

Nueva transferencia de cianometacrilato de muy baja viscosidad curado por luz ultravioleta en un modelo *in vitro* de corazón de oveja inmerso en solución salina y la técnica de pincelado

Novel Transfer of Very-low Viscosity Ultraviolet Light Curable Cyan Methacrylate on a Saline Immersed In-vitro Sheep Heart Model and the Paintbrush Technique

MARK CHRISTOPHER AROKIARAJ*

RESUMEN

Objetivo: Desarrollar una nueva técnica para la transferencia de cianometacrilato de muy baja densidad sobre las superficies internas y externas del corazón.

Material y métodos: Se combinó el cianometacrilato curado por luz ultravioleta de muy baja densidad con colorante comercial para demostrar su capacidad de transferencia sobre las superficies externas e internas de un modelo de corazón *in vitro*. Se mezclaron 0,5 ml de cianometacrilato con 0,2 ml tinta, y el material se inyectó sobre la superficie del corazón en aire seco, lo que permite su fijación durante 2-3 seg. A continuación, toda la preparación se sumergió en solución salina y se agitó vigorosamente para eliminar el compuesto no ligado. Se realizó un experimento similar sin cianometacrilato y con cianometacrilato de alta viscosidad (3000 cps). Se comprobó visualmente después del lavado que una cantidad significativa del compuesto se liga a las superficies del corazón en comparación con la tinta sola. Luego, se investigó la transferencia efectiva del compuesto a las superficies internas y externas del corazón después de haber sumergido el tejido en solución salina. Entre diversas técnicas, la de pincelado fue la más efectiva para la transferencia orientada del compuesto. Mediante esta técnica fue muy fácil transferir el compuesto sobre las superficies endocárdica y epicárdica. También otras áreas específicas, como la orejuela auricular izquierda, las superficies internas del ventrículo izquierdo en el origen del músculo papilar y el ápex ventricular izquierdo, fueron investigadas exitosamente. La fuente de luz ultravioleta fue un dispositivo en forma de lapicera basado en un diodo emisor de luz. Luego del tratamiento con luz ultravioleta, se observó cierta precipitación del compuesto en algunas zonas. El experimento se repitió con tres muestras para determinar el resultado.

Conclusiones: La transferencia de cianometacrilato de muy baja viscosidad curado por luz ultravioleta es potencialmente útil para el estudio de las superficies internas y externas del corazón. Esta técnica podría servir para la transferencia de factor de crecimiento.

Palabras clave: Cianometacrilato - Bioadhesivo de baja viscosidad - Transferencia técnica - Moléculas de proteína sobre la superficie del corazón

ABSTRACT

Background: Cyan methacrylate is a compound with remarkable adhesion properties used in different specific areas, including medicine, where it can be applied in some entities and is also subject of research in the field of cardiology

Objective: The aim of this study was to develop a novel technique for the transfer of very-low viscosity cyan methacrylate on the inner and outer surfaces of the heart.

Methods: Very-low viscosity ultraviolet curable cyan methacrylate was mixed with commercially available dye to demonstrate its ability of transfer on the inner and outer surfaces of an in-vitro heart model. Cyan methacrylate (0.5 ml) was mixed with 0.2 ml of ink, and the material was injected on the surface of the heart in dry air, allowing its fixation for 2-3 seconds. Subsequently, the whole preparation was immersed in saline, and was vigorously shaken to remove the unbound compound. A similar experiment was performed without cyan methacrylate, and with high viscosity cyan methacrylate (3000 cps). A significant amount of the compound was visually found to attach to the surfaces of the heart compared with ink alone. Then, after soaking the tissue in saline solution, effective transfer of the compound was assessed on the inner and the outer surfaces of the heart.

Results: Among various techniques, the paintbrush technique was the most effective one for the targeted transfer of the compound. With this specific areas, such as instead of specific areas, as technique, it was easier to transfer the compound on the epicardial and endocardial surfaces. Also, other specific areas, as the left atrial appendage, the left ventricular inner surfaces at the origin of the papillary muscle and the left ventricular apex were successfully investigated. The ultraviolet light source was a pen-shaped device based on a light emission diode. Some compound precipitation was observed in some areas following ultraviolet treatment. The experiment was repeated with three different samples to determine the results.

Conclusions: Very-low viscosity ultraviolet curable cyan methacrylate transfer is potentially useful to study the inner and outer surfaces of the heart. This technique could be useful for growth factor transfer.

Key words: Cyan methacrylate - Low viscosity bio-adhesive - transfer technique - cardiac surfaces or protein molecules on the surface of the heart

REV ARGENT CARDIOL 2017;85:321-327 <http://dx.doi.org/10.7775/rac.es.v85.i4.10491>

Recibido: 16-04-2017 - Aceptado: 24-07-2017

Dirección para separatas: Dr. Mark Christopher Arokiaraj, Pondicherry Institute of Medical Sciences, Pondicherry, India. 605014. +919751783843. E-mail: christomark@gmail.com

* Cardiology Pondicherry Institute of Medical Sciences

Abreviaturas

CMA cianometacrilato

VEGF Factor de crecimiento endotelial vascular

INTRODUCCIÓN

El cianometacrilato (CMA) es un compuesto con propiedades excepcionales de adhesión utilizado en diversos campos específicos. En el área médica, el CMA es usado en gastroenterología para inducir trombosis en las várices esofágicas. (1) También se usa para el cierre de fístulas anales, (2) pancreáticas (3) y esófago-pancreáticas. (4) Se ha reportado embolización, que conduce a complicaciones sépticas y embólicas. (5, 6) Sin embargo, estas complicaciones se observan en un número mínimo de casos. Su viscosidad varía y de acuerdo con ella también varía la aplicación clínica. El CMA se oxida rápidamente en contacto con solución salina. Además del uso en Medicina, tiene numerosos usos no médicos. En contacto con la sangre, se oxida rápidamente y activa la fibrina y la cascada de coagulación. La distribución miocárdica de drogas se puede lograr por medio de su aplicación sobre el miocardio, de acuerdo con la vasculatura capilar. (7) Por lo tanto, la aplicación del CMA debe hacerse con precaución para lograr beneficios máximos con efectos colaterales mínimos. El CMA ha sido utilizado para cerrar el derrame pericárdico durante el reemplazo percutáneo de la válvula aórtica. (8) Existen muchos desafíos científicos en la terapia de ciertas lesiones complejas, como, por ejemplo, en la intervención percutánea de la regurgitación mitral, el cierre de la orejuela izquierda y la ingeniería compleja del tejido miocárdico. En este trabajo, se investigaron el CMA Cyberbond U301 y U303 para la transferencia potencial sobre superficies miocárdicas. El propósito del estudio fue evaluar la transferencia de CMA sobre las superficies del corazón con el objetivo primario de desarrollar un método novedoso para la transferencia percutánea de CMA de muy baja densidad y sus posibles conjugados en el futuro. Los resultados serían la base del futuro diseño de hidrogeles de viscosidad similar.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se intentó transferir CMA sobre las superficies del corazón. El CMA inyectable de baja viscosidad (40 ± 10 cps, tiempo de depósito < 3 seg y gravedad específica $1,1 \text{ g/cm}^3$) fue de Cyberbond TM (U 301, Figura 1). Se mezclaron 0,5 ml de CMA con 0,2 ml de tinta para escribir disponible comercialmente en una jeringa plástica y se transfirió por inyección con aguja en el aire sobre las superficies del corazón. La transferencia se realizó mediante el método de rociado. Se permitió que el compuesto resultante (CMA + tinta) se depositara sobre las superficies designadas del corazón por 3 seg e, inmediatamente después, se lavó vigorosamente con solución salina. La cantidad de compuesto adherido a la superficie se cuantificó visualmente. Simultáneamente, como control, se demostró la cantidad de tinta adherida sobre la superficie en un experimento similar.



Fig. 1. A. Fuente de luz ultravioleta mediante un dispositivo en forma de lapicera de 1,5 cm de diámetro (linterna de luz negra de 9 LED 1 Modo UV). B. Tubo de cianometacrilato.

Luego, el experimento se realizó de manera similar en solución salina mediante la técnica de pincelado. Las cerdas del pincel eran muy finas, provenientes de pelo de ganado. Las cerdas se empararon con el compuesto (Cyberbond U301) y cada trazo consistió en una pincelada única con un contacto de alrededor de 3 seg. A continuación, se eligió otro blanco cardíaco y se volvió a aplicar la técnica. Algunas de las áreas objetivo fueron las superficies endocárdicas y epicárdicas de los ventrículos y las aurículas, y la superficie endocárdica de la orejuela izquierda.

El experimento se repitió con otras técnicas, como la aplicación con un hisopo de algodón empapada en CMA, a través del rociado en la proximidad de los tejidos con aguja fina y por rociado en bolo con jeringa sin aguja mediante el contacto directo con los tejidos cardíacos. El compuesto luego se aplicó sobre las superficies externas del corazón. El experimento se realizó sobre tres modelos diferentes de corazón de oveja y se observaron los resultados.

De manera similar, el experimento se repitió con CMA (Cyberbond 303) de mayor viscosidad (alrededor de 3000 ± 1000 cps, gravedad específica $1,1 \text{ g/cm}^3$ y tiempo de asentamiento < 4 seg). La fuente de luz ultravioleta usada en el estudio fue un dispositivo en forma de lapicera de 1 cm de diámetro con luz proveniente de un LED 9 emisor de luz UV en un rango de 385-400 nm.

RESULTADOS

Entre las diversas técnicas empleadas en diferentes muestras de corazón de oveja, la técnica de pincelado demostró la máxima cantidad de transferencia de CMA

sobre las superficies cardíacas. Otras técnicas, como la transferencia de CMA utilizando un hisopo de algodón, el rociado con aguja fina sobre los tejidos circundantes y el rociado directo sobre las superficies a través de la boquilla de la jeringa demostraron visualmente solo una mínima transferencia, es decir, menos del 20% en comparación con la técnica de pincelado.

La cantidad de CMA transferido mediante la técnica de rociado fue significativa, y se pudo visualizar bien cuando se realizó la prueba de rociado aéreo (Figura 2). La Figura 3 muestra la aplicación del compuesto sobre las superficies del ventrículo derecho (imagen A) e izquierdo (imagen A y B) en el preparado de corazón de oveja luego de su inmersión en solución salina. La transferencia exitosa del compuesto fue vista en todos los modelos de corazón de oveja. La Figura 4 presenta el control solo con tinta (imagen A) en el aire y en el modelo sumergido en solución salina (imagen B). Las fotografías control comparadas con las fotografías en el aire y la muestra inmersa en solución salina revelaron colores muy débiles adheridos a las superficies ventriculares.

La inmersión salina reduce la cantidad de compuesto adherido sobre la superficie del corazón. Comparado con la transferencia en el aire, al sumergirse en solución salina, la proporción de transferencia fue menor. Esto se debe a la disolución del compuesto y a la interfase líquida formada durante la transferencia. En el aire, el compuesto se fija fácilmente en pocos segundos. A pesar de que la cantidad de transferencia fue relativamente menor con la formación de la interfase salina, el olor del CMA en las muestras fue predominante sobre las

superficies. Se realizó un estudio similar con Cyberbond U303 más viscoso (3000 cps) (Figura 5, imágenes B y C).

Empleando el CMA U303 más viscoso, la cantidad de transferencia fue mínima. Por observación visual directa, esta fue aproximadamente menos del 20% comparada con el CMA U301 de baja densidad. Esto se debe predominantemente a la mayor viscosidad y a que el compuesto CMA U303 no penetró con facilidad en la aguja. Por el método del olfato, se comprobó una cantidad significativa de transferencia con CMA U301 que tiene densidad más baja que el CMA U303. Al aplicar el tratamiento de luz UV durante unos segundos después de la transferencia en las superficies endocárdica y epicárdica se formaron microprecipitados sobre las superficies, debido al entrecruzamiento de polímeros inducido por la exposición a la luz UV. El tratamiento UV se obtuvo sumergiendo el dispositivo de luz UV en solución salina y activándolo durante unos pocos segundos.

DISCUSIÓN

Cantidad de transferencia en el aire y en solución salina

El presente estudio *in vitro* demuestra la transferencia de CMA sobre las superficies del corazón. Estos resultados iniciales obtenidos sobre la base de un número limitado de experimentos muestran que la transferencia fue muy efectiva en el aire y relativamente poco efectiva en la muestra inmersa en solución salina. Esto se debe a la interferencia directa con la interfase salina cuando el CMA se pone en contacto con los teji-

Fig. 2. Transferencia en el aire de cianometacrilato sobre la superficie interna del corazón (imágenes A y B). La imagen C muestra la transferencia de cianometacrilato sobre la superficie externa del corazón. (Puede encontrar la figura en colores en: www.sac.org.ar)

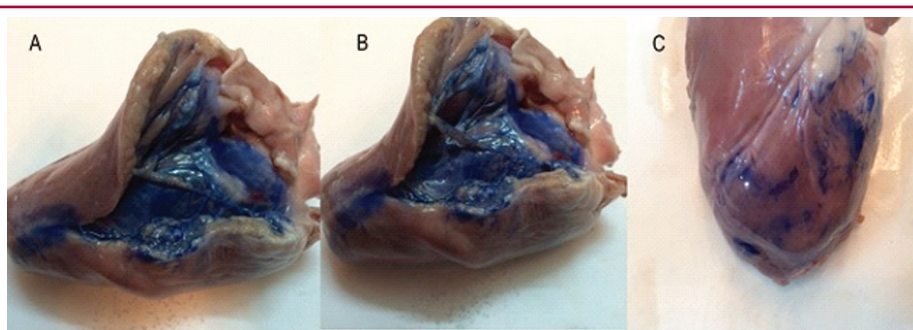


Fig. 3. Transferencia de cianometacrilato sobre la superficie interna del corazón en el modelo de corazón de oveja sumergido en solución salina. La imagen A muestra la superficie interna del corazón derecho. Las imágenes B y C muestran la transferencia de cianometacrilato sobre la superficie del ventrículo izquierdo del modelo de corazón de oveja. (Puede encontrar la figura en colores en: www.sac.org.ar)

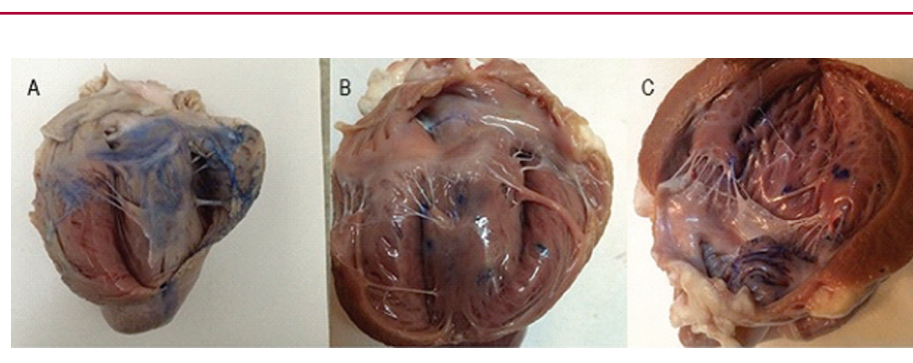




Fig. 4. Imágenes control. La imagen **A** muestra el resultado luego de transferencia en el aire solo con tinta y lavada con solución salina. La imagen **B** muestra la transferencia solo con tinta realizada en el modelo inmerso en solución salina. (Puede encontrar la figura en colores en: www.sac.org.ar)

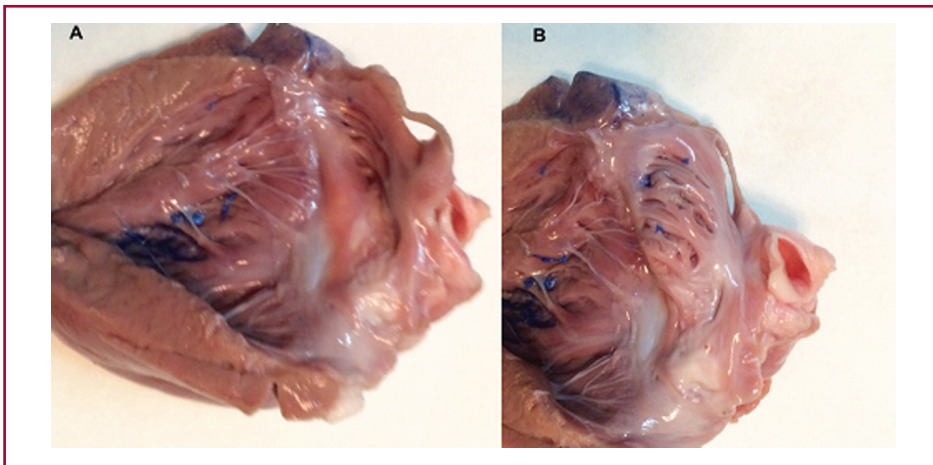


Fig. 5. Imágenes de la transferencia de Cyberbond U303 más viscoso sobre las superficies internas del corazón. (Puede encontrar la figura en colores en: www.sac.org.ar)

dos. Sin embargo, a pesar de que la cantidad unitaria de compuesto transferida fue menor, se visualizó una proporción razonable sobre las superficies. *In vivo*, las superficies endoteliales tienen moléculas de adhesión celular y receptores naturales, como, por ejemplo, los receptores E-selectina que pueden absorber el compuesto mejor que los experimentos *in vitro*. Existen otras moléculas de adhesión, como la ICAM-1 (9, 10) y la integrina beta-2 (11), por lo que podrían esperarse mejores resultados *in vivo*.

Técnica de rociado por inyección directa/aguja fina, hisopo de algodón o técnica de pincelado

El CMA de baja viscosidad tiene la ventaja de poder ser usado con aguja. No obstante, las inyecciones con agujas afiladas tienen el riesgo de perforar el tejido cardíaco. El rociado mediante la aplicación directa con una jeringa sin aguja, no es de fácil realización en las cavidades cardíacas. El rociado depende de la distancia entre el dispositivo y los tejidos, la desviación cuadrática media desde el centro (δ) al rociador; la velocidad de

pulverización y la coordenada angular (coseno θ) entre el rociador y la superficie objetivo. (12) La técnica de pintura a pincel involucra una única coordenada, el ángulo del pincel y el contacto, mientras que el rociado implica múltiples coordenadas (δx , δy , δz), muy afectadas por la distancia y los movimientos moleculares de la interfase. Por lo tanto, el pincelado sería una técnica en la cual la perforación podría ser despreciable y también de más fácil realización para trabajar sobre los objetivos designados. Además, se ha observado que el compuesto de baja viscosidad no apelmaza las cerdas del pincel aún si se mantiene sobre ellas durante muchos segundos. Como la viscosidad del compuesto es muy baja, se espera que su utilización cause embolia (ecuación de Poiseuille). Sin embargo, teóricamente, ya que la dilución es alta, la embolia debida al material diluido sería insignificante. La fuente de luz ultravioleta es un dispositivo en forma de lapicera (véase la Figura 1), basado en una fuente emisora de luz. El dispositivo se sumergió en solución salina y se expuso a la muestra transferida durante unos pocos segundos. Se observó

que se forman microprecipitados sobre la superficie de la muestra transferida, los cuales podrían provocar embolia. Por ello, el tratamiento con luz ultravioleta sobre la superficie endotelial puede no ser un buen método. No obstante, sobre las superficies externas del corazón, podría ayudar a formar tejido o proliferación vascular sobre la base del conjugado adherido al CMA. Como el CMA es utilizado para varios procedimientos biológicos, es biocompatible y también hemocompatible. (13) Estas observaciones son preliminares, y se necesitan experimentos *in vivo* en tiempo real para demostrar el potencial del método de transferencia, así como los posibles beneficios del compuesto en cultivo de tejido y experimentos *in vivo*.

Método percutáneo

Los experimentos se realizaron con el propósito básico de aplicación futura en modelos percutáneos. Compuestos como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y factores de crecimiento fibroblásticos pueden ser fácilmente compuestos conjugados de CMA con estreptavidina o sin esta y grupos funcionales. Asimismo, sería interesante estudiar en el futuro la conjugación plurónica. Se podría utilizar acetona en caso de ser necesario el lavado o eliminación de CMA del tejido.

Adhesión cinética, mecánica del pincel y transferencia de pintura

Los adhesivos de baja viscosidad poseen un movimiento libre de las partículas del polímero y más fuerzas de Van der Waals. Cuando la viscosidad es alta, el movimiento molecular es menor y, por ende, las fuerzas de Van der Waals son menores. Las fuerzas de dispersión de London también tienden a ser mayores, ya que son inversamente proporcionales a las distancias de contacto molecular. (14) La transferencia del compuesto también depende del ángulo de contacto, la energía cinética durante la transferencia y la presencia de polímeros no encadenados transversalmente y polímeros de cadena corta. (14, 15) Todos estos parámetros son más altos con la técnica de pincelado porque tiene ángulos variables de contacto y energía cinética más alta durante la transferencia en comparación con otras técnicas. El adhesivo de baja viscosidad tiende a poseer moléculas más pequeñas y menos encadenadas transversalmente, lo que quizás proporcionaría una posible explicación a las observaciones de este estudio.

Viscosidad del polímero e implicancias

La adhesión de CMA sobre el sustrato y la liberación del conjugado dependen de la viscosidad. Esto se explica mediante la ecuación de Hagen-Poiseuille: cuando la viscosidad aumenta, la velocidad de liberación (dM/dt) de drogas/conjugado es más lenta. (16, 17) Los hidrogeles se hinchan cuando son expuestos al agua, lo que daría como resultado una viscosidad incrementada y, por lo tanto, una adhesión menor del sustrato. (16) Estudios previos con hidrogeles han demostrado la transferencia de drogas o conjugados a tejidos. La mayoría de estos

estudios han usado hidrogeles de alta viscosidad (1000 a 3000 cps) o, en su defecto, la viscosidad no ha sido bien definida. (18-24) Ciertos alginatos son utilizados como vehículos biológicos; sin embargo, también tienen viscosidad más alta. (23) El bioadhesivo Gecko tiene viscosidad alta. (25) Por lo tanto, una menor viscosidad es preferible a una mayor viscosidad en la interfase sanguínea durante la transferencia, lo que explicaría la diferente transferencia entre los compuestos U301 (cyberlite) y U303.

Modelización matemática de la pincelada

La energía de fricción al pasar el pincel está dada por la fórmula $E_{frict} = \mu \sum F \cdot (\kappa_f \cdot \Delta x_{par} + (1 - \kappa_f) \cdot \Delta x_{perp})$, donde F es fuerza, x es el vector de arrastre (paralelo o perpendicular) y μ es el coeficiente de fricción. (26) La energía de pliegue del pincel es energía de pliegue $(\theta) = k (\theta - \rho)^3$, donde $\rho = \min(\theta', \alpha)$, y α es el valor de plasticidad. (24) La interfase del usuario, es decir, la interfase solución salina / sangre modificará la transferencia de compuestos al sustrato. Un pincel debe ser modelado de acuerdo con el área de la superficie y el largo y pliegue característico de sus cerdas para el fin propuesto, de modo que pueda ser adecuado para un futuro enfoque percutáneo. (26, 27)

Hidrogeles y cianometacrilato

Los hidrogeles son comúnmente utilizados como bioadhesivos y pueden ser modificados para alcanzar una baja viscosidad. Sin embargo, la mayoría de los estudios actuales usan hidrogeles como vehículos de compuestos biológicos. (18-22) En la mayoría de los estudios, la ruta de inyección es quirúrgica; por ejemplo la ligadura de la arteria coronaria descendente anterior e inyección intramiocárdica. No obstante, este estudio se realizó con la intención del diseño futuro de una técnica percutánea novedosa. Por ello, se estudió la viscosidad muy baja. La inyección intramiocárdica directa no es fácilmente factible en la vida real, ya que requiere una vía quirúrgica y, por lo tanto, es lógicamente difícil.

Los CMA pueden conjugarse con VEGF u otros factores de crecimiento mediante reacción de tolueno o la introducción de grupos funcionales -SH, que son más estables y fáciles que los grupos -OH. (28, 29) Esto tampoco cambiaría la viscosidad y mantendría la naturaleza de unión recta del polímero, sin introducir el cruce transversal de cadenas poliméricas.

Integrinas

Otros estudios han demostrado mejores resultados acerca de la conjugación con integrinas durante la bioadhesión. (30-32) El CMA produce una leve inflamación en los tejidos, (33, 34) que liberaría P-selectina y E-selectina, lo que da como resultado una mejor adhesión. La inflamación desencadena la actividad de inflamasona, que, a su vez, activa las vías inflamatorias y de las integrinas. (35) Por ello, la conjugación con RGD o GFOGER resultaría en una mejor adhesión de los compuestos sobre sustratos tisulares. (36)

Colaterales internas teóricas de microrrevascularizaciones desde el endocardio al epicardio

Las arterias coronarias colaterales de revascularización interna (epicardio-endocardio) podrían generarse pintando el septo interventricular o las paredes del ventrículo derecho con VEGF conjugado. La perfusión vascular capilar del septo es menor que en las paredes del ventrículo. (7) Por lo tanto, sería un blanco potencial que necesita angiogénesis. El ventrículo izquierdo sería susceptible de embolia, por lo que el enfoque de revascularización a través del ventrículo derecho sería más seguro, aunque esta hipótesis es aún especulativa.

Otros compuestos para transferencia

Actualmente existen otros compuestos que podrían ser analizados en el futuro. Algunos hidrogeles biológicos pueden sintetizarse modificando aldehído-aminas, y, por lo tanto, variar la adhesión específica del PEG-dextrano con los tejidos y la viscosidad. (37) Estos hidrogeles son compatibles con los tejidos y tienen mejores propiedades biológicas que el CMA. Gecko (38) es otro adhesivo tisular inspirado biológicamente, de mayor viscosidad, que se encuentra disponible para el cierre de comunicaciones auriculares o ventriculares.

Superación de la interfase aire-tejido

En este estudio, se observó que la transferencia es mejor en el aire o sobre superficies secas que en solución salina. Esto se puede mimetizar en tiempo real creando la interfase aire-tejido mediante la utilización simultánea de dióxido de carbono, ya que el dióxido de carbono se disuelve rápidamente en el plasma y reduce la posibilidad de embolia. En el pasado, el dióxido de carbono fue utilizado para angioscopia aunque sin demasiado éxito. (39)

Limitaciones

Este estudio presenta una observación inicial interesante y una técnica novedosa. Los hidrogeles pueden usarse de manera similar en lugar del CMA. Estos hidrogeles tienen baja viscosidad y en la actualidad no están disponibles comercialmente. El concepto con CMA es, sin embargo, interesante, costo-efectivo, y disponible en inyecciones con aguja. La baja viscosidad física del CMA y las propiedades del marco de aplicación permitieron la transferencia del compuesto y su adaptación al método de aplicación con pincel. Se necesitan más estudios con CMA, hidrogeles y el adhesivo Gecko para demostrar sus efectos. El CMA de baja viscosidad se vaporiza y produce tráqueo-bronquitis por inhalación en los trabajadores de la investigación. La histotoxicidad de los productos de degradación del CMA como cianoacetona y formaldehído indican cautela respecto de su uso. (40) Por lo tanto, el análisis de un hidrogel adecuado con propiedades mecánicas similares sería mejor. El presente es un estudio *in vitro* y es necesario llevar a cabo estudios en animales con

CMA e hidrogeles de baja viscosidad con compuestos conjugados para su observación y validación.

CONCLUSIÓN

La transferencia de CMA de baja viscosidad curado por luz ultravioleta sobre las superficies internas y externa del corazón es potencialmente factible y podría utilizarse para la futura transferencia de factores de crecimiento o moléculas proteicas sobre la superficie del corazón.

Agradecimiento

Este estudio está dedicado a José Luis Guerrero, Massachusetts General Hospital.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses. (Véanse formularios de conflicto de intereses de los autores en la web/ Material suplementario).

BIBLIOGRAFÍA

- Mishra SR, Sharma BC, Kumar A, Sarin SK. Primary prophylaxis of gastric variceal bleeding comparing cyanoacrylate injection and beta-blockers: a randomized controlled trial. *J Hepatol.* 2011;54:1161-7. <http://doi.org/cvxqmqz>
- Grimaud JC, Munoz-Bongrand N, Siproudhis L, Abramowitz L, Sénéjoux A, Vitton V, et al; Groupe d'Etude Thérapeutique des Affections Inflammatoires du Tube Digestif. Fibrin glue is effective healing perianal fistulas in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2010;138:2275-81, 2281.e1. <http://doi.org/csvdwdk>
- Seewald S, Brand B, Groth S, Omar S, Mendoza G, Seitz U, et al. Endoscopic sealing of pancreatic fistula by using N-butyl-2-cyanoacrylate. *Gastrointest Endosc.* 2004;59:463-70. <http://doi.org/drw3b9>
- Yellapu RK, Gorthi JR, Kiranmayi Y, Sireesh I. Endoscopic occlusion of idiopathic benign esophago-bronchial fistula. *J Postgrad Med.* 2010;56:284-6. <http://doi.org/ck3r7c>
- Tan YM, Goh KL, Kamarulzaman A, Tan PS, Ranjeev P, Salem O, et al. Multiple systemic embolisms with septicemia after gastric variceal obliteration with cyanoacrylate. *Gastrointest Endosc.* 2002;55:276-8. <http://doi.org/b7fp9k>
- Türlér A, Wolff M, Dorlars D, Hirner A. Embolic and septic complications after sclerotherapy of fundic varices with cyanoacrylate. *Gastrointest Endosc.* 2001;53:228-30. <http://doi.org/fvfvz6>
- Maslov MY, Edelman ER, Pezone MJ, Wei AE, Wakim MG, Murray MR, et al. Myocardial drug distribution generated from local epicardial application: potential impact of cardiac capillary perfusion in a swine model using epinephrine. *J Control Release.* 2014; 194:257-65. <http://doi.org/f6nffz4>
- Piliero N, Thony F, Vanzetto G, Barone-Rochette G. Gluing of an Aortic Perforation During Transcatheter Aortic Valve Replacement. *JACC Cardiovasc Interv.* 2015;8:2037-8. <http://doi.org/ccq2>
- Shimaoka M, Xiao T, Liu JH, Yang Y, Dong Y, Jun CD, et al. Structures of the alpha L I domain and its complex with ICAM-1 reveal a shape-shifting pathway for integrin regulation. *Cell.* 2003;112:99-111. <http://doi.org/fh2s39>
- Kotovuori A, Pessa-Morikawa T, Kotovuori P, Nortamo P, Gahmberg CG, et al. ICAM-2 and a peptide from its binding domain are efficient activators of leukocyte adhesion and integrin affinity. *Journal of Immunology.* 1999;162: 6613-20.
- Geiger C, Nagel W, Boehm T, van Kooyk Y, Figdor CG, Kremmer E, et al. Cytohesin-1 regulates beta-2 integrin-mediated adhesion through both ARF-GEF function and interaction with LFA-1. *The EMBO Journal.* 2000;19: 2525-36. <http://doi.org/cdtxp8>

12. Dimitri A Stepanenko. Modeling of spraying with time-dependent material feed rate. *Applied Mathematical Modelling*. 2007; 31:2564-76. <http://doi.org/fwfxnd>
13. Mehdizadeh M, Yang J. Design Strategies and Applications of Tissue Bioadhesives. *Macromolecular bioscience*. 2013;13:271-88. <http://doi.org/fz9mwg>
14. Kendall K. Adhesion: Molecules and Mechanics. *Science*. 1994;263:1720-5. <http://doi.org/cswbhp>
15. Maeda N. Adhesion and Friction Mechanisms of Polymer-on-Polymer Surfaces. *Science*. 2002;297:379-82. <http://doi.org/fq728g>
16. Roman Z, Zofia M, Katarzyna N. Drug release from hydrogel matrices. *Ecology chemistry and engineering*. 2010;17:117-35.
17. Kumar Giri, Tapan & Kumar, Kulesh & Alexander, Amit & Badwaik, Hemant & Krishna Tripathi, Dulal. A novel and alternative approach to controlled release drug delivery system based on solid dispersion technique. *Bulletin of faculty of pharmacy* 2012;50:147-59.
18. Todd R, Hoare, Daniel S. Kohane Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer*. 2008;49:1993-2007. <http://doi.org/fmg5f8>
19. Pawar GM, Koenigs M, Fahimi Z, Cox M, Voets IK, Wyss HM. Injectable Hydrogels from Segmented PEG-Bisurea Copolymers *Biomacromolecules* 2012;13: 3966-76.
20. Hasan A, Khattab A, Islam MA, Hweij KA, Zeitouny J, Waters R, et al. Injectable Hydrogels for Cardiac Tissue Repair after Myocardial Infarction. *Adv. Sci*. 2015;2:2198-3844. <http://doi.org/f3cs6m>
21. Tous E, Purcell B, Ifkovits JL, Burdick JA. Injectable acellular hydrogels for cardiac repair. *J Cardiovasc Transl Res*. 2011;4:528-42. <http://doi.org/d6vs5t>
22. Zhu H, Jiang X, Li X, Hu M, Wan W, Wen Y, et al. Intramyocardial delivery of VEGF165 via a novel biodegradable hydrogel induces angiogenesis and improves cardiac function after rat myocardial infarction. *Heart Vessels*. 2016;31:963-75. <http://doi.org/f8qs3>
23. Larsen BE, Bjørnstad J, Pettersen EO, Tønnesen HH, Melvik JE. Rheological characterization of an injectable alginate gel system. *BMC Biotechnol*. 2015;15:29. <http://doi.org/f7hh62>
24. Tan H, Marra KG. Injectable, Biodegradable Hydrogels for Tissue Engineering Applications. *Materials* 2010;3:1746-67. <http://doi.org/dkgrr2>
25. King DR, Bartlett MD, Gilman CA, Irschick DJ, Crosby AJ, et al. Creating Gecko-Like Adhesives for "Real World" Surfaces. *Advanced Materials*. 2014;26: 4345-51.
26. Chu NSH, Tai CL. An efficient brush model for physically-based 3D painting. 10th Pacific Conference on Computer graphics and applications, Proceedings, 2002: 413-21.
27. Baxter WV, Lin MC. A Versatile Interactive 3D Brush Model, Proceedings of the Computer Graphics and Applications, 12th Pacific Conference, p.319-28, October 06-08, 2004.
28. Nair DP, Podgórski M, Chatani S, Gong T, Xi W, Fenoli CR, et al. The Thiol-Michael Addition Click Reaction: A Powerful and Widely Used Tool in Materials Chemistry. *Chemistry of Materials*. 2014;26:724-44.
29. Prasath RA, Gokmen MT, Espeel P, Du Prez FE. Thiol-ene and thiol-yne chemistry in microfluidics: a straightforward method towards macroporous and nonporous functional polymer beads. *Polym Chem*. 2010;1: 685-92.
30. Janeway's Immunobiology, 8th edition: "pattern recognition by cells of the innate immunity system", capítulo 3 pág 83.
31. Kelley Britton Keys, Fotios M. Andreopoulos, and Nikolaos A. Peppas. A star-PEG-heparin hydrogel platform to aid cell replacement therapies for neurodegenerative diseases. *Macromolecules* 1998;31: 8149-56.
32. Gonzalez AL, Gobin AS, West JL, McIntire LV, Smith CW. Integrin interactions with immobilized peptides in polyethylene glycol diacrylate hydrogels. *Tissue Eng*. 2004;10:1775-86.
33. Angulo A, Sebastián I, Martínez FJ, Torregrosa R, Martín-Martínez JM, et al. Comparative Effectiveness of Cyanoacrylate Bioadhesives and Monofilament Suture in Wound Healing: A Histopathological and Physicochemical Study in New Zealand White Rabbit. *J Cytol Histol*. 2016;7:395.
34. Moretti Neto RT, Mello I, Moretti AB, Robazza CR, Pereira AA. In vivo qualitative analysis of the biocompatibility of different cyanoacrylate-based adhesives. *Braz Oral Res*. 2008;22: 43-7.
35. Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nature Medicine*. 2015;21:677-87.
36. García JR, Clark AY, García AJ. Integrin-specific hydrogels functionalized with VEGF for vascularization and bone regeneration of critical-size bone defects. *J Biomed Mater Res A*. 2016;104:889-900.
37. Artzi N, Shazly T, Baker AB, Bon A, Edelman ER. Aldehyde Amine Chemistry Enables Modulated Biosealants with Tissue-Specific Adhesion. *Advanced Materials*. 2009; 21:3399-403.
38. Mahdavi A, Ferreira L, Sundback C, Nichol JW, Chan EP, Carter DJ, et al. A biodegradable and biocompatible gecko-inspired tissue adhesive. *PNAS*. 2008;105:2307-12.
39. Miskolczi L, Flaherty JD, Guterman LR, Hopkins LN. Carbon dioxide column angiography: a new endovascular imaging technique. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2001;22:1849-53.
40. Shalaby SW, Burg KJL, editors. *Absorbable and Biodegradable Polymers*. CRC Press; Boca Raton: 2004. p. 59.