

## Absorción del 2 – ciano – acrilato de n – butilo por la piel en ratones NMRI

---

Cañizares, M. E.<sup>1</sup>, González, B.<sup>2</sup> y Thomas, A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> MSc. Inv. Auxiliar, Dep. de Macromoléculas, Centro de Biomateriales, Universidad de La Habana, Cuba E-mail: [mari@fq.uh.cu](mailto:mari@fq.uh.cu)

<sup>2</sup> Dra., Dir del CETEX, Centro para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), Finca Tirabeque, km 1½ Carretera de Managua, C. Hab., Cuba.

<sup>3</sup> Técnico especialista en histopatología, CETEX, Centro para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), Finca Tirabeque, km 1½ Carretera de Managua, C. Hab., Cuba.

## Resumen

El 2 - ciano - acrilato de n – butilo, (CAB), es el componente principal de los adhesivos quirúrgicos para heridas cutáneas de pequeño tamaño que se expenden libremente en el mercado. Poseen múltiples ventajas: son muy reactivos, son muy estables y pueden almacenarse por largo tiempo. Recientemente se ha detectado una transformación química de este monómero y de toda la serie homóloga, que incluye a los componentes de la Cola Loca. Ocurre al contactar la piel o cualquier otro tejido biológico, lo que hace necesaria una evaluación mas completa desde el punto de vista toxicológico de estos materiales. En el presente trabajo se evaluó de forma indirecta la absorción del monómero aplicado sobre la piel y se comparó con la acrilamida común, en un experimento agudo in vivo, utilizando ratones NMRI.

En la evaluación macroscópica se encontró la aparición de zonas hemorrágicas. En la histología microscópica se evidenciaron las afectaciones hemorrágicas y mayor irritación que en la acrilamida común. Todos los resultados evidenciaron un compuesto muy tóxico que requiere una evaluación completa, que garantice, sobre todo, la salud ocupacional.

**Palabras claves:** adhesivos, cianoacrilatos, histología,

## Abstract

### *Absorption of 2 - n - butyl cyanoacrylate by mices NMRI's skin*

N butyl - cyanoacrylate is the principal component of many chirurgic adhesives for wounds over skin, with many advantages. Are very reactive, are very storage stable. Nevertheless, recently it has been detected a chemical reaction of those monomer which made necessary a more complete documentation on a toxicological point of view of those materials. In the present work it was evaluated comparatively one of this monomers over the skin of NMRI mouse. In macroscopic histology it was observed some hemorrhagic areas. Test result shown highly irritant at those level than acrylamide, takes as positive control. Those results are very important, over all, for occupational health.

**Keywords:** adhesives, cyanoacrylate, histology

## Introducción

En un estudio precedente informamos la transformación a acrilamida que experimentan los alquil cianoacrilatos al contactar material biológico,<sup>1, 2</sup>. Este hallazgo obligó a profundizar en las evaluaciones biológicas *in vivo* y a utilizar a la acrilamida como patrón de los ensayos. Para la acrilamida común se ha demostrado mediante el estudio en animales de experimentación que puede ser bien absorbida por las vías transmucosal, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, oral y dérmica. No hay estudios de la vía ocular. En ratas, la absorción oral es bastante completa, sin embargo, aplicada en piel solo se absorbe el 25 % luego de 24 horas. Debido a la circulación entero - hepática como consecuencia del metabolismo Fase III de los metabolitos biliares, la excreción fecal es mínima,<sup>3</sup>.

En un estudio en humanos, se suministró acrilamida marcada en los carbonos 1, 2 y 3 con carbono 13, mezclada con los alimentos a dosis única de 0,5; 1 o 3 mg/Kg o por vía dérmica tres dosis de 3 mg/Kg en voluntarios, machos estériles. A la dosis oral de 3 mg/Kg se monitoreó la orina mediante espectroscopia RMN <sup>13</sup>C para buscar los metabolitos derivados de la conjugación al glutatión. En el estudio se observó que en el humano se metabolizó menor cantidad por la vía de la glicidamina que en los roedores,<sup>4</sup>.

A pesar de que los adhesivos a base de 2 - ciano - acrilato de alquilo tienen un amplio uso para el sellado de heridas de la piel y hay una buena cantidad de productos en el mercado, en la bibliografía no se encontraron precedentes de ensayos que identifiquen los daños histológicos a este tejido, pues la normativa indicada no incluye este requisito,<sup>5</sup>. El presente trabajo tuvo como objetivo comprobar de modo indirecto, a través de las afectaciones histológicas la absorción para establecer el contraste con la acrilamida común.

## Materiales y métodos

Se utilizó para el estudio el 2 - ciano - acrilato de n - butilo, compuesto líquido de pureza entre 97 y 99 % producido por BIOMAT, Cuba, almacenado a 4 °C en envases de vidrio sellados, de un mL.

## Conducción del experimento "in vivo"

Para realizar los experimentos in vivo se tuvieron en cuenta las regulaciones éticas para el manejo de los animales de experimentación,<sup>6</sup> . El experimento satisfizo las exigencias para el ensayo de absorción cutánea,<sup>7</sup> .

Se utilizaron 30 ratones de la línea NMRI de siete semanas de edad, de ambos sexos, de masa corporal de  $24,8 \pm 2,2$  g para las hembras, y  $33,0 \pm 1,4$  g para los machos, procedentes de CENPALAB, Cuba, con su certificado de calidad. Fueron adaptados a las condiciones del bioterio durante 7 días previos al experimento en cajas de policarbonato (37,5 cm de largo, 21,6 cm de ancho x 14,7 cm de alto, cada una con 5 ratones de igual sexo y tratamiento), sin encamado, bajo condiciones ambientales normalizadas. Temperatura del cuarto ( $22 \pm 2$ ) °C, humedad (60-80) % y ciclo de luz (07,00-19,00 h) que se controlaron automáticamente. El agua de bebida y el alimento (EMO 1002 ALYco<sup>®</sup>, CENPALAB) se esterilizaron por autoclave, y estuvieron disponibles a libre demanda, excepto los períodos de manipulación.

Cada animal se identificó individualmente por grupo de tratamiento, sexo y consecutivo, además por cajas. Se conformaron tres grupos de trabajo, con 10 animales cada uno, (5 de cada sexo), un grupo control sin tratamiento, un grupo control positivo utilizando acrilamida a la dosis de 80 mg/Kg, según dato previo que garantiza la biodisponibilidad cuando se utiliza la vía cutánea,<sup>8</sup> y CAB a la dosis límite de 2 000 mg/Kg, propuesta por la OECD,<sup>7</sup> .

Las sustancias se aplicaron directamente sobre la piel rasurada en un área aproximada de un cm<sup>2</sup> de la región escapular y se distribuyó en una capa fina. En el caso del CAB se aplicó cada día en áreas diferentes de la misma región para evitar que la primera aplicación interfiriera la adsorción de la segunda. La dosis se fraccionó en dos, separada por 24 horas. Los animales se sacrificaron a las 24 horas de la segunda aplicación.

## Exámenes de Anatomía patológica

Todos los animales fueron sometidos a la evaluación anatomopatológica. Se examinaron y describieron para el estudio macroscópico, la superficie externa del cuerpo, todos los orificios y cavidades (craneal, torácica y abdominal) así como sus contenidos. Las muestras de piel <http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm>

fueron preservados en formol neutro al 10%, embebidos en parafina, cortadas de 4 - 6 micras y teñidas con Hematoxilina – Eosina, (H-E). Las láminas preparadas fueron descritas utilizándose un microscopio simple de luz, (Carl Zeiss, Alemania) a ciegas por un mismo patólogo.

### **Resultados y discusión**

La evaluación de la absorción por la piel es fundamental para identificar los riesgos a la manipulación de estos compuestos. Las características lipofílicas de la nueva estructura no fueron analizadas con anterioridad por otros autores, y ésta, unido a la baja masa molar del monómero, (153 UMA), son dos características que facilitan la difusión al interior de la célula. Esta idea también parece acertada si se consideran los datos precedentes del grupo de Couvreur cuando lograron introducir el monómero unido al yoduro de propidio sin daños a la membrana celular, aún cuando este marcador no lo logra por sí solo,<sup>9</sup>.

Debido a la deficiente información disponible en la literatura precedente con relación al CAB, se impuso partir de un ensayo límite, a la dosis de 2 000 mg/Kg por la vía dérmica. No se observaron síntomas adversos inmediatos en ninguno de los tres grupos en estudio, pero a las 24 horas se observó que en los animales tratados con el CAB el material tomó una coloración amarilla en el sitio de aplicación, color característico del derivado del CAB. Se observó la formación de ligeras cuarteaduras que se hicieron evidentes por la presencia de sangre sobre las ranuras. En el grupo de las hembras fueron evidentes los síntomas de dolor a la palpación. A las 48 horas se mantuvieron las afectaciones sobre la piel y el dolor a la palpación, se observó además irritabilidad en el grupo de las hembras que se puso de manifiesto en el momento de la manipulación. En los machos se pudo apreciar la aparición de piloerección. Ante estos síntomas clínicos severos, se tomó la decisión de practicar la eutanasia para evitar sufrimiento a los animales. De esta forma se cumplió con los principios éticos para el manejo de los animales de experimentación,<sup>6</sup>. El ensayo concluyó con un 100 % de supervivencia.

En la anatomía macroscópica no se encontraron lesiones evidentes en los animales tomados como control negativo o positivo. En todos los animales tratados con el CAB se observó formación de hemorragia severa en forma de sábana en la región correspondiente al velo vestibular próximo a la zona tratada. Este comportamiento es un primer indicio de que  
<http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm>

hubo absorción a través de la piel y de la acción sobre los vasos sanguíneos más cercanos al sitio de aplicación. Este resultado es muy significativo, puesto que los ensayos agudos regulados para el estudio de la absorción por vía dérmica indican periodos de 14 a 28 días debido a que la piel ofrece las mayores barreras para impedir la entrada de xenobióticos al organismo, y que se reconoce que la absorción se ve favorecida con la dilución del compuesto.

El comportamiento a solo 48 horas de la aplicación indicó que el derivado del CAB logró este proceso con gran facilidad, y coincidió con lo que ocurre con la acrilamida común,<sup>3</sup>

En la tabla 1 se dan los porcentajes de las afectaciones que se encontraron en los cortes histológicos de la piel de los animales tratados. Obsérvese, que a diferencia de lo que ocurrió a la acrilamida común, las afectaciones en el grupo de los machos fueron mayores que para las hembras cuando se aplicó el CAB. Este resultado apoya la hipótesis manejada con anterioridad de que parece haber una mayor retención del compuesto sobre este tejido en el grupo de los machos,<sup>10</sup>

En la Figura 1 y 2 se pueden apreciar algunas de las afectaciones más comunes encontradas en los animales tratados con CAB. (Ver Tabla 1 – Figura 1 – Figura 2)

El resultado macroscópico puso en evidencias la absorción del compuesto a solo 48 horas de su aplicación. El resultado histológico está indicando en primer lugar que el adhesivo que se colocó sobre la piel migró y pudo ser absorbido a su interior y que esta absorción provocó la ruptura de vasos capilares en la zona interna de la piel, a corta distancia del área de aplicación. En la actualidad se sabe que sobre la piel ocurre el primer paso del metabolismo de estos adhesivos, y que este primer metabolito tiene una elevada afinidad y tiende a formar aductos con la sangre, reacción que es exotérmica, alcanza más de 100 OC, incompatible prácticamente con cualquier material biológico. Este efecto puede ocasionar que los capilares estallen y sobrevenga la hemorragia local. El dato es muy importante y novedoso desde el punto de vista de la salud ocupacional, ya que es la forma en que puede contactar la piel de los obreros y causar las primeras afectaciones.

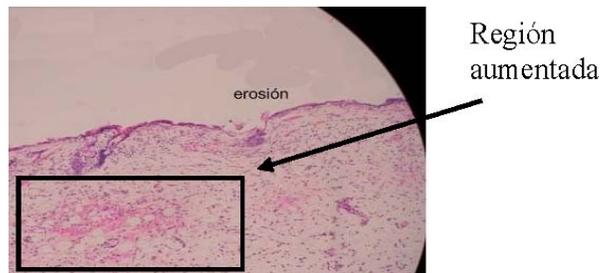
**Agradecimientos:** Al Director de CENPALAB y al resto del colectivo de trabajadores del CETEX que hicieron posible los ensayos in vivo.

**Tabla 1 Porcentaje de las lesiones más comunes encontradas en la evaluación histológica**

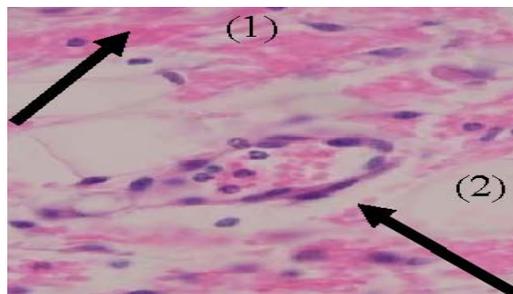
%Grupo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
(+) H	60	20	60	40	20	80	20	20	60	40	20	20	-	-	-	-	-	-
CAB H	40		100	40	60	-	-	20	40	-	-	-	60	40	-	-	20	-
(+) M	20	20	20	-	-	60	-	-	20	-	20	20	-	-	-	-	-	-
CAB M	20	80	60	20	40	20	-	80	100	20	-	-	100	20	-	20	-	20

- 1- Costras
- 2- Hiperqueratosis
- 3- Neutrófilos
- 4- Detritos celulares
- 5- Pérdida de la epidermis
- 6- Acantosis
- 7- Espongiosis
- 8- Hemorragia
- 9- Congestión
- 10- Dilatación de los vasos
- 11- Fibroblastos
- 12- Fibrocitos
- 13- Erosión
- 14- Ulceración
- 15- Depresión
- 16- Edema en el dermis
- 17- Descamación
- 18- Conexión intracelular entre queratinocitos

**Figura 1. Vista panorámica de un corte de piel de animal tratado con CAB**



**Figura 2 Aumento 40x. Obsérvese el área hemorrágica en la zona de la dermis profunda, (1), la neutrofilia, como primera línea de defensa del organismo y la dilatación del vaso capilar con congestión, (2)**



## Bibliografía

1. Cañizares M. E., Ibarra E, González R., y Bada N. Evaluación de métodos analíticos para la cuantificación de alquil - cianoacrilatos en el ambiente laboral. **Revista Cubana de Química**, Vol. XVII NO. 1 P 53, 2005.
2. Cañizares, M. E. "Evaluación crítica de la OSHA 125-56 para medición ambiental de 2 – alquil cianoacrilato". Revista Argentina de Toxicología on line, Retel, Sección de Toxicología Analítica, p 12-20, ISSN 1668-091X, 25, 04, 2008. <http://www.sertox.com.ar/modules.php?name> , 2008.
3. IPCS **INCHEN** home (pin 652), (9/10/2007)
4. Fennell, T. R. "Metabolism and haemoglobin adduct formation of acrylamide in human" Toxicol. Sci, No. 85 P 447- 459, 2005
5. ISO/10993-10 "Test for irritation and sensitization", <http://www.iso.org/iso/home> , 2002
6. ISO/10993-2 "Animal Welfare Requeriments", <http://www.iso.org/iso/home> , /04/2006
7. Acute Dermal Toxicity. **OECD** 402, 1987.
8. Rodríguez, L. "Ensayo aberración medular del folículo piloso para la evaluación genotóxica de sustancias aplicadas por vía dérmica. Trabajo de Diploma, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 1998.
9. Couvreur, P. "Polyalkylcyanoacrylates as colloidal drug carriers". Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems V5 P 1 – 20, 1988.
10. Cañizares, M. E. y otros "Cuantificación de cationes en suero de ratones NMRI tratados con acrilamida o cianoacrilato de n - butilo". Revista Argentina de Toxicología on line, Retel, Sección de Toxicología Analítica, p 12-20, ISSN 1668-091X, 25, 04, 2008. <http://www.sertox.com.ar/modules.php?name> , 2008.

**Recibido: 02/10/09**

**Aceptado: 07/10/09**