
REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT

Nou material medical pe bază de adeziv tisular folosit pentru obținerea hemostazei

Doctorand: **Alexandru ILIE-ENE**

Conducător de doctorat: **Prof. Dr. George Călin DINDELEGAN**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT

Cuprins

INTRODUCERE	1
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	4
1. Hemoragia și hemostaza	5
2. Materialele hemostatice	9
3. Cianoacriilații cu aplicabilitate medicală.....	21
4. Aplicabilitățile bio-medicale ale acidului polilactic	25
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	29
Scop și obiective.....	30
1. Studiul 1. Adezivi cianoacrilici utilizați pentru hemostază topică – o analiză sistematică.....	31
1.1. Introducere	31
1.2. Obiective.....	31
1.3. Material și metodă.....	31
1.4. Rezultate	36
1.5. Discuții.....	47
1.6. Concluzii.....	48
2. Studiul 2. Sistem de fibre polimerice inoculate cu adeziv tisular pe bază de cianoacrilat: o alternativă hemostatică inovatoare	49
2.1. Introducere	49
2.2. Material și metodă.....	50
2.3. Rezultate și Discuții	53

2.4. Concluzii.....	71
3. Studiul 3. Analiza in-vivo a noului material hemostatic pe bază de cianoacrilat: eficiența și biocompatibilitatea.....	73
3.1. Introducere.....	73
3.2. Material și metodă	73
3.3. Rezultate	78
3.4. Discuții.....	95
3.5. Concluzii.....	98
Concluzii generale.....	99
Originalitatea și contribuțiile inovative ale cercetării doctorale	101
REFERINȚE	103
ANEXE	111

Cuvinte cheie: Cianoacrilat, Acid Polilactic, Material Hemostatic, Sintetic, Resorbabil

LISTA DE PUBLICAȚII

Articole publicate *in extenso* ca rezultat al cercetării doctorale

1. Ilie-Ene, A., Eșanu, V., Făgărășan, V., Toșa, V. P., & Dindelegan, G. C. (2023). Cyanoacrylate Adhesives Used for Topical Hemostasis A Systematic Review. *Chirurgia* (Bucharest, Romania : 1990), 118(6), 596–608. <https://doi.org/10.21614/chirurgia.2023.v.118.i.6.p.596>. *ISI Factor de impact JCR₂₀₂₃ – 0.8 (studiu cuprins în capitolul 1)*.
2. Ilie-Ene, A., Tosa, V. P., Gherman, L.-M., Pop, R. M., Hantig, L.-M., Popa, C. O., & Dindelegan, G. C. (2025). New Biocompatible Cyanoacrylate and Polylactic Acid Hemostatic Patch: An In Vivo Proof of Concept Study. *Materials*, 18(6), 1271. <https://doi.org/10.3390/ma18061271>. *ISI Factor de impact JCR₂₀₂₄ – 3.2 (studiu cuprins în capitolul 3)*.

- Ilie-Ene, A., Tosa, V. P., Gherman, L. M., Hantig, L. M., Onofrei, M. M., Mocan, L. P., Miha, C. M., Popa, C. O., & Dindelegan, G. C. (2025). In Vivo Biocompatibility Assessment of a Novel Cyanoacrylate–Polylactic Acid Hemostatic Patch. *Materials*, 18(15), 3581. <https://doi.org/10.3390/ma18153581>. <https://doi.org/10.3390/ma18153581>. *ISI Factor de impact JCR₂₀₂₄ – 3.2 (studiu cuprins în capitolul 3)*.

INTRODUCERE

Această cercetare abordează problema critică a controlului hemoragiilor, care reprezintă o cauză majoră a mortalității globale, prin dezvoltarea și testarea unui nou material hemostatic. În cadrul proiectului de cercetare am creat un dispozitiv compus dintr-un adeziv pe bază de cianoacrilat (CA) aplicat pe un substrat de acid polilactic (PLA) fabricat prin tehnica de electrospinning. Testat in-vivo pe un model de hemoragie hepatică la șobolani și comparat cu metode standard (electrocauter și pansamentul TachoSil®), noul material s-a dovedit superior în oprirea rapidă a sângerării, reducerea pierderilor sangvine și a inflamației inițiale. Cu toate acestea, studiile pe termen lung au relevat dezavantaje, incluzând o rată crescută de formare a abceselor tardive și un răspuns de corp străin mai pronunțat, indicând că, deși eficient în faza acută, materialul prezintă provocări legate de biocompatibilitatea pe termen lung.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Hemoragia reprezintă o cauză majoră de deces prevenibil în traume și o complicație severă în chirurgie, fiind asociată cu o mortalitate crescută și spitalizări prelungite. Când procesul fiziologic de hemostază este insuficient, devine necesară intervenția medicală prin aplicarea unor materiale hemostatice adjuvante.

Materialele hemostatice sunt concepute pentru a controla rapid sângerarea la nivel local. Acestea se clasifică în polimeri naturali (chitosan, colagen), polimeri sintetici (cianoacrilat) și materiale anorganice (zeolit). Mecanismele lor de acțiune variază de la concentrarea fizică a componentelor sanguine prin absorbție rapidă a plasmii, la activarea biochimică a cascadei de coagulare și formarea unei bariere mecanice care sigilează leziunea. Cu toate acestea, agenții actuali prezintă limitări, precum eficacitate redusă în hemoragiile severe, riscuri de siguranță (reacții imune la produsele biologice, citotoxicitate la cele sintetice) și aderență deficitară la țesuturi. Cercetarea actuală se concentrează pe dezvoltarea de materiale multifuncționale, cu proprietăți antibacteriene și regenerative, utilizând nanotehnologia și tehnici avansate de fabricație pentru a depăși aceste provocări.

Doi polimeri de interes major sunt cianoacriilații (CA) și acidul polilactic (PLA). Cianoacriilații sunt adezivi sintetici puternici, a căror biocompatibilitate este superioară la variantele cu lanț alchilic lung (ex: 2-octil-cianoacrilatul), deoarece se degradează mai lent și eliberează mai puțini produși toxici. Sunt excelenți pentru menținerea în contact a marginilor plagilor cutanate și embolizare vasculară, dar utilizarea lor internă este limitată de riscul de inflamație și formare de aderențe. În contrast, acidul polilactic (PLA) este un polimer versatil, biodegradabil și biocompatibil, care se descompune în acid lactic, un produs natural al organismului. Datorită acestor proprietăți, PLA este utilizat pe scară largă în suturi absorbabile, implanturi ortopedice și ca schelă în ingineria tisulară.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Studiul 1: Adezivi cianoacrilici utilizați pentru hemostază topică – o analiză sistematică

Scop / Obiective: Scopul a fost de a evalua, a rezuma și a compara studiile care au cercetat capacitățile hemostatice topice ale adezivilor pe bază de CA sau ale altor materiale hemostatice care au fost comparate cu aceștia. De asemenea, ne-am propus să sintetizăm o concluzie generală în acest sens.

Material și metode: Această analiză sistemică a evaluat proprietățile hemostatice topice ale CA, respectând ghidurile PRISMA 2020 și metodologia PICO. Criteriile de Eligibilitate au inclus studii pe subiecți umani sau animale care utilizau CA strict pentru hemostază topică, excluzând utilizările pentru embolizare sau scleroterapie. S-au analizat doar articole în limba engleză, publicate în ultimii 10 ani (2013-2023). Strategia de Căutare a vizat 4 baze de date majore (PubMed, Scopus, Embase și Web of Science) și s-a concentrat pe titluri și rezumate pentru cuvinte-cheie relevante. În Procesul de Selecție, doi cercetători au examinat independent textele, ajungând la un total de 42 de articole eligibile. Datele extrase s-au concentrat pe timpul de obținere a hemostazei și pe tipul de CA utilizat. Sinteza datelor a fost descriptivă (fără meta-analiză), din cauza eterogenității mari a studiilor incluse. Evaluarea riscului de părtinire a fost realizată cu instrumente specifice (Cochrane RoB 2, ROBIS) pentru a asigura calitatea informației.

Rezultate: Această analiză sistematică a inclus 42 de studii (revizui, trialuri clinice, experimentale și rapoarte de caz) pentru a evalua eficacitatea CA ca agenți hemostatici topici. Rezultatele confirmă că CA opresc rapid sângerarea prin formarea unei bariere fizice, fiind superiori tehnicilor convenționale sau altor materiale în multe situații. Studiile clinice au demonstrat că CA reduc timpul operator și alți parametri negativi (ex. volumul drenajului). Studiile experimentale au validat eficiența tehnicilor inovatoare de aplicare (ex. electrospinning in-situ) și a variantelor elastice de CA.

Concluzii: Deși practica medicală actuală încă nu a identificat un material hemostatic perfect, studiile au confirmat că CA sunt agenți eficienți în realizarea hemostazei topice

pentru o mare varietate de plăgi. Dacă cercetările viitoare vor reuși să depășească limitările minore pe care acești compuși le prezintă în prezent, materialele pe bază de CA au potențialul de a deveni un element cheie și de referință în domeniul hemostazei.

Studiu 2. Sistem de fibre polimerice inoculate cu adeziv tisular pe bază de cianoacrilat: o alternativă hemostatică inovatoare

Scop / Obiective: Fabricarea și testarea preliminară a pansamentului hemostatic CA + PLA.

Material și metode: Membranele de PLA, care servesc drept suport, au fost fabricate prin electrospinning la diferite concentrații pentru a obține o structură fibroasă optimă. Suporturile fizice necesare pentru manipularea și testarea pansamentelor (cutii de depozitare și cleme speciale) au fost realizate prin imprimare 3D din PLA. Producția pansamentului activ a implicat injectarea adezivului CA în membranele de PLA. Pentru a preveni polimerizarea prematură a adezivului, substraturile au fost tratate prealabil cu gaz de dioxid de sulf (SO₂) ca inhibitor, în condiții inerte. Pansamentele au fost caracterizate prin Microscopie Electronică de Baleaj (SEM) pentru a le evalua morfologia și prin Spectroscopie FT-IR pentru a le determina stabilitatea chimică. În final, s-a efectuat o testare preliminară in vivo pe un model de șobolan cu leziune hepatică. Aceste teste au confirmat capacitatea de adeziune a pansamentului la țesutul parenchimos, folosind cleme de tracțiune special concepute.

Rezultate: Analiza a trei concentrații de PLA prin SEM a arătat că soluția de 10% PLA oferă cea mai bună structură fibroasă, selectată ca substrat optim. Tratamentul cu gaz de SO₂ a funcționat eficient ca inhibitor, menținând CA activ timp de până la o săptămână, fiind confirmat de FT-IR. Testele de adeziune pe ficatul de șobolan au demonstrat o forță de lipire superioară rezistenței țesutului însuși. Cel mai important, testarea in vivo preliminară pe modelul de rezecție hepatică a obținut hemostaza rapid, în aproximativ 15 secunde.

Concluzii: În concluzie, s-a fabricat cu succes un pansament PLA-CA cu stabilitate chimică prelungită și capacități hemostatice in vivo excepționale.

Studiul 3. Analiza in-vivo a noului material hemostatic pe bază de cianoacrilat: eficiența și biocompatibilitatea

Scop / Obiective: Caracterizarea in-vivo a performanței și a profilului de biocompatibilitate pentru un nou agent hemostatic pe bază de CA + PLA.

Material și metode: Acest studiu a evaluat noul material hemostatic CA + PLA pe un model standardizat de lacerăție hepatică la 36 de șobolani. Subiecții au fost împărțiți în trei grupuri pentru hemostază: Control (electrocauter), Studiu (CA + PLA) și TachoSil® (pansament standard). Performanța hemostatică a fost măsurată prin cronometrarea timpului necesar pentru a obține hemostaza totală (TTH) și prin estimarea pierderii de sânge (pe baza nivelului de hemoglobină). Biocompatibilitatea a fost evaluată pe termen

lung (până la 150 de zile) prin sacrificări eşalonate. S-a analizat reacția inflamatorie sistemică (leucocite, TNF- α , IL-6) și s-a efectuat analiza histopatologică a țesutului hepatic vindecat pentru a verifica gradul de inflamație, fibroză și resorbabilitate. Datele au fost supuse unei analize statistice riguroase, utilizând teste adecvate (ANOVA, Kruskal-Wallis) pentru a compara grupurile.

Rezultate: Noul pansament pe bază de CA + PLA a demonstrat o viteză de obținere a hemostazei superioară pe un model de lacerare hepatică la șobolani. Timpul median pentru oprirea sângerării (TTH) a fost de 94 de secunde pentru CA + PLA, fiind semnificativ mai rapid atât față de electrocauterizare (256 s), cât și față de pansamentul standard TachoSil® (120 s). Hemostaza mai rapidă a fost corelată și cu o pierdere de sânge mai mică (nivel postoperator mai bun al hemoglobinei). În ceea ce privește biocompatibilitatea, pansamentul standard TachoSil® a declanșat un răspuns inflamator sistemic mai puternic (creșteri semnificative ale citokinelor IL-6 și TNF- α), un efect care nu a fost observat în grupurile CA + PLA și Control. Cu toate acestea, evaluarea histopatologică pe termen lung a dezvăluit dezavantaje majore pentru noul pansament CA + PLA. Deși a fost cel mai rapid, acesta a indus o reacție cronică de corp străin mult mai pronunțată și a crescut semnificativ riscul de fibroză colagenică (încapsulare, 79% din cazuri) și de apariție a abceselor tardive (28,6% din cazuri) la locul aplicării. În contrast, TachoSil® a promovat o vindecare mai fiziologică (fără fibroză sau abcese) și o mai bună maturare vasculară, sugerând că performanța hemostatică ultra-rapidă a pansamentului CA + PLA vine cu un compromis în procesul de vindecare cronică a țesutului.

Concluzii: Pansamentul inovator pe bază de CA + PLA demonstrează o performanță hemostatică ridicată. Reacțiile inflamatorii induse sunt modeste și nu compromit viabilitatea sau procesele de regenerare tisulară. Totuși, compoziția și integrarea sa pe termen lung necesită investigații suplimentare.

CONCLUZII GENERALE

Deși căutarea materialului hemostatic perfect continuă în practica medicală, compușii pe bază de CA se dovedesc a fi o soluție promițătoare, iar depășirea limitărilor actuale le-ar putea consolida rolul cheie în oprirea sângerărilor.

În acest context, pe parcursul cercetării de față am dezvoltat un nou pansament performant. Am stabilind că un substrat fibros de calitate superioară se poate obține prin tehnica de electrospinning dintr-o concentrație optimă de 10% a PLA. Inovația principală a constat în procedeul tehnologic de producție și ambalare a noului pansament. Utilizarea dioxidului de sulf pentru a stabiliza adezivul cianoacrilic și ambalarea pansamentului CA + PLA în condiții inerte au prelungind semnificativ durata de valabilitate, asigurând o aderență excelentă.

Noul pansament pe bază de CA + PLA s-a dovedit a fi un agent hemostatic eficient, ale cărui efecte inflamatorii minore nu împiedică vindecarea țesuturilor. Cu toate acestea, sunt necesare cercetări suplimentare pentru a determina compoziția optimă și analiza în detaliu integrarea sa în organism pe termen lung.

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE CERCETĂRII DOCTORALE

Originalitatea prezentei cercetări doctorale rezidă în conceperea și sinteza unui material hemostatic compozit inovator, bazat pe o arhitectură care integrează un adeziv tisular de tip cianoacrilat cu un substrat polimeric biodegradabil, acidul polilactic. Această asociere specifică reprezintă o premieră în literatura de specialitate, nefiind descrisă anterior.

Contribuția fundamentală a acestei abordări constă în depășirea unei limitări majore a adezivilor cianoacrilici convenționali, a căror priză instantanee (prin picurare sau pulverizare) împiedică orice ajustare post-aplicare. Noul sistem hemostatic-adeziv introduce o fereastră temporală controlată, de câteva zeci de secunde, necesară polimerizării, oferind astfel chirurgului o maleabilitate intraoperatorie esențială, permițând re poziționarea sau îndepărtarea precisă a pansamentului.

Inovația se extinde asupra întregului flux tehnologic, de la selecția riguroasă a acidului polilactic ca matrice optimă pentru cianoacrilat, până la protocolul de sinteză și condiționare a produsului final, fiecare etapă contribuind la unicitatea și noutatea acestei cercetări.

SUMMARY OF THE DOCTORAL THESIS

**A novel hemostatic
material based on a
medical-grade tissue
adhesive**

PhD Candidate: **Alexandru ILIE-ENE**

PhD Supervisor: **Prof. Dr. George Călin DINDELEGAN**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS OF THE DOCTORAL THESIS

Contents

INTRODUCTION.....	1
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	4
1. Hemorrhage and hemostasis	5
2. Hemostatic materials.....	9
3. Cyanoacrylates with medical applicability	21
4. Bio-medical applications of polylactic acid.....	25
PERSONAL CONTRIBUTION	29
Aim and objectives.....	30
1. Study 1. Cyanoacrylate Adhesives Used for Topical Hemostasis – A Systematic Review	31
1.1. Introduction.....	31
1.2. Objectives	31
1.3. Material and method	31
1.4. Results.....	36
1.5. Discussion.....	47
1.6. Conclusions.....	48
2. Study 2. Polymeric Fiber System Inoculated with Cyanoacrylate-Based Tissue Adhesive: An Innovative Hemostatic Alternative	49
2.1. Introduction.....	49

2.2.	Material and method	50
2.3.	Results and Discussion	53
2.4.	Conclusions.....	71
3.	Study 3. In-Vivo Analysis of the New Cyanoacrylate-Based Hemostatic Material: Efficacy and Biocompatibility	73
3.1.	Introduction.....	73
3.2.	Material and method	73
3.3.	Results.....	78
3.4.	Discussion.....	95
3.5.	Conclusions.....	98
	General conclusions	99
	Originality and innovative contributions of the doctoral research.....	101
	REFERENCES.....	103
	APPENDICES	111

Keywords: Cyanoacrylate, Polylactic Acid, Hemostatic Material, Synthetic, Resorbable

LIST OF PUBLICATIONS

Articles published in extenso as a result of the doctoral research

1. Ilie-Ene, A., Eşanu, V., Făgărăşan, V., Toşa, V. P., & Dindelegan, G. C. (2023). Cyanoacrylate Adhesives Used for Topical Hemostasis A Systematic Review. *Chirurgia* (Bucharest, Romania: 1990), 118(6), 596–608. <https://doi.org/10.21614/chirurgia.2023.v.118.i.6.p.596>. *ISI Factor de impact JCR₂₀₂₃ – 0.8 (studiu cuprins în capitolul 1)*.

2. Ilie-Ene, A., Tosa, V. P., Gherman, L.-M., Pop, R. M., Hantig, L.-M., Popa, C. O., & Dindelegan, G. C. (2025). New Biocompatible Cyanoacrylate and Polylactic Acid Hemostatic Patch: An In Vivo Proof of Concept Study. *Materials*, 18(6), 1271. <https://doi.org/10.3390/ma18061271>. *ISI Factor de impact JCR₂₀₂₄ - 3.2 (studiu cuprins în capitolul 3)*.
3. Ilie-Ene, A., Tosa, V. P., Gherman, L. M., Hantig, L. M., Onofrei, M. M., Mocan, L. P., Mihiu, C. M., Popa, C. O., & Dindelegan, G. C. (2025). In Vivo Biocompatibility Assessment of a Novel Cyanoacrylate–Polylactic Acid Hemostatic Patch. *Materials*, 18(15), 3581. <https://doi.org/10.3390/ma18153581>. <https://doi.org/10.3390/ma18153581>. *ISI Factor de impact JCR₂₀₂₄ - 3.2 (studiu cuprins în capitolul 3)*.

INTRODUCTION

This research addresses the critical problem of hemorrhage control, a major cause of global mortality, by developing and testing a new hemostatic material. Within the research project, we created a device composed of a cyanoacrylate (CA)-based adhesive applied to a polylactic acid (PLA) substrate manufactured using the electrospinning technique. Tested in-vivo on a rat model of hepatic hemorrhage and compared with standard methods (electrocautery and the TachoSil® patch), the new material proved superior in rapidly stopping bleeding, reducing blood loss, and minimizing initial inflammation. However, long-term studies revealed disadvantages, including an increased rate of late abscess formation and a more pronounced foreign body response, indicating that, although effective in the acute phase, the material presents challenges related to long-term biocompatibility.

CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

Hemorrhage represents a major cause of preventable death in trauma and a severe complication in surgery, being associated with increased mortality and prolonged hospitalizations. When the physiological process of hemostasis is insufficient, medical intervention becomes necessary through the application of adjuvant hemostatic materials.

Hemostatic materials are designed to rapidly control bleeding at a local level. They are classified into natural polymers (chitosan, collagen), synthetic polymers (cyanoacrylate), and inorganic materials (zeolite). Their mechanisms of action range from the physical concentration of blood components through rapid plasma absorption, to the biochemical activation of the coagulation cascade, and the formation of a mechanical barrier that seals the lesion. However, current agents have limitations, such

as reduced effectiveness in severe hemorrhages, safety risks (immune reactions to biological products, cytotoxicity to synthetic ones), and poor tissue adhesion. Current research focuses on developing multifunctional materials with antibacterial and regenerative properties, using nanotechnology and advanced manufacturing techniques to overcome these challenges.

Two polymers of major interest are cyanoacrylates (CA) and polylactic acid (PLA). Cyanoacrylates are powerful synthetic adhesives whose biocompatibility is superior in variants with a long alkyl chain (e.g., 2-octyl-cyanoacrylate), as they degrade more slowly and release fewer toxic products. They are excellent for holding the edges of skin wounds together and for vascular embolization, but their internal use is limited by the risk of inflammation and adhesion formation. In contrast, polylactic acid (PLA) is a versatile, biodegradable, and biocompatible polymer that decomposes into lactic acid, a natural product of the body. Due to these properties, PLA is widely used in absorbable sutures, orthopedic implants, and as a scaffold in tissue engineering.

PERSONAL CONTRIBUTIONS

Study 1: Cyanoacrylate adhesives used for topical hemostasis – a systematic review

Aim / Objectives: The aim was to evaluate, summarize, and compare studies that investigated the topical hemostatic capabilities of CA-based adhesives or other hemostatic materials compared with them. We also aimed to synthesize a general conclusion on this topic.

Material and methods: This systematic review evaluated the topical hemostatic properties of CA, adhering to PRISMA 2020 guidelines and the PICO methodology. Eligibility criteria included studies on human or animal subjects using CA strictly for topical hemostasis, excluding uses for embolization or sclerotherapy. Only articles in English published in the last 10 years (2013-2023) were analyzed. The Search Strategy targeted 4 major databases (PubMed, Scopus, Embase, and Web of Science) and focused on titles and abstracts for relevant keywords. In the Selection Process, two researchers independently screened the texts, resulting in a total of 42 eligible articles. Extracted data focused on the time to hemostasis and the type of CA used. The data synthesis was descriptive (no meta-analysis) due to the high heterogeneity of the included studies. The risk of bias was assessed using specific tools (Cochrane RoB 2, ROBIS) to ensure information quality.

Results: This systematic review included 42 studies (reviews, clinical trials, experimental studies, and case reports) to evaluate the efficacy of CAs as topical hemostatic agents. The results confirm that CAs rapidly stop bleeding by forming a physical barrier, being superior to conventional techniques or other materials in many

situations. Clinical studies have shown that CAs reduce operative time and other negative parameters (e.g., drainage volume). Experimental studies have validated the effectiveness of innovative application techniques (e.g., in-situ electrospinning) and elastic CA variants.

Conclusions: Although current medical practice has not yet identified a perfect hemostatic material, studies have confirmed that CAs are effective agents in achieving topical hemostasis for a wide variety of wounds. If future research succeeds in overcoming the minor limitations these compounds currently present, CA-based materials have the potential to become a key and reference element in the field of hemostasis.

Study 2. Polymeric fiber system inoculated with cyanoacrylate-based tissue adhesive: an innovative hemostatic alternative

Aim / Objectives: Fabrication and preliminary testing of the CA + PLA hemostatic patch.

Material and methods: The PLA membranes, serving as a substrate, were fabricated by electrospinning at different concentrations to obtain an optimal fibrous structure. The physical support needed for handling and testing the patches (storage boxes and special clamps) were made by 3D printing from PLA. The production of the active patch involved injecting the CA adhesive into the PLA membranes. To prevent premature polymerization of the adhesive, the substrates were pre-treated with sulfur dioxide (SO₂) gas as an inhibitor under inert conditions. The patches were characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM) to evaluate their morphology and by FT-IR Spectroscopy to determine their chemical stability. Finally, a preliminary in-vivo test was performed on a rat model with a liver injury. These tests confirmed the patch's adhesion capacity to parenchymal tissue using specially designed traction clamps.

Results: SEM analysis of three PLA concentrations showed that the 10% PLA solution provided the best fibrous structure, which was selected as the optimal substrate. The SO₂ gas treatment worked effectively as an inhibitor, keeping the CA active for up to a week, as confirmed by FT-IR. Adhesion tests on rat liver demonstrated a bonding strength superior to the tissue's own resistance. Most importantly, the preliminary in-vivo testing on the hepatic resection model achieved hemostasis rapidly, in about 15 seconds.

Conclusions: In conclusion, a PLA-CA patch with prolonged chemical stability and exceptional in-vivo hemostatic capabilities was successfully fabricated.

Study 3. In-vivo analysis of the new cyanoacrylate-based hemostatic material: efficacy and biocompatibility

Aim / Objectives: In-vivo evaluation of the performance and biocompatibility of a novel hemostatic agent based on CA + PLA.

Material and methods: This study evaluated the new CA + PLA hemostatic material on a standardized liver laceration model in 36 rats. The subjects were divided into three groups for hemostasis: Control (electrocautery), Study (CA + PLA), and TachoSil® (standard patch). Hemostatic performance was measured by timing the total time to hemostasis (TTH) and by estimating blood loss (based on hemoglobin levels). Biocompatibility was assessed long-term (up to 150 days) through staggered sacrifices. The systemic inflammatory reaction (leukocytes, TNF- α , IL-6) was analyzed, and histopathological analysis of the healed liver tissue was performed to check the degree of inflammation, fibrosis, and resorbability. The data were subjected to rigorous statistical analysis using appropriate tests (ANOVA, Kruskal-Wallis) to compare the groups.

Results: The new CA + PLA-based patch demonstrated superior speed in achieving hemostasis on a rat liver laceration model. The median time to stop bleeding (TTH) was 94 seconds for CA + PLA, significantly faster than both electrocautery (256 s) and the standard TachoSil® patch (120 s). Faster hemostasis also correlated with lower blood loss (better postoperative hemoglobin level). Regarding biocompatibility, the standard TachoSil® patch triggered a stronger systemic inflammatory response (significant increases in cytokines IL-6 and TNF- α), an effect not observed in the CA + PLA and Control groups. However, long-term histopathological evaluation revealed major disadvantages for the new CA + PLA patch. Although it was the fastest, it induced a much more pronounced chronic foreign body reaction and significantly increased the risk of collagenous fibrosis (encapsulation, 79% of cases) and the occurrence of late abscesses (28.6% of cases) at the application site. In contrast, TachoSil® promoted more physiological healing (without fibrosis or abscesses) and better vascular maturation, suggesting that the ultra-fast hemostatic performance of the CA + PLA patch comes at the cost of a compromised chronic tissue healing process.

Conclusions: The innovative CA + PLA-based patch demonstrates high hemostatic performance. The induced inflammatory reactions are modest and do not compromise tissue viability or regeneration processes. However, its long-term composition and integration require further investigation.

GENERAL CONCLUSIONS

Although the search for the perfect hemostatic material continues in medical practice, CA-based compounds are proving to be a promising solution, and overcoming their current limitations could solidify their key role in stopping bleeding.

In this context, during this research, we have developed a new high-performance patch. We established that a high-quality fibrous substrate can be obtained via the electrospinning technique from an optimal concentration of 10% PLA. The main innovation was the technological process for producing and packaging the new patch.

The use of sulfur dioxide to stabilize the cyanoacrylate adhesive and the packaging of the CA + PLA patch under inert conditions significantly extended its shelf life, ensuring excellent adherence.

The new CA + PLA-based patch proved to be an effective hemostatic agent whose minor inflammatory effects do not impede tissue healing. However, further research is needed to determine the optimal composition and to analyze its long-term integration into the body in detail.

ORIGINALITY AND INNOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE DOCTORAL RESEARCH

The originality of this doctoral research lies in the design and synthesis of an innovative composite hemostatic material, based on an architecture that integrates a cyanoacrylate-type tissue adhesive with a biodegradable polymer substrate, polylactic acid. This specific combination is a first in the specialized literature and has not been previously described.

The fundamental contribution of this approach consists in overcoming a major limitation of conventional cyanoacrylate adhesives, whose instantaneous setting (by dripping or spraying) prevents any post-application adjustment. The new hemostatic-adhesive system introduces a controlled time window, of several tens of seconds, necessary for polymerization, thus offering the surgeon essential intraoperative malleability, allowing for precise repositioning or removal of the patch.

The innovation extends to the entire technological workflow, from the rigorous selection of polylactic acid as the optimal matrix for the cyanoacrylate, to the protocol for synthesis and conditioning of the final product, with each step contributing to the uniqueness and novelty of this research.