

RESPOSTA INFLAMATÓRIA CAUSADA PELAS FRAÇÕES DO ADESIVO DE GELATINA-RESORCINA E FORMALDEÍDO (COLAGEL[®]) EM CAMUNDONGOS

INFLAMMATORY REACTION CAUSED BY THE FRACTIONS OF THE ADHESIVE COMPOSED OF GELATIN RESORCINE AND FORMALDEHYDE (COLAGEL[®]) IN MICE

Andressa Gianotti Campos¹ Cássio Ricardo Auada Ferrigno² João Paulo Boccia³
José Guilherme Xavier⁴

RESUMO

Diante de relatos de intensa reação inflamatória após a aplicação cirúrgica do adesivo biológico COLAGEL[®] em tecidos orgânicos, realizou-se a aplicação isolada das frações do adesivo (gelatina-resorcina, formaldeído, cola polimerizada no local e cola polimerizada imediatamente antes da aplicação) em grupos distintos de camundongos, com o objetivo de identificar a fração responsável por tal processo. Através da avaliação dos cortes histológicos, notou-se que os grupos que receberam apenas o formaldeído e a cola polimerizada *in situ* foram dotados de alto grau de infiltrado inflamatório, com dissociação de fibras musculares e necrose tecidual. O grupo que recebeu apenas a gelatina-resorcina revelou discreta infiltração polimorfonuclear, o mesmo ocorrendo com o uso da cola previamente polimerizada, o que permitiu concluir que a fração do COLAGEL[®] responsável pela grande reação inflamatória foi o polimerizante formaldeído, e que o modo mais conveniente de utilização do produto seria sua prévia polimerização.

Palavras-chave: adesivo, inflamação, camundongos.

SUMMARY

The use of glue for biological purposes has been under study for a long time, an example is the adhesive composed of gelatin-resorcine and formaldehyde (COLAGEL[®]). The inflammatory reaction produced by the application of the adhesive on organic tissues encouraged the search for the component of the glue responsible for this reaction. Thus, the application of several fractions of the referred adhesive (gelatin-resorcine, formaldehyde, polymerized glue *in situ* and polymerized glue before the application) was accomplished in different groups of mice in the following periods: 2, 10, 30 and 60

days after surgery. Through the evaluation of histological sections, it was observed that all the groups presented, with different degrees of intensity, inflammatory polimorfonuclear infiltrate with a predominance of neutrophils. The group which received only the formaldehyde was the one that expressed a greater tissue reaction with a great amount of inflammatory infiltrate, dissociation of muscle fibers, angiogenesis and fibrosis. There was also great amount of infiltrate as a reaction to the polymerization *in situ*, adding to it intense fibrogenesis of the deep dermis and hypoderm, together with the degeneration of myocytes and extensive areas of tissue necrosis. The group that received only the gelatin-resorcine revealed discrete polimorfonuclear infiltration, the same results occurred after the use of the glue previously polymerized. Therefore, the fraction of the COLAGEL[®] responsible for the greater inflammatory reaction was the polymerizing formaldehyde when it was applied to the tissue alone or polymerized *in situ*. The polymerization before the application turns the COLAGEL[®] less irritating to the tissue, therefore, this is the most convenient way of utilization.

Key words: adhesive, inflammation, mice.

INTRODUÇÃO

A cirurgia veterinária, em sua busca constante pelo aperfeiçoamento, tem especial atenção voltada para novos procedimentos que sejam adjutórios às técnicas cirúrgicas clássicas. Um exemplo é o emprego da cola de gelatina-resorcina e formaldeído (GRF) em substituição aos tradicionais fios cirúrgicos como reforço das suturas clássicas (LAUS *et*

¹Médico veterinário autônomo, Ru Bergamota, 322, apto.111, 05468-000, São Paulo-SP. E-mail: andressacampos@uol.com.br Autor para correspondência.

²Professor Adjunto I, Departamento de Patologia e Clínica Cirúrgicas, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Paulista.

³Professor Assistente, Departamento de Patologia e Clínica Cirúrgicas, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Paulista.

⁴Professor Adjunto II, Departamento de Patologia Geral e Especial, Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Paulista.

al., 1992; FERRIGNO *et al.*, 1995). Trabalho de BRAUNWALD & TATOOLES (1965) ressaltou que as diferentes substâncias que compunham o GRF poderiam causar reações indesejáveis nos tecidos, por vários motivos, entre elas a aplicação errônea do formaldeído diretamente sobre as estruturas orgânicas. Existem controvérsias sobre qual das frações do adesivo causa as reações inflamatórias exuberantes, visto que, estudo conduzido por FERRIGNO *et al.* (1995), em esôfago de coelhos, demonstrou reação de hipersensibilidade do tipo I, iniciando aos 10 dias, e mostrando maior exsudato inflamatório após 30 dias de aplicação da cola, quando o adesivo está, possivelmente, em fase de degradação.

O propósito desta pesquisa foi avaliar a reação inflamatória causada pelo gel, pelo polimerizante, pela cola polimerizada *in situ* e pela cola polimerizada antes de sua aplicação, a fim de elucidar qual fração do adesivo é mais irritativa, e qual o melhor método de utilização da cola

MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento utilizou o adesivo biológico COLAGEL^{®a} composto de gelatina-resorcina, polimerizado por solução de formaldeído a 9,25%. Foram utilizados 48 camundongos machos, adultos, distribuídos em quatro grupos de doze animais (GI, GII, GIII e GIV), que corresponderam aos indivíduos que receberam, respectivamente, a aplicação subcutânea de gelatina-resorcina, polimerizante formaldeído, gelatina-resorcina e formaldeído polimerizados *in situ* e cola polimerizada imediatamente antes de sua aplicação.

Os animais foram anestesiados com éter inalável e a anti-sepsia do campo operatório foi realizada com álcool a 70%. Após diérese de, aproximadamente, um centímetro de comprimento no dorso e divulsão do tecido subcutâneo com tesoura romba, foi colocada a fração do adesivo conforme o grupo: GI - gelatina-resorcina, GII - polimerizante formaldeído, GIII - cola polimerizada no local da incisão, GIV - cola polimerizada previamente. Findados esses tempos cirúrgicos, foram confeccionados dois pontos simples separados na pele com náilon 2-0 encastoados de fábrica.

Para a avaliação dos fenômenos inflamatórios, foram realizados estudos aos dois, 10, 30 e 60 dias de pós-operatório, respectivamente para a observação das fases exsudativas, proliferativas e de maturação do processo cicatricial, em cada três animais dos grupos I a IV (LODOVICI, 1974).

Cada grupo de 12 animais (GI, GII, GIII e GIV) foi avaliado segundo critérios clínicos como a

observação diária das lesões, aspecto cicatricial da síntese cirúrgica, deiscência dos pontos confeccionados, grau de inflamação no local da lesão (hiperemia local, tecido de granulação e sensibilidade elevada) além do estado geral dos camundongos como prostração e anorexia. A avaliação pós-eutanásia considerou as alterações macro e microscópicas do campo cirúrgico, sendo este processado pela técnica rotineira de inclusão em parafina, em cortes histológicos de 4 μ de espessura, corados por hematoxilina-eosina (HE).

RESULTADOS

Decorridas algumas horas do ato cirúrgico, a sensibilidade local, em todos os animais, parecia estar elevada, tornando-se aparentemente normal no dia seguinte. A retirada dos pontos foi feita após sete dias de cirurgia, com exceção daqueles eutanasiados aos dois dias de pós-operatório. Nesse caso, a retirada foi realizada por ocasião da necropsia. Dentro dos grupos GI (gelatina-resorcina), GIII (cola polimerizada *in situ*) e GIV (cola polimerizada previamente) não foi observada deiscência de pontos, enquanto que o grupo GII (apenas formaldeído) apresentou dois casos, um deles aos cinco dias de pós-operatório e outro aos seis dias.

Após dois dias de pós-operatório, todos os grupos apresentaram aumento de volume local, com discreta hiperemia e produção de exsudato. Ao 7^o dia, havia formação crostosa sobre o local da aplicação em todos os grupos, mais exuberante no grupo GIII (cola polimerizada *in situ*), a qual se desfez por completo, por volta do 30^o dia. Aos 10 dias de pós-operatório, já não havia mais o aumento de volume, mas a hiperemia ao redor da crosta ainda estava presente. Passados 60 dias da cirurgia, o aspecto da lesão de todos os grupos era de completa resolução, com pequena cicatriz fibrosa no local da diérese. No grupo GII (apenas polimerizante formaldeído), discreta rarefação pilosa persistia no local.

Durante todo o período pós-cirúrgico, não se observou anorexia, nem distúrbios comportamentais como hiperexcitação ou prostração. A avaliação necroscópica iniciou-se após conveniente abertura da região do implante. Nos animais com dois dias de pós-operatório, pode-se observar presença de exsudato e formação de hematoma, ocorrido pelo recente trauma cirúrgico, de mesma intensidade em todos os grupos. Ao 10^o dia, o hematoma já estava ausente, mas o exsudato tornava-se mais intenso, principalmente no GIII (cola polimerizada *in situ*), grupo onde foi possível observar áreas escuras de necrose tecidual. Decorridos 30 dias, o exsudato estava em menor quantidade em todos os grupos. Ao 60^o dia,

foi possível observar, nos grupos em geral, apenas ligeiro aumento de volume e alteração de cor, delimitando a área cirúrgica.

A avaliação histopatológica aos dois dias de pós-operatório demonstrou que os animais dos grupos GI (gelatina-resorcina) e GIV (cola polimerizada previamente) apresentaram infiltrado inflamatório polimorfonuclear discreto (+) com predominância de neutrófilos na derme profunda, hipoderme e musculatura subcutânea. O grupo GIII (polimerizado *in situ*) apresentou moderada resposta inflamatória (+++) com predominância de polimorfonucleares (neutrófilos). O grupo GII (apenas polimerizante formaldeído) apresentou intenso infiltrado inflamatório (++++) também polimorfonuclear com predominância neutrofilica (Figura 1).

Ao 10^o dia, a intensidade do infiltrado se manteve nos respectivos grupos. Teve início a angiogênese, discreta nos grupos I e III (+) e moderada nos grupos II e IV (++) (Figura 2). Também foi possível notar intensa fibrogênese na derme profunda e hipoderme no grupo III, sendo mais discreta nos outros grupos. O grupo III apresentava ainda degeneração de miócitos e áreas de necrose.

Ao 30^o dia, os animais de GI apresentavam áreas de fibrose na musculatura e infiltrado celular em menor quantidade que aos 10 dias (Figura 3A). Os animais do grupo GII mantinham a intensidade de seu infiltrado, levando à dissociação das fibras musculares, angiogênese e fibrose. Ainda neste grupo, foi possível observar acúmulo de adipócitos no campo (Figura 3B). Os grupos GIII e GIV tinham fibrose elevada, com deposição de colágeno e hialinização das fibras musculares (Figura 4).

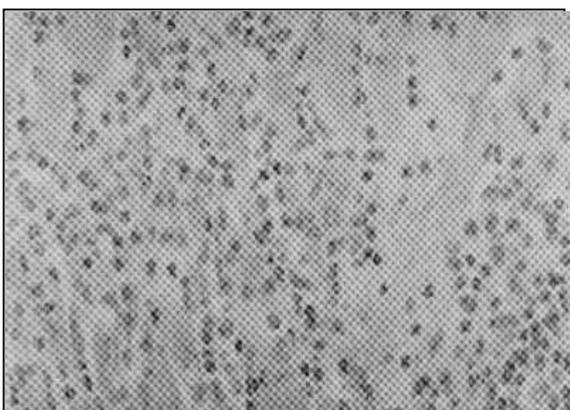


Figura 1 – Fotomicrografia de corte histológico de pele de camundongo do Grupo II (polimerizante formaldeído), aos dois dias de pós-operatório: notar intenso infiltrado inflamatório polimorfonuclear entre fibras musculares. H.E. (Obj. 40x).

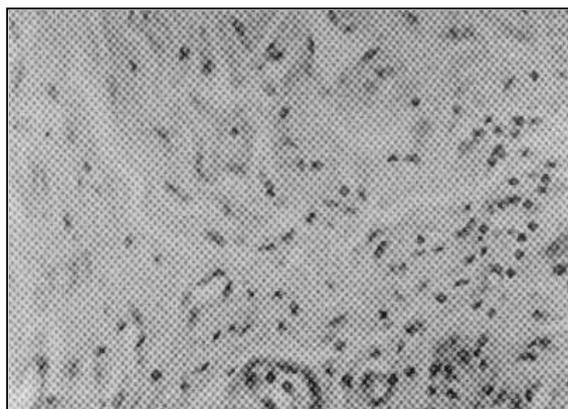


Figura 2 – Fotomicrografia de corte histológico de pele de camundongo do grupo IV (cola polimerizada previamente), aos 10 dias de pós-operatório: infiltrado inflamatório discreto na hipoderme. H.E. (Obj. 40x).

Por fim, ao 60^o dia de pós-operatório, o grupo GI apresentava, em hipoderme, discreto infiltrado inflamatório misto, com predomínio de plasmócitos. No grupo GII, foi possível observar presença de infiltrado misto moderado e neovascularização intensa na derme profunda e hipoderme, havendo também dissociação de fibras musculares. O grupo GIII apresentou no local, deposição de colágeno intensa, aparentemente maior do que nos outros grupos. O grupo GIV apresentou discretas neovascularização e deposição de colágeno na derme profunda, com presença de mononucleares, em especial plasmócitos, ao redor do material.

DISCUSSÃO

A notável incidência de reação tecidual consequente ao uso de adesivos biológicos motivou a realização desta investigação que comparou a resposta inflamatória gerada pelas diversas frações do Colagel®. Foram utilizados camundongos, por se tratarem de animais de fácil obtenção e manutenção, e devido à exigência de pequena área de pele para o manuseio no atual experimento.

LAURIAN *et al.* (1977) trabalharam com o adesivo de gelatina resorcina e formaldeído, com solução polimerizante na proporção de 9,25% de formaldeído e 25% de glutaraldeído e avaliaram suas propriedades em cirurgias vasculares. Apesar das reações inflamatórias advindas da utilização do formaldeído como agente polimerizante, reportaram que a proposição era segura para esse fim. WEINSCHLBAUN *et al.* (1992) também obtiveram êxito ao empregarem-no em 59 pacientes com disseções aórticas. Resultados de estudos do emprego do material no reforço de reparações aórticas,

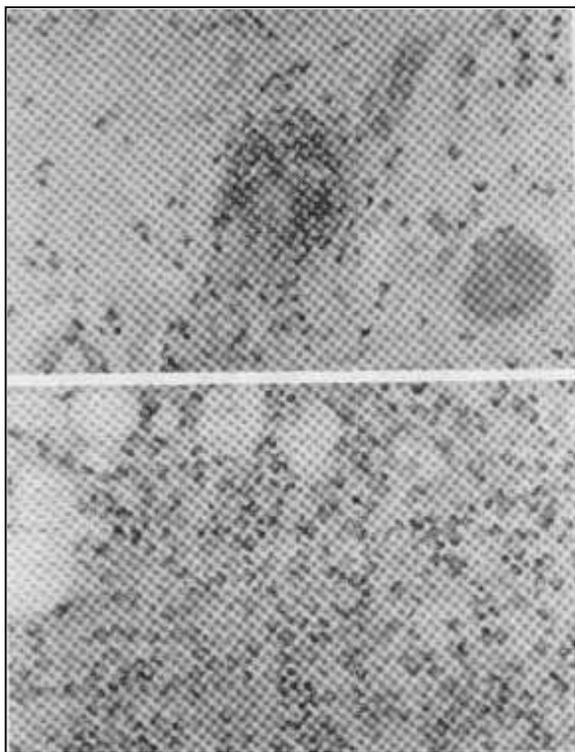


Figura 3 - Fotomicrografias de corte histológico de pele de camundongo, aos 30 dias de pós-operatório. **A**, Agregação celular predominantemente polimorfonuclear circunscrita ao redor da gelatina em animal do grupo GI (gelatina-resorcina). **B**, Infiltrado inflamatório intenso na derme profunda em animal do grupo GII (polimerizante formaldeído). H.E. (Obj. 40x).

realizados por BACHET *et al.* (1990) em 105 pacientes, mostraram-se similares. Esses resultados, no tocante ao quadro inflamatório, não se ajustam ao que foi observado na pesquisa ora desenvolvida. Os animais que receberam apenas a fração polimerizante demonstraram grande infiltrado inflamatório já nos primeiros dias de observação. Por ser o formaldeído um potente agente químico alquilante, usado comumente para propósitos de desinfecção de superfícies inanimadas, tal fato foi ressaltado por estudos anteriores de MARGARIT *et al.* (1987), em transplante de fígado em suínos, BRAUNWALD *et al.* (1966) e BRAUNWALD & TATOOLES (1965), na reparação de vasos. Os autores salientaram que a reação tecidual era determinada pelo alto poder irritante do formaldeído.

No atual estudo, aqueles camundongos que receberam a cola polimerizada no local também revelaram infiltrado inflamatório além do desejado em um processo cicatricial. A dificuldade em mensurar a quantidade de polimerizante a ser ministrada no tecido, no momento da aplicação, pode ter agra-

vado o quadro reacional desencadeado pela ação irritativa do formaldeído.

COOPER & FALD (1968) igualmente relataram quadros reacionais decorrentes do polimerizante. PORTOGHESE *et al.* (1992), em aorta abdominal de ratos, mostraram que o adesivo à base de gelatina resorcina e formaldeído produzia lesões graves junto à parede vascular, caracterizadas por intensa reação inflamatória e necrose tecidual. O mesmo quadro esteve presente neste experimento, onde, macroscopicamente, foram visíveis áreas escuras de necrose tecidual no grupo de camundongos que recebeu o adesivo polimerizado *in situ*, fato confirmado pela análise histopatológica. Já o grupo que recebeu apenas a fração de gelatina revelou menor intensidade inflamatória, o que pode ser explicado pela composição protéica da substância, de baixo poder irritativo aos tecidos.

LAUS *et al.* (1992) obtiveram resultados semelhantes ao empregarem o material em enteroanastomoses. Os achados assemelharam-se aos obtidos neste estudo, principalmente no que tange à reação inflamatória motivada pelo depósito errôneo

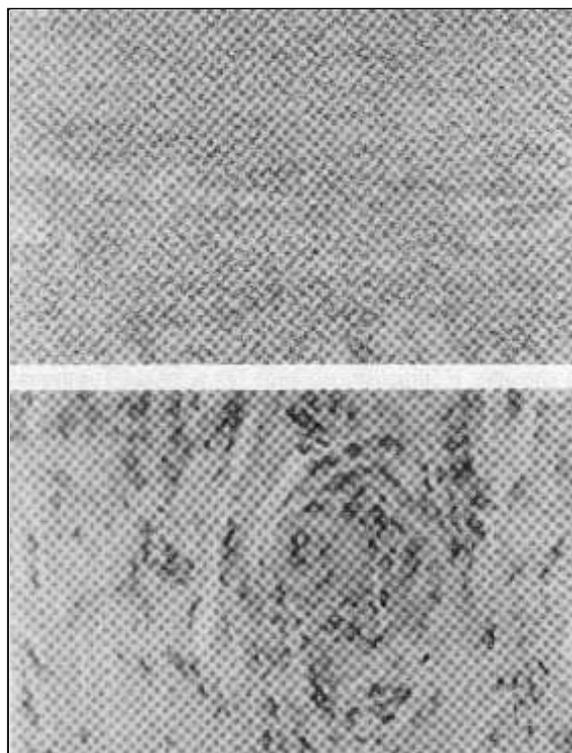


Figura 4 - Fotomicrografias de corte histológico de pele de camundongo, aos 30 dias de pós-operatório. **A**, Notar intenso infiltrado inflamatório na derme profunda e hipoderme em animal do grupo GIII (polimerização *in situ*). H.E.(Obj.10x). **B**, Agregação celular e fibrose ao redor da cola, em animal do grupo GIV (cola polimerizada previamente). H.E.(Obj. 40x)

do formaldeído diretamente sobre o tecido receptor, na polimerização da gelatina *in situ*.

Visando a minimizar os inconvenientes produzidos pela fração polimerizante, no momento da aplicação, BRAUNWALD & TATOOLES (1965) preconizaram a mistura prévia dos componentes da cola em ambiente com pH controlado (abaixo de 6), que mantém a cola líquida. Subseqüentemente, após a aplicação desta no tecido, borrija-se talco de bicarbonato de sódio, elevando-se o pH para 6,5 e, com ele, desencadeando-se a reação de polimerização. Na pesquisa aqui desenvolvida, um grupo de animais recebeu a cola previamente polimerizada e os resultados obtidos foram satisfatórios e condizentes com os autores acima. Tal grupo demonstrou inflamação discreta e ausência de necrose tecidual. Para fins práticos, ressalva-se que a polimerização prévia do produto deve ser imediata à sua utilização, visto que, decorridos alguns minutos, a cola perde sua adesividade e, portanto, sua eficácia.

Com base nos resultados clínicos e necroscópicos, pode-se concluir que a fração do COLAGEL® responsável pela grande reação inflamatória à cola foi o polimerizante formaldeído, seja na sua aplicação isolada nos tecidos, seja na polimerização *in situ*. A polimerização antes da aplicação tornou o COLAGEL® menos irritativo aos tecidos, sendo este, portanto, o modo mais conveniente de sua utilização.

FONTES DE AQUISIÇÃO

a - COLAGEL® - Laboratório Cirumédica S.A. – Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BACHET, J., GOUDOT, B., TEODORI, G., *et al.*. Surgery of type A acute aortic dissection with gelatin-resorcine-formaldehyde biological glue: a twelve year experience. **J Cardiovasc Surg**, v.31, n.3, p.263-273, 1990.
- BRAUNWALD, N.S., TATOOLES, C.J. The use of crosslinked gelatin tissue adhesive to control hemorrhage from liver and kidney. **Surg Forum**, v.16, p.345-346, 1965.
- BRAUNWALD, N.S., GAY, W., TATOOLES, C.J. Evaluation of crosslinked gelatin as a tissue adhesive and hemostatic agent: an experimental study. **Surg**, v.59, p.1024-1031, 1966.
- COOPER, C.W., FALD, R.D. Surgical adhesives. **Ann N Y Acad Sci**, v.146, p.214-224, 1968.
- FERRIGNO, C.R.A. Comparação entre os efeitos da mistura gelatina-resorcina-formaldeído (COLAGEL®) e do N-butil-2-cianoacrilato (HISTOACRYL®) na esofagoplastia cervical de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*; Linneus, 1758): estudo clínico e morfológico. **Braz J vet Res Anim Sci**, v.34, n.4, p.218-224, 1997.
- LAURIAN, C., GIGOU, F., GUILMET, D. La colle gélatine-resorcine-formaldéide en chirurgie vasculaire. **Nouv. Presse Méd.**, v.6, p.3221-3323, 1977.
- LAURIAN, C., GIGOU, F., BICAL, O *et al.*. Traitment chirurgical des dissections aortiques aigues par utilisation d'une colle biologique. **J Chir**, v.119, p.132-138, 1979.
- LAUS, J.L., MORALES, A., FERREIRA, A.L., *et al.*. Comparative evaluation of the effects of a new biological adhesive (Colagel®) on the tensile strength and healing of intestinal anastomosis. Experimental studies on dogs. **Braz J Vet Res Anim Sci**, v.29, n.1, p.83-91, 1992.
- LODOVICI, O. Cicatrização das feridas. In: CORRÊA NETO, A. **Clín Cirúr.** São Paulo: Sarvier, 1974. p.39-55.
- MARGARIT, C., MARTINEZ-IBÁÑEZ, V., LLORET, J., *et al.*. Segmental liver transplantation in pigs: use of a fibrin sealant and collagen as hemostatic agents. **Transpl Proced**, v.19, n.5, p.3835-3837, 1987.
- PORTOGHESE, M., ACAR, C., JEBARA, V., *et al.*. Altérations de la paroi vasculaire dues aux colles chirurgicales. Étude experimental. **Presse Med**, v.21, n.25, p.1145-1146, 1992.
- WEINSCHELBAUN, E.E., SCHAMUN, C., CARAMUTTI, V., *et al.*. Surgical treatment of acute type dissecting aneurysm, with preservation of the native aortic valve and use of biologic glue. Follow up to 6 years. **J Torac Cardiovasc Surg**, v.103, n.2, p.369-374, 1992.