 89-92.

Canonico S, Sciaudone G, Pacifico F, Santoriello A. Inguinal hernia repair in patients with coagulation problems: prevention of postoperative bleeding with human fibrin glue. *Surgery*. 1999; 125:315–317.

Canonico S, Santoriello A, Campitiello F, Fattopace A, Corte AD, Sordelli I, Benevento R. Mesh fixation with human fibrin glue (Tissucol) in open tension-free inguinal hernia repair: a preliminary report. *Hernia*. 2005; 330–333.

Canonico S, Benevento R, la Corte A, Fattopace A, Canonico R. Sutureless tension-free hernia repair with human fibrin glue (Tissucol) in soccer players with chronic inguinal pain: initial experience. *Int J Sports Med*. 2007; 28:873–876.

Cantademir M, Adaletli I, Cebi D, Kantarci F, Selcuk ND, Numan F. Emergency endovascular embolization of traumatic intrarenal arterial pseudoaneurysms with N-butyl cyanoacrylate. *Clin Radiol.* 2003;58:560–565.

Canziani M, Frattini F, Cavalli M, Agrusti S, Somalvico F, Campanelli G. Sutureless mesh fibrin glue incisional hernia repair. *Hernia.* 2009; 13:625–629.

Capaldi M, Alessandroni L, Barreca M, Campanelli A, De Siena T, Ricci G, Sorgi G. Trattamento del moncone pancreatico residuo con cianoacrilato dopo duodeno-cefalopancreasectomia. *Osp Ital Chir.* 2006;12:1.

Ceccarelli G, Casciola L, Pisanelli MC, Bartoli A, Di Zitti L, Spaziani A, Biancafarina A, Stefanoni M, Patriti A. Comparing fibrin sealant with staples for mesh fixation in laparoscopic transabdominal hernia repair: a case control-study. *Surg Endosc.* 2008; 22:668–673.

Chan MS, Teoh AY, Chan KW, Tang YC, Ng EK, Leong HT. Randomized double-blinded prospective trial of fibrin sealant spray versus mechanical stapling in laparoscopic total extraperitoneal hernioplasty. *Ann Surg.* 2014; 259: 432-437.

Chandra J, Anthony S, Uberoi R. Embolization of the internal iliac artery with Glubran 2 acrylic glue: initial experience with an adjunctive outflow occlusive agent. *J Vasc Interv Radiol.* 2010;21:1109–1114.

Chao HH, Torchiana DF. BioGlue: albumin/glutaraldehyde sealant in cardiac surgery. *J Card Surg* 2003;18:500-503.

Cheng LF, Wang ZQ, Li CZ, Cai FCh, Huang QY, Linghu EG, Li W, et al. Treatment of gastric varices by endoscopic sclerotherapy using butyl cyanoacrylate: 10 years' experience of 635 cases. *Chin Med J.* 2007;120:2081–2085.

Chevrel JP, Rathi SS. The use of fibrin glues in the surgical treatment of incisional hernias. *Hernia*. 1997; 1:9–14.

Chu CC, von Fraunhofer JA, Greisler HP. *Wound closure biomaterials and devices*. New York: CRC Press, Inc.; 1997.

Colvin HS, Rao A, Cavali M, Campanelli G, Amin AI. Glue versus suture fixation of mesh during open repair of inguinal hernias: A systematic review and meta-analysis. *World J Surg* 2013; 37: 2262-2292.

Coover. HW Jr, Joyner FB, Shearer NH, Wicker TH. Chemistry and performance of cyanoacrylate adhesives. *Soc Plast Eng J* 1959;15:413-417.

Cronkite EP, Lozner EL, Deaver J. Use of thrombin and fibrinogen in skin grafting. *JAMA* 1944; 124:976-978.

Cuschieri A. Tissue adhesives in endosurgery. *Semin Laparosc Surg*. 2001;8:63–68.

Damiano G, Gioviale MC, Palumbo VD, Spinelli G, Buscemi S, Ficarella S, Bruno A, Tomasello G, Lo Monte AI. Human fibrin glue sealing versus suture polypropylene fixation in Lichtenstein inguinal herniorrhaphy: a prospective observational study. *Chirurgia (Bucur)*. 2014; 109: 660-663.

De Goede B, Klitsie PJ, Van Kempem BJH, Timmermans L, Jeeckel J, Kazemier G, Lange F. Meta-analysis of glue versus sutured mesh fixation for Lichtenstein inguinal hernia repair. *Br J Surg* 2013; 100 : 735-742.

Descottes B, Bagot d'Arc M. Fibrin sealant in inguinal hernioplasty: an observational multicentre study in 1,201 patients. *Hernia*. 2009; 13:505–510.

Detweiler MB, Verbo A, Kobos JW, et al. A sliding, absorbable, reinforced ring and an axially driven stent placement device for sutureless fibrin glue gastrointestinal anastomosis. *J Invest Surg.* 1996;9:495-504.

Dilege E, Deveci U, Dinçag A, Ozarmagan S, Mercan S, Barbaros U. N-butyl cyanoacrylate versus conventional suturing for fixation of meshes in an incisional hernia model. *J Invest Surg.* 2010; 23: 262-266.

Dowson CC, Gilliam AD, Speake WJ, Lobo DN, Beckingham IJ. A prospective, randomized controlled trial comparing n-butyl cyanoacrylate tissue adhesive (LiquiBand) with sutures for skin closure after laparoscopic general surgical procedures. *Surg Endosc Laparosc Percutaneous Tech.* 2006;16:146–150.

Drury AE, Grundy A. Management of oesophageal fistula by radiologically-guided instillation of tissue adhesive. *Clin Radiol.* 1995;50:335–337.

Dziunycz P, Milewski L, Radomski D, Barcz E, Kaminski P, Roszkowski PI, Malejczyk J. Elevated ghrelin levels in the peritoneal fluid of patients with endometriosis: associations with vascular endothelial growth factor (VEGF) and inflammatory cytokines. *Fertility Sterility.* 2009; 92: 1844-1849.

Eldabe A, Palomo-Luquero A, Reoyo JF, Seco JL. Fijación del material protésico en la hernioplastia inguinal abierta: sutura vs cola sintética. *Cir Esp.* 2012; 90: 442-452.

Eriksen JR, Bisgaard T, Assaadzadeh S, Jorgensen LN, Rosenberg J. Randomized clinical trial of fibrin sealant versus titanium tacks for mesh fixation in laparoscopic umbilical hernia repair. *Br J Surg.* 2011; 98:1537–1545.

Eriksen JR, Poornorozy P, Jorgensen LN, Jacobsen B, Friis-Andersen HU, Rosenberg J. Pain, quality of life and recovery after laparoscopic ventral hernia repair. *Hernia.* 2009; 13: 13-21.

Eriksen JR, Bisgaard T, Assaadzadeh S, Jorgensen LN, Rosenberg J. Fibrin sealant for mesh fixation in laparoscopic umbilical hernia repair: 1-year results of a randomized controlled double-blinded study. *Hernia*. 2013; 17: 511-514.

Esposito C. L'utilisation d'une Nouvelle Colle Chirurgicale en Chirurgie Laparoscopique: quels avantages? *J Coel Chirur*. 1997;23:66–68.

Esposito C, Damiano R, Settimi A, De Marco M, Maglio P, Centone A. Experience with the use of tissue adhesives in pediatric endoscopy surgery. *Surg Endosc*. 2004;18:290–292.

Farouk R, Drew PJ, Qureshi A, Roberts AC, Duthie GS, Monson JRT. Preliminary experience with butyl-2-cyanoacrylate adhesive in tension-free inguinal hernia repair. *Br J Surg*. 1996; 83: 1100.

Ferlise VJ, Ankem MK, Barone JG. Use of cyanoacrylate tissue adhesive under a diaper. *BJU Int*. 2001;87:672–673.

Fernandez Lobato R, Garcia Septiem J, Ortega Deballon P, Marin Lucas FJ, Ruiz de Adana JC, Limones Esteban M. Tissucol application in dermolipectomy and incisional hernia repair. *Int Surg*. 2001; 86:240–245.

Ferrarese A, Marola S, Surace A, Borello A, Bindi M, Cumbo J, Solej M, Enrico S, Nano M, Martino V1. Fibrin glue versus stapler fixation in laparoscopic transabdominal inguinal hernia repair: a single center 5-year experience and analysis of the results in the elderly. *Int J Surg*. 2014;12 Suppl 2:S94-98.

Fine AP. Laparoscopic repair of inguinal hernia using Surgisis mesh and fibrin sealant. *JSLs*. 2006; 10:461–465.

Fortelny RH, Petter-Puchner AH, Walder N, Mittermayr R, Öhlinger W, Heinze A, Redl H. Cyanoacrylate tissue sealant impairs tissue integration of macroporous mesh in experimental hernia repair. *Surg Endosc* 2007; 21: 1781-1785.

Fortelny RH, Schwab R, Glaser KS, Puchner KU, May C, König F, Redl H, Petter-Puchner AH. The assessment of quality of life in a trial on lightweight mesh fixation with fibrin sealant in transabdominal preperitoneal hernia repair. *Hernia*. 2008; 12:499–505.

Fortelny RH, Petter-Puchner AH, May C, Jaksch W, Benesch T, Khakpour Z, Redl H, Glaser KS. The impact of atraumatic fibrin sealant vs. staple mesh fixation in TAPP hernia repair on chronic pain and quality of life: results of a randomized controlled study. *Surg Endosc*. 2012; 26:249–254.

Fortelny RH, Petter-Puchner AH, Redl H, May C, Pospischil W, Glaser K. Assessment of Pain and Quality of Life in Lichtenstein Hernia Repair Using a New Monofilament PTFE Mesh: Comparison of Suture vs. Fibrin-Sealant Mesh Fixation. *Front Surg*. 2014; 1:45.

Galperine T, Flateau C, Venon MD, Lescure FX, Béraud G, Said Ibrahim T, Delisle F, Durand F, Faure K, Pialoux G, Guery B. Recurrent bacteremia: a complication of cyanoacrylate injection for variceal bleeding: report of two cases and review of the literature. *Case Rep Med* 2009;2009:1–3.

García Cerdá D, Ballester AM, Aliena-Valero A, Carabén-Redaño A, Lloris JM. Use of cyanoacrylate adhesives in general surgery. *Surg Today* 2015; 45:939-956.

George TK, Simpson DC. Skin wound closure with staples in the accident and emergency department. *J R Coll Surg Edinb* 1985;30:54-56.

Gestring GF, Lerner R. Autologous fibrin for tissue-adhesion, hemostasis, and embolization. *Vase Surg* 1983; 17:294-304.

Glickman M, Gheissari A, Money S, Martin J, Ballard JL. A polymeric sealant inhibits anastomotic suture hole bleeding more rapidly than Gelfoam/thrombin: results of a randomized controlled trial. *Arch Surg* 2002; 137:326-331.

Gorlitzer M, Mertikian G, Trnka H, Froeschl A, Meinhart J, Weiss G, Grabenwoeger M, Rand T. Translumbar treatment of type II endoleaks after endovascular repair of abdominal aortic aneurysm. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2008;7:781–784.

Grey EG. Fibrin as a haemostatic in cerebral surgery. *Surg Gynecol Obstet* 1915;21:452-454.

Heiss WH. The use of synthetic polymeric materials as suture substitutes and their place in pediatric surgery. *Prog Pediatr Surg* 1970; 77: 943-952.

Helbling Ch, Schlumpf R. Sutureless Lichtenstein: first results of a prospective randomised clinical trial. *Hernia* 2003; 7: 80-84.

Henderson AM, Stephenson M. 3-Methoxybutylcyanoacrylate tissue adhesives. En: Quinn JV. *Tissue adhesives in clinical medicine*. 2ª Ed. Ontario BC. Decker pp 1-13.

Hidalgo M, Castillo MJ, Eymar JL, Hidalgo A. Lichtenstein inguinal hernioplasty: sutures versus glue. *Hernia*. 2005; 9:242–244.

Hirano T. Interleukin 6 and its receptor : Ten years later. *Int Rev Immunol* 1998; 16: 249-284.

Huh JW, Kim HR, Kim YJ. Anastomotic leakage after laparoscopic resection of rectal cancer: the impact of fibrin glue. *Am J Surg*. 2010;199:435-441.

Ishikawa M, Kakizawa H, Yamasaki W, Date S, Hieda M, Kajiwara K, Awai K. Recanalization after successful occlusion by transcatheter arterial embolization with N-

butyl cyanoacrylate for traumatic splenic artery injury. *Hiroshima J Med Sci.* 2011;60:87–90.

Jackson M, MacPhee M, Drohan W, Alving B. Fibrin sealant: current and potential clinical applications. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996;7:737-746.

Jaibaji M. Topical adhesive as a wound dressing for elective abdominal surgery. *Ann R Coll Surg Engl.* 2002;84:221.

Jallali N, Haji A, Watson CJ. A prospective randomized trial comparing 2-octyl cyanoacrylate to conventional suturing in closure of laparoscopic cholecystectomy incisions. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2004;14:209–211.

Johnson A, Rodeheaver GT, Durand LS, Edgerton MT, Edlich RF. Automatic disposable stapling devices for wound closure. *Ann Emerg Med* 1981;10:631-635.

Jourdan IC, Bailey ME. Initial experience with the use of N-butyl-2-cyanoacrylate glue for the fixation of polypropylene mesh in laparoscopic hernia repair. *Surg Laparosc Endosc* 1998; 8: 291-293.

Karahasanoglu T, Onur E, Baca B, Hamzaoglu I, Pekmezci S, Boler DE, Kilic C, Allug T. Spiral tacks may contribute to intra-abdominal adhesion formation. *Surg Today* 2004; 34: 860-864.

Khaleal F, Berney C. The role of fibrin glue in decreasing chronic pain in laparoscopic totally extraperitoneal (TEP) inguinal hernia repair: a single surgeon's experience. *ANZ J Surg.* 2011; 81:154–158.

Kim BS, Do HM, Razavi M. N-Butyl cyanoacrylate glue embolization of splenic arteryaneurysms. *J Vasc Interv Radiol.* 2004;15:91–94.

Kim-Fuchs C, Angst E, Vorbürger S, Helbing C, Candinas D, Schlumpf R. Prospective randomized trial comparing sutured with sutureless mesh fixation for Lichtenstein hernia repair: long-term results. *Hernia* 2012; 16: 21-27.

Kingsnorth AN, Shahid MK, Valiattu AJ, Hadden RA, Porter CS. Open onlay mesh repair for major abdominal wall hernias with selective use of components separation and fibrin sealant. *World J Surg.* 2008; 32:26–30.

Krawtsov IA, Belykh SI, Derkach GM. Plastic surgery of the anterior abdominal wall in children using synthetic resolving materials. *Khirurgia* 1995; 4: 16-19.

Kükleta JF; Freytag C, Weber M. Efficiency and safety of mesh fixation in laparoscopic inguinal hernia repair using n-butyl cyanoacrylate: long-term biocompatibility in over 1300 mesh fixations. *Hernia* 2012; 16: 153-162.

Kull S, Eng M, Martinelli I, Briganti E, Losi P, Spiller D, Tonlorenzi S, Soldani G. Glubran 2 surgical glue: in vitro evaluation of adhesive and mechanical properties. *J Surg Res* 2009; 157: e15- e21.

Labas P, Ohrádka B, Cambal M, Fillo J. Pancreatic duct occlusion with acrylic glue. *Przegl Lek.* 2003;60:789–791.

Labori KJ, Trondsen E, Buanes T, Hauge T. Endoscopic sealing of pancreatic fistulas: four case reports and review of the literature. *Scand J Gastroenterol.* 2009;44:1491–1496.

Ladurner R, Mussack T. Small bowel perforation due to protruding spiral tackers: a rare complication in laparoscopic incisional hernia repair. *Surg Endosc* 2004;18:1001.

Ladurner R, Drosse I, Seitz S, Plitz W, Barbaryka G, Siebeck M, Bürklein D, Kirchhoff C, Buuhman S, Mutschler W, Schieker M, Mussack T. Tissue Attachment strength and adhesion formation of intraabdominal fixed meshes with cyanoacrylat glues. *Eur J Med Res* 2008; 13: 1-7.

Ladurner R, Drosse I, Bürklein D, Plitz W, Barbaryka G, Kirchhoff Ch, Kirchhoff S, Mutschler W, Schieker M, Mussack T. Cyanoacrylate glue for intra-abdominal mesh fixation of polypropylene-polyvinylidene fluoride meshes in a rabbit model. *J Surg Res* 2011; 167: e157-e162.

Ladurner R, Drosee I, Chiapponi C, Bürklein D, Jansson W, Kokott A, Hoffman B, Ziegler G, Mustchler W, Mussack T, Schieker M. *Surg Endosc* 2013; 27: 1991-1996.

Ladwa N, Sajid MS, Sains P, Baig MK. Suture mesh fixation vesus glue mesh fixation in open inguinal hernia repair: A systematic review and meta-analysis. *Int J Surg* 2013; 11: 128-135.

Laganà D, Carrafiello G, Mangini M, Fontana F, Dizonno M, Castelli P, Fugazzola C. Endovascular treatment of splenic artery aneurysms. *Radiol Med*. 2005;110:77–87.

Leggat PA, Smith DR, Kedyarune U. Surgical applications of cyanoacrylate adhesives: a review of toxicity. *Anz J Surg* 2007; 77: 209-213.

Lau H. Fibrin sealant versus mechanical stapling for mesh fixation during endoscopic extraperitoneal inguinal hernioplasty: a randomized prospective trial. *Ann Surg*. 2005; 242:670–675.

Liu CD, Glantz GJ, Livingston EH. Fibrin glue as a sealant for high-risk anastomosis in surgery for morbid obesity. *Obes Surg*. 2003;13:45-48.

Losi P, Burchielli S, Spiller D, Finotti V, Kull S, Briganti E, Soldani G. Cyanoacrylate surgical glue as an alterantive to suture threads for mesh fixation in hernia repair. *J Surg Res* 2010; 163: e53-e 58.

Lovisetto F, Zonta S, Rota E, Mazzilli M, Bardone M, Bottero L, Faillace G, Longoni M. Use of human fibrin glue (Tissucol) versus staples for mesh fixation in laparoscopic

transabdominal preperitoneal hernioplasty: a prospective, randomized study. *Ann Surg.* 2007; 245:222–231.

Lumsden AB. Prospective randomized study evaluating an absorbable cyanoacrylate for use in vascular reconstruction. *J Vasc Surg* 2006; 44: 1002-1009.

Maartense S, Bemelman WA, Dunker MS, De Lint C, Pierik EGJM, Busch ORC, Gouma DJ. Randomized study of the effectiveness of closing laparoscopic trocar wounds with octylcyanoacrylate, adhesive papertape or poliglecaprone. *Br J Surg.* 2002;89:1370–1375.

Mahnke JL, Dewood MY, Huang JCh. Vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertility Sterility* 2000; 73: 166-170.

Mahadeva S, Bellamy MC, Kessel D, Davies MH, Millson CE. Cost-effectiveness of N-butyl-2-cyanoacrylate (histoacryl) glue injections versus transjugular intrahepatic portosystemic shunt in the management of acute gastric variceal bleeding. *Am J Gastroenterol.* 2003;98:2688–2693.

Maruyama H, Okabe S, Ishihara T, Tsuyuguchi T, Yoshikawa M, Matsutani S, Yokosuka O. Long-term effect of endoscopic injection therapy with combined cyanoacrylate and ethanol for gastric fundal varices in relation to portal hemodynamics. *Abdom Imaging.* 2010;35:8–14.

Matras H, Dinges HP, Lassmann H, Mamoli B. Zur nachtlosen Interfaszikularen Nerventransplantation im Tierexperiment. *Wien Med Wochenschr.* 1972;122:517-523.

Matsumoto T, Hardaway RM 3rd, Heisterkamp CA 3rd, Pani KC, Leonard F. Higher homologous cyanoacrylate tissue adhesives in surgery of internal organs. *Arch Surg* 1967;94:861-864. A

Matsumoto T, Pani KC, Hardaway RM, Leonard F. n-Alkyl-alpha-cyanoacrylate monomers in surgery. Speed of polymerization and method of their application. Arch Surg 1967;94:153-156. B

Mitolo CI, Vincenti L, Stabile-Ianora AA, Prete F. Total cyst excision by laparoscopic splenic resection. Surg Endosc 2001;15:219.

Miyano G, Yamataka A, Kato Y, Tei E, Lane GJ, Kobayashi H, Sueyoshi N, Miyano T. Laparoscopic injection of dermabond tissue adhesive for the repair of inguinal hernia: short-and long-term follow-up. J Pediatric Surg 2004; 39: 1867-1870.

Moreno-Egea A. ¿Es segura la hernioplastia sin sutura como opción para tratar las hernias de la pared abdominal?. Estudio prospectivo con un adhesivo tisular sintético (n-hexil-alfa cianoacrilato). Cir Esp 2013; 91: 243-249.

Moreno-Egea A. Is it possible to eliminate sutures in open (Lichtenstein technique) and laparoscopic (totally extraperitoneal endoscopic) inguinal hernia repair? A randomized controlled trial with tissue adhesive (n-hexil cyanoacrylate). Surg Innov 2014 (in press)

Mori H, Sawairi M, Nakagawa M, Itoh N, Wada K, Tamaya T. Peritoneal fluid interleukin-1 β and tumor necrosis factor in patients with benign gynecologic disease. Am J Rep Immun 1991; 26: 62-67.

Mumtaz K, Majid S, Shah H, Hameed K, Ahmed A, Hamid S, Jafri W. Prevalence of gastric varices and results of sclerotherapy with N-butyl 2 cyanoacrylate for controlling acute gastric variceal bleeding. World J Gastroenterol. 2007;13:1247–1251.

Negro P, Basile F, Brescia A, Buonanno GM, Campanelli G, Canonico S, Cavalli M, Corrado G, Coscarella G, Di Lorenzo N, Falletto E, Fei L, Francucci M, Fronticelli Baldelli C, Gaspari AL, Gianetta E, Marvaso A, Palumbo P, Pellegrino N, Piazzai R, Salvi PF, Stabilini C, Zanghi G. Open tension-free Lichtenstein repair of inguinal hernia: use of fibrin glue versus sutures for mesh fixation. Hernia. 2011; 15:7–14.

Neumann H, Scheidbach H, M.nkemüller K, Pech M, Malfertheiner P. Multiple cyanoacrylate (Histoacryl) emboli after injection therapy of cardia varices. *Gastrointest Endosc.* 2009;70:1025–1026.

Noophun P, Kongkam P, Gonlachanvit S, Rerknimitr R. Bleeding gastric varices: results of endoscopic injection with cyanoacrylate at King Chulalongkorn Memorial Hospital. *World J Gastroenterol.* 2005;11:7531–7535.

Nordentoft T, Pommegaard HC, Rosenberg J, Achiam MP. Fibrin glue does not improve healing of gastrointestinal anastomoses: a systematic review. *Eur Surg Res.* 2015;54:1-13

Nordkild P, Hjortrup A, Kjaergaard J. Tissue adhesives and intestinal anastomosis. *Ann Chir Gynaecol.* 1986;75:205-208.

Novik B, Hagedorn S, Mork UB, Dahlin K, Skullman S, Dalenback J. Fibrin glue for securing the mesh in laparoscopic totally extraperitoneal inguinal hernia repair: a study with a 40-month prospective follow-up period. *Surg Endosc.* 2006; 20:462–467.

Nowobilski W, Dobosz M, Wojciechowicz T, Mionskowska L. Lichtenstein inguinal herioplasty using butyl-2-cyanoacrylate versus sutures. Preliminary experience of a prospective randomized trial. *Eur Surg Res* 2004, 36: 367-370.

Núñez MH, Calerob H, Velicia R, García F, Sánchez G, Caro A. Fistula arterioportal sintomática resuelta mediante tratamiento conservador. *Gastroenterol Hepatol.* 2006;29:237–239.

Odobasic A, Krdzalic G, Hodzic M, Hasukic S, Sehanovic A, Odobasic A. The role of fibrin glue polypropylene mesh fixation in open inguinal hernia repair. *Med Arch.* 2014;68: 90-93.

Olmi S, Erba L, Bertolini A, Scaini A, Croce E. Fibrin glue for mesh fixation in laparoscopic transabdominal preperitoneal (TAPP) hernia repair: indications, technique, and outcomes. *Surg Endosc.* 2006; 20:1846–1850.

Olmi S, Scaini A, Erba L, Guaglio M, Croce E. Quantification of pain in laparoscopic transabdominal preperitoneal (TAPP) inguinal hernioplasty identifies marked differences between prosthesis fixation systems. *Surgery.* 2007; 142:40–46. A

Olmi S, Scaini A, Erba L, Bertolini A, Croce E. Laparoscopic repair of inguinal hernias using an intraperitoneal onlay mesh technique and a Parietex composite mesh fixed with fibrin glue (Tissucol). Personal technique and preliminary results. *Surg Endosc.* 2007; 21:1961–1964. B

Olmi S, Scaini A, Erba L, Croce E. Use of fibrin glue (Tissucol) in laparoscopic repair of abdominal wall defects: preliminary experience. *Surg Endosc.* 2007; 21:409–413. C

Olmi S, Cesana G, Sagutti L, Pagano C, Vittoria G, Croce E. Laparoscopic incisional hernia repair with fibrin glue in select patients. *JSLs.* 2010; 14:240–245.

Ong J, Ho KS, Chew MH, Eu KW. Prospective randomized study to evaluate the use of DERMABOND ProPen (2-octylcyanoacrylate) in the closure of abdominal wounds versus closure with skin staples in patients undergoing elective colectomy. *Int J Colorectal Dis.* 2010;25:899–905.

Onozato Y, Kakizakib S, Iizukaa H, Moria K, Takizawaa D, Ohyamaa T, Arakawa K, et al. Ectopic varices rupture in the gastroduodenal anastomosis successfully treated with N-butyl-2-cyanoacrylate injection. *Acta Med Okayama.* 2007;61:361–365.

Ousterhout DK, Gladieux GV, Leonard F. Cutaneous absorption of nalkyl alpha-cyanoacrylate. *J Biomed Mater Res* 1968;2:157-163.

Paajanen H, Kössi J, Silvasti S, Hulmi T, Hakala T. Randomized clinical trial of tissue glue versus absorbable sutures for mesh fixation in local anaesthetic Lichtenstein hernia repair. *Br J Surg* 2011; 98: 1245-1251.

Panek PH, Prusak MP, Bolt D, Edlich RF. Potentiation of wound infection by adhesive adjuncts. *Am Surg* 1972;38:343-345.

Pani KC, Gladieux G, Brandes G, Kulkarni RK, Leonard F. The degradation of n-butyl alpha-cyanoacrylate tissue adhesive. II. *Surgery* 1968;63:481-489.

Park SJ, Kwon SW, Oh JH, Park HC. Glue embolization of a ruptured celiac trunk aneurysm. *Vascular*. 2009;17:112–115.

Park SW, Choe WH, Lee CH, Lee MW, Kim YJ, Kwon SY, Jeon HJ. Transcatheter embolization of a pseudoaneurysm of the inferior epigastric artery with N-butyl cyanoacrylate. *Br J Radiol*. 2008;81:64–67.

Park SW, Chang SH, Yun IJ, Lee HW. Deep circumflex iliac artery-related hemoperitoneum formation after surgical drain placement: successful transcatheter embolization. *Cardiovasc Interv Radiol*. 2010;33:402–405.

Peach G, Tan LC. Small bowel obstruction and perforation due to a displaced spiral tacker: a rare complication of laparoscopic inguinal hernia repair. *Hernia* 2008; 12: 303-305.

Peynircioğlu B, Türkbey B, Ozkan M, Cil BE. Use of glue and microcoils for transarterial catheter embolization of a type 1 endoleak. *Diagn Interv Radiol*. 2008;14:111–115.

Phillips AW, Viswanath YK, Burns JK, Hall CE, Horgan AF. Use of fibrin glue for fixation of mesh and approximation of Peritoneum in Transabdominal Preperitoneal (TAPP) inguinal hernia repair: technical feasibility and early surgical outcomes. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2014; 24: e43-45.

Quinn JV, Maw J, Ramotar K, Wenckebach G, Wells G. Octylcyanoacrylate tissue adhesive wound repair versus suture wound repair in a contaminated wound model. *Surgery* 1997; 122:69-72.

Quinn JV. Clinical approaches to the use of cyanoacrylate tissue adhesives. In: Quinn JV. *Tissues adhesives in clinical medicine*. 2ª ed. Ontario, BC, Decker pp 1-13, 2005.

Repici A, Ferrari A, De Angelis C, Caronna S, Barletti C, Paganin S, Musso A, Carucci P, Debernardi-Venon W, Rizzetto M, Saracco G. Adrenalina plus cyanoacrylate injection for treatment of bleeding peptic ulcers after failure of conventional endoscopic haemostasis. *Dig Liver Dis*. 2002;24:349-355.

Reynvoet, S. Van Cleven, I. Van Overbeke, K. Chiers, P. De Baets, R. Troisi, F. Berrevoet. The use of cyanoacrylate sealant as simple mesh fixation in laparoscopic ventral hernia repair: a large animal evaluation. *Hernia*. 2015;19:661-70.

Ritchie AJ, Rocke LG. Staples versus sutures in the closure of scalp wounds: a prospective, double-blind, randomized trial. *Injury* 1989;20:217-8.

Rollán A. Várices gástricas: Fisiopatología, clínica y tratamiento. *Gastr Latinoam*. 2007;18:81–88.

Romano A, Spaggiari M, Masetti M, Sassatelli R, Di Benedetto F, De Ruvo N, Montalti R, Guerrini GP, Ballarin R, De Blasiis MG, Gerunda GE. A new endoscopic treatment for pancreatic fistula after distal pancreatectomy: case report and review of the literature. *Congresso Eur Surg* 2008;40:61–183.

Rönkä K, Vironen J, Kösti J, Hulmi T, Silvasti S, Hakala T, Ilves I, Song I, Hertsi M, Juvonen P, Paajanen H. Randomized multicenter trial comparing glue fixation, self-gripping mesh, and suture fixation of mesh in Lichtenstein hernia repair (FinnMesh Study). *Ann Surg* 2015; 262: 714-720.

Roque R, García A, Guerra RM, Leal A, Mursulí A, Zambrana FR, Cruz A. Utilización del Tisuacryl® en la anastomosis del esófago con otros segmentos del tubo digestivo. *Rev Cubana Cir.* 2006;45:2.

Rosin D, Rosenthal RJ, Kuriansky J, Brasesco O, Shabtai M, Ayalon A. Closure of laparoscopic trocar site wounds with cyanoacrylate tissue glue: a simple technical solution. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2001;11:157–159.

Rothnie NG, Taylor GW. Suture less skin closure. A clinical trial. *BMJ* 1963;5364:1027-1030.

Rotondano G, Viola M, Orsini L, Cipolletta F, Bianco MA, Garofano ML, Cipolletta L. Uncommon cause of early postoperative colonic fistula successfully treated with endoscopic acrylate glue injection. *Gastrointest Endosc.* 2008;67:183–186.

Rousou J, Levitsky S, Gonzalez-Lavin L, Cosgrove D, Magilligan D, Weldon C, Hiebert C, Hess P, Joyce L, Bergsland J. Randomized clinical trial of fibrin sealant in patients undergoing re-sternotomy or reoperation after cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989;97:194-203.

Rusius VC, Davies RS, Hopkins JD, Duddy MJ, Smith SR. Successful glue embolization of a late type 1A endoleak causing abdominal aortic aneurysm rupture. *Vasc Endovasc Surg.* 2011;45:198–201.

Ryu SH, Jeong D, Moon S, Kim II, Kim YS, Lee JH. Endoscopic injection sclerotherapy with N-butyl-2-cyanoacrylate in a patient with massive rectal variceal bleeding: a case report. *Gastrointest Endosc.* 2005;62:632–635.

Sajid MS, Siddiqui MR, Khan MA, Baig MK. Meta-analysis of skin adhesives versus sutures in closure of laparoscopic portsite wounds. *Clin Endosc.* 2009;23:1191–1197.

Santoro E, Agresta F, Buscaglia F, Mulieri G, Mazzarolo G, Bedin N, Mulieri M. Preliminary experience using fibrin glue for mesh fixation in 250 patients undergoing minilaparoscopic transabdominal preperitoneal hernia repair. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2007; 17:12–15

Schenk W, Goldthwaite C Jr, Burks S, Spotnitz W. Fibrin sealant facilitates hemostasis in arteriovenous polytetrafluoroethylene grafts for renal dialysis access. *Am Surg* 2002;68:728-732.

Schenk W, Burks SG, Gagne PJ, Kagan SA, Lawson JH, Spotnitz WD. Fibrin sealant improves hemostasis in peripheral vascular surgery: a randomized prospective trial. *Ann Surg* 2003;237:871-876.

Schug-Pass C, Jacob DA, Rittinghausen J, Lippert H, Köckerling F. Biomechanical properties of (semi-) synthetic glues for mesh fixation in endoscopic inguinal hernia repair. *Hernia* 2013; 17: 773-777.

Schwab R, Willms A, Kroger A, Becker HP. Less chronic pain following mesh fixation using a fibrin sealant in TEP inguinal hernia repair. *Hernia*. 2006; 10:272–277.

Sebesta MJ, Bishoff JT. Octylcyanoacrylate skin closure in laparoscopy. *J Endourol*. 2003;17:899–903.

Sebesta MJ, Bishoff JT, Jay MD. Octylcyanoacrylate skin closure in laparoscopy. *JLS*. 2004;8:9–14.

Seewald S, Seitz U, Yang AM. Variceal bleeding and portal hypertension: still a therapeutic challenge? *Endoscopy*. 2001;33:126–139.

Seewald S, Sriram PVJ, Naga M, Fennerty MB, Boyer J, Oberti F, Soehendra N. Cyanoacrylate glue in gastric variceal bleeding. *Endoscopy*. 2002;34:926–932.

Serpa H, Figueroa R. Manejo del sangrado agudo por varices esófago gástricas. *Rev Gastroenterol Peru.* 1998;18:38–43.

Shah NS, Bandara AI, Sheen AJ. Clinical outcome and quality of life in 100 consecutive laparoscopic totally extra-peritoneal (TEP) groin hernia repairs using fibrin glue (Tisseel™): a United Kingdom experience. *Hernia.* 2012;16:647-653.

Shapkina AP, Kravtsov IA. Method of surgical treatment of inguinal hernias in children using glue. *Vestn Khir Im I Grek* 1984; 133: 100-103.

Shen Y, Sum W, Chen J, Liu S, Wang MG. NBCA medical adhesive (n-butyl-2-cyanoacrylate) versus suture for patch fixation in Lichtenstein inguinal herniorrhaphy: A randomized controlled trial. *Surgery* 2012; 151: 550-555.

Siedentop KH, Harris DM, Sanchez B. Autologous fibrin tissue adhesive. *Laryngoscope* 1985;95:1074-1076.

Silecchia G, Boru CE, Mouiel J, Rossi M, Anselmino M, Morino M, Toppino M, Gaspari A, Gentileschi P, Tacchino R, Basso N. The use of fibrin sealant to prevent major complications following laparoscopic gastric bypass: results of a multicenter, randomized trial. *Surg Endosc.* 2008;22:2492-2497.

Singer AJ, Hollander JE, Valentine SM, Thode HC Jr, Henry MC. Association of training level and short-term cosmetic appearance of repaired lacerations. *Acad Emerg Med* 1996;3:378-383.

Singer AJ, Thode HC. A review of the literature on octylcyanoacrylate tissue adhesive. *Am J Surg* 2004; 118: 300-308.

Sofuni A, Itoi T, Tsuchiya T, Itokawa F, Kurihara T, Moriyasu F, Kawai T. Endoscopic sealing of a pancreatic fistula using ethyl- 2-cyanoacrylate. *Endoscopy.* 2006;38:71–72.

Sözen S, Cetinkunar S, Emir S, Yazar FM. Comparing sutures and human fibrin glue for mesh fixation during open inguinal hernioplasty. *Ann Ital Chir.* 2012

Spotnitz WD, Mintz PD, Avery N, Bithell TC, Kaul S, Nolan SP. Fibrin glue from stored human plasma: an inexpensive and efficient method for local blood bank preparation. *Am Surg* 1987;53:460-464.

Stoikes N, Webb D, Powell B, Voeller G. Preliminary report of a sutureless onlay technique for incisional hernia repair using fibrin glue alone for mesh fixation. *Am Surg.* 2013; 79:1177-1180.

Stoikes N, Sharpe J, Tasneem H, Roan E, Paulus E, Powell B, Webb D, Handorf C, Eckstein E, Fabian T, Voeller G. Biomechanical evaluation of fixation properties of fibrin glue for ventral incisional hernia repair. *Hernia.* 2015; 19: 161-166.

Sugimoto N, Watanabe K, Watanabe K, Ogata S, Shimoda R, Sakata H, Eguchi Y, Mizuta T, Tsunada S, Iwakiri R, Nojiri J, Mizuguchi M, Kudo S, Miyazaki K, Fujimoto K. Endoscopic hemostasis for bleeding gastric varices treated by combination of varicela ligation and sclerotherapy with N-butyl-2-cyanoacrylate. *J Gastroenterol.* 2007;42:528–532.

Switzer EF, Dinsmore RC, North JH Jr. Subcuticular closure versus dermabond: a prospective randomized trial. *Am Surg.* 2003;69:434–436.

Testini M, Lissidini G, Poli E, Gurrado A, Lardo D, Piccinni G. A single-surgeon randomized trial comparing sutures, N-butyl-2-cyanoacrylate and human fibrin glue for mesh fixation during primary inguinal hernia repair. *Can J Surg.* 2010; 53:155–160.

Tock B, Drohan W, Hess J, Pusateri A, Holcomb J, MacPhee M. Haemophilia and advanced fibrin sealant technologies. *Haemophilia* 1998;4:449-455.

Tolver MA, Rosenberg J, Juul P, Bisgaard T. Randomized clinical trial of fibrin glue versus tacked fixation in laparoscopic groin hernia repair. *Surg Endosc.* 2013; 27:2727-2733.

Topart P, Vanden broucke F, Lozac'h P. Tisseel versus tack staples as mesh fixation in totally extraperitoneal laparoscopic repair of groin hernias: a retrospective analysis. *Surg Endosc.* 2005; 19:724–727.

Upadhyaya VD, Gopal SC, Gangopadhyaya AN, Gupta DK, Sharma S, Upadyaya A, Kumar V, Pandey A. Role of fibrin glue as a sealant to esophageal anastomosis in cases of congenital esophageal atresia with tracheoesophageal fistula. *World J Surg.* 2007;31:2412-2415

Vakalopoulos KA, Daams F, Wu Z, Timmermans L, Jeekel JJ, Kleinrensink GJ, Van der Ham A, Lange JF. Tissue adhesives in gastrointestinal anastomosis: a systematic review. *J Surg Res* 2013; 180: 290-300.

Valleix D, Descottes B. Pregluing of circular instrumental anastomoses. *Surg Gynecol Obstet* 1990;170:161-162.

Van der Ham AC, Kort WJ, Weijma IM, van den Ingh HF, Jeekel H. Effect of fibrin sealant on the integrity of colonic anastomoses in rats with faecal peritonitis. *Eur J Surg* 1993;159:427-432.

Viallon A, Zeni F, Pouzet V, Lambert C, Quenet S, Aubert G, Guyomarch S, Tardy B, Bertrand JC. Serum and ascitic procalcitonin levels in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis: diagnostic value and relationship to pro-inflammatory cytokines. *Intensive Care Med* 2000; 26: 1082-1088.

Wade CW, Leonard F. Degradation of polyf methyl 2-cyanoacrylates). *J Biomed Mater Res* 1972;6:215-20.

Wahl P, Lammer F, Conen D, Schlumpf R, Bock A. Septic complications after injection of N-butyl-2-cyanoacrylate: report of two cases and review. *Gastrointest Endosc*. 2004;59:911–916.

Wang MG, Tian ML, Zhao XF, Nie YS, Chen J, Shen YM. Effectiveness and safety of n-butyl-2-cyanoacrylate medical adhesive for noninvasive patch fixation in laparoscopic inguinal hernia repair. *Surg Endosc* 2013; 27. 3792-3798.

Wicklewicz D, Chrobak A, Gmyrek GB, Halberzstadt A, Gabrys MS, Goluda M, Chelmonska-Soyta A. Diagnostic accuracy of interleukin-6 levels in peritoneal fluid for detection of endometriosis. *Arch Gynecol Obstet* 2013; 288: 805-814.

Woodward SC, Herrman JB, Cameron JL, Brandes G, Pulaski EJ, Leonard F. Histotoxicity of cyanoacrylate tissue adhesive in the rat. *Ann Surg* 1965; 162:1 13.

Yamagami T, Kanda K, Kato T, Hirota T, Nishida K, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Embolisation of proximal anastomotic pseudoaneurysm developing after surgical repair of abdominal aortic aneurysm with a bifurcated graft with n-butyl cyanoacrylate. *Br J Radiol*. 2006;79:193–195.

Ying-Mo S, Wen-Bing S, Jie Ch, Su-Jun L, Ming-Gang W. NBCA medical adhesive (n-butyl-2-cyanoacrylate) versus suture for patch fixation in Lichtenstein inguinal herniorrhaphy: A randomized controlled trial. *Surgery* 2012; 151: 550-555.

Yoshimatsu R, Takeuchi Y, Morishita H, Iida N, Okabe H, Yamagami T, Nishimura T. Successful embolisation of intrahepatic portosystemic venous shunt using coils and n-butyl cyanoacrylate through two approach routes. *Br J Radiol*. 2006;79:162–1655.

Young JZ, Medawar PB. Fibrin suture of peripheral nerves. *Lancet* 1940;275:126-132.

Zumaeta E. Várices esofagogástricas. *Acta Med Per*. 2007;24:47–52.

