

## **AValiação DA HISTOXICIDADE E DE ALTERAÇÕES HEPÁTICAS APÓS O USO DO ETIL-CIANOACRILATO E N-BUTIL-CIANOACRILATO EM CAMUNDONGOS**

**ANCIUTI, Andreia Nobre<sup>1</sup>; FELIX, Anelize de Oliveira Campello<sup>2</sup>; MUELLER, Eduardo Negri<sup>2</sup>; GRECCO, Fabiane Borelli<sup>3</sup>; NOBRE, Márcia de Oliveira<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária; <sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-Graduação; <sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas, Doutor Departamento de Patologia Animal; <sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas, Doutor Departamento de Clínicas Veterinária; (e-mail: andreianciuti@hotmail.com)

### **1 INTRODUÇÃO**

O uso de adesivos teciduais tem se tornado uma prática comum, em procedimentos cirúrgicos. Estes adesivos são bastante utilizados para fechamento de feridas principalmente, pelo fato de ser um método indolor, rápido, de fácil execução, e proporcionam mínima cicatriz (MATTICK, 2002).

A utilização do cianoacrilato como adesivo tecidual apresenta algumas vantagens relevantes, tais como: atividade hemostática (EKLUND e KENT, 1974) bacteriostática, fácil aplicação, maior segurança, consome menos tempo durante os procedimentos cirúrgicos e apresenta custo baixo em relação aos materiais de sutura usados nas técnicas convencionais (HUNTER, 1976), embora já tenham sido demonstrado histotoxicidade (TORIUMI et al., 1991). Porém limitações ainda existem exigindo pesquisas e observações no que diz respeito à toxicidade dos adesivos (MAIA et al., 2002).

Derivados mais antigos, que possuem cadeias laterais curtas, como o etil-cianoacrilato, que contém dois carbonos em suas cadeias laterais, degradam-se rapidamente em cianoacetato e formaldeído, que são tóxicos, acumulam-se nos tecidos (TROTT, 1997). O adesivo n-butil-cianoacrilato (Vetbond<sup>®</sup>) é um composto de cadeia longa que sofre degradação mais lenta, resultando em menor toxicidade (WATTÉ et al., 2004). Este adesivo tem sido muito usado na medicina veterinária como auxiliar para a aproximação de tecidos em cortes superficiais, esfoliações, remoção de unhas, extrações de dentes, entre outros (ISHIZAKI et al., 2005).

Devido à crescente utilização destes adesivos a base de cianoacrilato em cirurgias humanas e veterinárias, este estudo objetivou avaliar a toxicidade hepática e cutânea dos adesivos etil-cianoacrilato e n-butil cianoacrilato em camundongos.

### **2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)**

Foram utilizados 84 camundongos da linhagem *Swiss albino*, com 60 dias de idade e peso em média de 30 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Os animais foram mantidos de acordo com as normas de bem estar animal, durante o período experimental de 45 dias, sendo dividido aleatoriamente em três grupos, cada um com 28 animais. O grupo A tratado com adesivo etil-cianoacrilato (Super Bonder<sup>®</sup>), o grupo B com adesivo n-butil cianocrilato (Vetbond<sup>®</sup>) e o grupo C com náilon monofilamentar 5-0.

No dia 0, todos os animais foram submetidos ao protocolo anestésico com atropina 0,04 mg/kg e anestesia por associação de quetamina (15mg/kg) e xilazina

(3mg/kg) por via intramuscular (SCHANAIDER E SILVA, 2004). Foi realizada tricotomia com auxílio de máquina na área central do dorso e antissepsia do campo operatório com álcool 70% e realização de incisão de 3cm, em sentido longitudinal em relação ao corpo do animal, na região dorsal e o tecido conjuntivo foi divulsionado lateralmente. No grupo A foram depositadas 15 gotas de adesivo a base de etil-cianoacrilato no tecido subcutâneo e no grupo B, foram depositadas 15 gotas de adesivo a base de n-butil-cianoacrilato. A síntese das margens cirúrgicas, em ambos grupos foram feitas com sutura do tipo contínua utilizando náilon monofilamentar 5-0. No grupo C foi realizada apenas a síntese com fio de náilon monofilamentar 5-0. Em nenhum dos grupos foi realizada limpeza das feridas cirúrgicas durante o experimento.

Foi realizada eutanásia de sete animais de cada grupo nos dias 7, 15, 30 e 45, seguindo recomendações da Resolução nº714, de 20 de junho de 2002 do CFMV. Para avaliação do metabolismo hepático foram coletadas amostras de sangue sem anticoagulante para dosagens de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina. As amostras foram acondicionadas em microtubos de 2 ml e centrifugadas para a extração do soro, que foi congelado a -20°C e posteriormente analisadas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA - Canoas), através de método cinético-colorimétrico em aparelho espectrofotômetro, utilizando kits ALT/GTP Liquiform<sup>®</sup> AST/GOT Liquiform<sup>®</sup>, Fosfatase Alcalina Liquiform<sup>®</sup> da Labtest Diagnóstica S/A<sup>®</sup>. Ao final do experimento todos os animais foram necropsiados, sendo coletado o fígado e pele do local da incisão para estudo histopatológico. Os órgãos foram fixados em formol a 10% e posteriormente cortados com 5 micras de espessura e corados por hematoxilina e eosina e visualizados em microscópio 400x no Laboratório de Histoquímica da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas. Na análise histopatológica buscou-se avaliar resposta inflamatória celular e a presença de lesões relacionadas à toxicidade como necrose hepática, hepatite, necrose profunda das camadas da pele ou processos inflamatórios acentuados e profundos no tecido subcutâneo.

A análise estatística foi realizada por comparação entre as médias dos níveis das enzimas de cada grupo em cada dia de coleta utilizando o teste Kruskal-Wallis.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas análises realizadas neste experimento, não foram observadas lesões indicativas de toxicidade frente ao uso dos adesivos testados. Porém, foi possível observar diferença na resposta entre os grupos.

Na avaliação bioquímica, os níveis de fosfatase alcalina permaneceram dentro dos valores fisiológicos (66-262UI/L) o conforme citado por Thrall (2007) durante todo o período avaliado, apresentando as seguintes médias nos grupos A, B e C, respectivamente, aos 7 dias, 160,3; 185 e 167,9 UI/L, 15 dias, 178; 178,5 e 167,7 UI/L, aos 30 dias com 66,3; 67,2 e 68,7 UI/L e 45 dias com 70,3; 92 e 94,1UI/L, não demonstrando diferença significativa entre os grupos durante o experimento.

Aos 30 dias, houve uma diminuição significativa ( $p=0,039$ ) dos níveis de ALT (fig.1) nos grupos tratados com etil-cianoacrilato (grupo A) e n-butil cianoacrilato (grupo B), respectivamente com os seguintes valores médios 46,2 e 56,5 UI/L quando comparada ao grupo controle (76,6 UI/L). Os resultados obtidos até os 30

dias no exame histopatológico da pele foram caracterizados pela ausência ou presença de infiltrado inflamatório discretos com predominância de polimorfonucleados.

Aos 45 dias ocorreu uma elevação significativa ( $p=0,0391$ ) da ALT nos tratamentos com etil-cianoacrilato (grupo A) e n-butil cianoacrilato (grupo B) em relação ao grupo controle, com as seguintes médias 58,1; 62,9 e 47 UI/L. Na análise histopatológica da pele aos 45 dias, o grupo A (etil-cianoacrilato) e grupo B (n-butil-cianoacrilato) apresentaram reação inflamatória de grau moderado com infiltrado inflamatório predominantemente de células polimorfonucleares (neutrófilos) quando comparado ao grupo controle que não apresentou resposta celular. Neste estudo, não foram encontradas alterações indicativas de toxicidade a nível cutâneo, o mesmo observado por Saska et al.(2009) ao comparar o uso dos adesivos etil-cianoacrilato e butil-cianoacrilato com o náilon monofilamentar na reparação de incisões em dorso de ratos, e após 120 dias não foram observadas alterações cutâneas indicativas de histotoxicidade. Foi demonstrado que o adesivo etil-cianoacrilato promoveu uma reação inflamatória de menor intensidade no tecido subcutâneo de ratos quando comparada a resposta obtida pelo butil-cianoacrilato durante 65 dias.

As variações observadas nos valores de ALT aos 30 e 45 dias podem ser atribuídas a resposta cicatricial diferente destes adesivos em relação ao grupo controle. Desta forma sugerindo que a diminuição desta enzima pode estar relacionada a baixa resposta inflamatória observada no exame histopatológico da pele até os 30 dias. No entanto, a elevação enzimática observada aos 45 dias demonstra uma resposta celular mais intensa, como consequência de um infiltrado inflamatório maior, como observado no histopatológico. Os níveis séricos de AST no tratamento do n-butil cianoacrilato (grupo B) também aumentaram com médias 130,3 e 267,7UI/L diferindo significativamente do grupo controle, com 79,6 UI/L. Embora a AST esteja distribuída em outros tecidos, como músculo esquelético e cardíaco, esta enzima está presente em maior quantidade a nível hepático (THRALL, 2007). Com isso, o aumento dos níveis de AST pode estar relacionado com a elevação de ALT aos 45 dias, como uma resposta inflamatória maior ao dano celular causado pelo tratamento com o adesivo n-butil cianoacrilato. Porém estas alterações nos níveis de ALT e AST, não são indicativas de toxicidade, pois não foram observadas no exame histopatológico hepático presença de necrose (SUPPERS, 1973). Estes resultados foram similares ao obtidos por Samet et al., (2006) em estudo da toxicidade do n-butil-2-cianocrilato, onde não foram observadas alterações indicativas de toxicidade nos valores de ALT, AST, proteína total, amilase e bilirrubinas, assim como na análise histopatológica hepática durante o período de 65 dias.

#### **4 CONCLUSÃO**

Através dos resultados obtidos neste experimento concluímos que o uso de até 15 gotas dos adesivos etil-cianoacrilato e n-butil cianoacrilato no tecido subcutâneo de camundongos não foram tóxicos ao metabolismo e o padrão histopatológico no fígado, rins e pele no período de 45 dias.

#### **5 AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq pelo financiamento do projeto 481605/2010-0. A CAPES pelo apoio financeiro.

## 6 REFERÊNCIAS

MATTICK, A. Use of tissue adhesives in the management of pediatric lacerations. **Emergency Medicine Journal**. v.19, p.382-5, 2002.

EKLUND, M.K.; KENT, J.N. The use of isobutyl 2 cyanoacrylate as a postextraction dressing in humans. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**. v. 32, p. 264-268, 1974.

HUNTER, K.M. Cyanoacrylate tissue adhesive in osseous repair. **British Journal Oral Surgery**. v. 14, n. 1, p. 80-6, 1976.

TORIUMI, D.M. et al. Variable histotoxicity of Histoacryl when used in a subcutaneous: an experimental study. **Laryngoscope**, v.101, p.339-343, 1991.

MAIA CC, CRUZ FILHO M, ABRAHÃO S, BAPTISTA SILVA JCC, GOMES PO, SOUFEN MA, NOVO NF, JULIANO Y. Efeitos do etil-cianoacrilato na parede venosa de cães. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.17, n.7, p.234-265, 2002.

TROTT, A.T. Cyanocrylate tissue adhesives: an advance in wound care. **Journal of the American Medical Association**, v. 277, n. 19, p. 1559-60, 1997

WATTÉ, C.M.; ELKS, R.; MOORE, D.L.; MOORE, D.L.; McLELLAN, G.J. Clinical experience with butyl-2-cyanoacrylate adhesive in the management of canine and feline corneal disease. **Veterinary Ophthalmology**, Gainesville, v. 7, p. 319-326, 2004.

ISHIZAKI, M.M.; FERREIRA, A.M.R., JUNIOR, E.S.; JÚNIOR, A.N.; FILHO, F.M. O n-butil cianoacrilato na lobectomia pulmonar parcial em felinos. Estudo experimental. **Ciência Rural**, v.35, n.1, p.109-115, 2005.

SCHANAIDER, A., SILVA, P.C. Uso de animais em cirurgia experimental. **Acta Cirurgica Brasileira**. v. 19, n. 4, p. 441-7, 2004.

THRALL, M.A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007.

SASKA, S.; GASPAR, A.M.; VIEIRA, E.H. **Adesivos à base de cianoacrilato para síntese de tecido mole**. Anais Brasileiro de Dermatologia. v.84, n.6, 2009

SUPPERS, L., FOGLEMAN R. Acute oral toxicity in rats with DEPEND, Princeton, NJ, **Affiliated Medical Research Inc**, 1973

SAMET, I.; NERGIZ Y.; CEVAT N.; TOLGA G.; SAMSUN, T. Biochemical and histopathological findings of N-Butyl-2- Cyanoacrylate in oral surgery: an experimental study. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology Endodontics**; v.102; p.14-17, 2006.