

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE SUBCRÔNICA POR FORMALDEIDEO E COMPLUCAD® EM RATOS WISTAR

Evaluation of Subchronic Toxicity Caused by Formaldehyde and Complucad® in Wistar Rats.

BARBIERI, D. F.; WISNIEWSKI, E.
WISNIEWSKI, M. S. W.; ROMAN, S. S.
CICHOTA, L. C.; DALLAGO, R. M.
CEREZER, S. M.

Recebimento: 11/03/2011 - Aceite: 06/06/2011

RESUMO: Verificar a toxicidade em ratos Wistar expostos ao formaldeideo a 10% e Complucad®, analisando-se as enzimas hepáticas alaninaaminotransferase e aspartatoaminotransferase, os tecidos pulmonar, renal e hepático, após período de exposição subcrônica. **Metodologia:** A amostra contou com 24 ratos machos adultos, da linhagem Wistar-Tecpar, divididos aleatoriamente em três grupos com oito animais cada. O Grupo Controle Negativo (G.C), não foi exposto às substâncias; O Grupo Controle Positivo (G.F) foi exposto ao formaldeideo e o Grupo Experimental (G.CP) exposto à substância Complucad®, por meio de inalação através de equipamento padrão. Os animais foram mantidos em condições normais de temperatura ($22 \pm 4^\circ\text{C}$), com fotoperíodo de 12h claro/escuro, alimentados com ração balanceada para roedores e água *ad libitum*, sendo controlado o consumo de ambos por meio de pesagem três vezes por semana. Os animais foram expostos às respectivas substâncias através de inalação durante 8 horas/dia, cinco dias por semana, por 45 dias. Após o período de exposição os mesmos foram anestesiados para coleta sanguínea, seguida de eutanásia para coleta dos tecidos. **Resultados:** O teste ANOVA a 5% indicou $p > 0,05$ tanto para o aspartato quanto para alanina. A análise histológico-microscópica, seguiu padrões utilizados pelo laboratório de histologia da URI – Erechim. Para tal foram utilizados escores de intensidade (+1/+2/+3) onde foram observados pelo teste do Qui-Quadrado de Partição, valores estatisticamente significativos entre os grupos para os tecidos: hepático ($p = 0,0025$) e renal ($p = 0,0002$). Para o tecido pulmonar, não houve diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0933$). As análises do consumo de água, ração e massa corpórea foram realizadas através do teste ANOVA a 5%, não demonstrando alteração significativa. **Conclusão:** após período de exposição subcrônica aos xenobióticos, o tecido hepático e renal do grupo exposto ao formaldeideo apresentou toxicidade mais evidente que o grupo exposto ao

Complucad[®], não havendo demonstração estatística de toxicidade a nível sanguíneo e pulmonar.

Descritores: Toxicidade. Forlmaldeídeo. Complucad[®].

ABSTRACT: The aim of this study is to verify the toxicity in Wistar rats exposed to formaldehyde at 10% and complucad[®], analyzing the hepatic enzymes alanine aminotranferase and aspartate aminotransferase and lung, kidney and liver tissues, after a subchronic period of exposition. The sample consisted of 24 male adult rats, of Wistar-Tecpar lineage, randomly divided into three groups, with eight animals each one. The Negative Control Group (G.C) was not exposed to the substances; the Positive Control Group (G.F) was exposed to formaldehyde; and the Experimental Group (G.CP) was exposed to Complucad[®]. The animals were kept under room temperature (22±4°C), in a 12-hour photoperiod, they were fed with a balanced diet for rodents and *ad libitum* water, food consumption has been controlled by weighing them three times a week. The animals were exposed to substances by inhalation during 8 hours/day, five days a week, for 45 days. After the period of exposition, the animals were anesthetized for blood collection, followed by euthanasia for tissue collection. The ANOVA Test at 5% indicated ($p > 0,05$) for both aspartate and alanine. The microscopic-histological analysis followed the standards used by the histology laboratory of URI-Erechim. Intensity Scores (+1 / +2 / +3) were used for this analysis in which was observed, through the Chi-Square of Partition test, statistically significant values between groups for the following tissues: hepatic ($p = 0,025$) and kidney ($p = 0,0002$). For lung tissue there was not statistically significant difference ($p = 0,0933$). The analysis of water consumption, diet and body mass index, was performed through ANOVA Test at 5% but it has not shown any significant change. After the subchronic exposure period to xenobiotics, the liver and kidney of the exposed group to formaldehyde showed more evident toxicity than the group exposed to Complucad[®]. It has not shown blood nor lung toxicity.

Keywords: Toxicity. Formoldehide. Complucad[®].

Introdução

O formaldeído é um produto amplamente utilizado na conservação de peças anatômicas se comparado ao Complucad[®], uma vez que é de fácil obtenção, sem embargos, e de baixo custo, porém pode ser tóxico ao ser humano quando em contato, principalmente como sistema respiratório. Apresenta um efeito secundário, quando sofre uma reação com oxigênio e luz, transformando-se em ácido fórmico, muito mais danoso, e menos efi-

ciente na conservação das peças anatômicas se comparado ao Complucad[®], que não sofre esta reação (ÁLVARES, 1999).

O formaldeído é tóxico quando ingerido, inalado ou quando entra em contato com a pele, por via intravenosa, intraperitoneal ou subcutânea. Em concentrações elevadas causa irritações. Conforme o Instituto Nacional do Câncer, o formaldeído é classificado como carcinogênico (INCA, 2010).

A solução a base de peróxidos denominada Complucad[®] tem como principal componente peróxido de metiletilcetona,

solução em ftalato de dimetilo, ainda contém álcool 70°, glicerina e aromatizante (Patente P95004771 Universidad Complutense de Madrid). Em um estudo realizado por Álvares *et. al.* (1999), comparando o Complucad® com o formaldeído na conservação de peças anatômicas, perceberam que este produto pode ser usado da mesma forma que o formaldeído, pois tem propriedade de conservar as peças com a mesma qualidade, e/ou em alguns casos superior (técnicas histoquímicas, microscopia eletrônica, imunohistoquímica, biomolecular etc).

Segundo Motta (2000) as enzimas aminotransferases estão amplamente distribuídas nos tecidos humanos e seus níveis aumentam consideravelmente nas lesões ou processos infecciosos no miocárdio, fígado, músculo esquelético, rins, pâncreas, baço, cérebro, pulmões, entre outros. Nas desordens hepatocelulares causadas por intoxicações, viroses, também há o aumento das enzimas alaninaaminotransaminase (ALT-TGP) e a aspartatoaminotransaminase (AST-TGO).

O presente estudo teve como objetivo verificar a toxicidade em ratos Wistar expostos às soluções de formaldeído a 10% e Complucad® através da análise das enzimas hepáticas alanina transferase (ALT) e aspartato transferase (ASP), bem como análise histológica dos tecidos pulmonar, renal e hepático.

Metodologia

Foram utilizados 24 ratos machos da linhagem Wistar-Tecpar, adultos, com 90 dias de idade, peso médio de 190±40g, fornecidos pelo Laboratório de Experimentação Animal da URI - Campus de Erechim. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno, sob condições de temperatura ambiente de 22±4°C, com fotoperíodo (ciclo claro/escuro) de 12/12 horas controlado pelo timer Brans-

fort®. Alimentados com ração balanceada padrão para roedores e água ad libitum, ambos foram quantificados por uma balança de precisão três vezes por semana. O período de exposição compreendeu 45 dias. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos amostrais equivalentes. O Grupo Controle (G.C) correspondeu aos animais que não foram expostos a nenhum tipo de solução de conservação; Grupo exposto ao Formaldeído (G.F); Grupo Exposto ao Complucad® (G.CP). Para exposição às devidas substâncias foi padronizado sistema composto por três caixas de vidro, cada qual destinada a um grupo. As substâncias que se encontravam em volatilização dentro de um recipiente menor, fechado e ligado às caixas de vidro por meio de uma bomba de infusão, foram liberadas durante 8 horas/dia, de segunda a sexta-feira. Para identificação da concentração do formaldeído durante a exposição dos animais, utilizou-se da cromatografia gasosa NIOSH254, aplicado pelo Laboratório Químico Ambiental de Porto Alegre/RS. A metodologia consistiu na introdução de um cassete de sílica específica acoplado a uma bomba gravimétrica por período de quatro horas no interior da caixa que acomodava os animais. Após, o referido cassete foi retirado e acondicionado em recipiente térmico para envio ao laboratório. A avaliação indicou a concentração de (1,33 ppm). Para a solução Complucad® não foi possível realizar esta análise, por se tratar de um produto experimental, para o qual não existe no Estado um método avaliativo, porém sua forma de liberação foi idêntica ao do formaldeído. Decorrido o período de exposição, os animais foram anestesiados com Zoletil® 50 IM para coleta de sangue através da punção da artéria aorta abdominal e retirada dos tecidos pulmonar, renal e hepático. O plasma sanguíneo foi extraído por meio de centrifugação, pipetado juntamente com os reagentes da LABTEST® (TGO e TGP), os quais foram analisados e quantificados por meio do aparelho semi-

automatizado Bio Plus 2000®. Os órgãos coletados foram fixados em formol a 10%, submetidos ao processamento histológico, corados com hematoxilina-eosina (H.E) para posterior análise histológica. Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente pela utilização do SPSS software estatístico v.13.0. Na análise histológica foram utilizadas variáveis específicas padrão utilizadas no laboratório de histologia da URI Campus de Erechim, para cada tecido, quantificadas de acordo com a intensidade de alteração (+1, +2, +3) e/ou ausência de alteração. O tecido que não apresentou alteração para determinada variável não foi contabilizado. Os achados histológicos foram submetidos ao teste de Kruskal Wallis para variáveis isoladas seguidos do teste de Dunn. A avaliação do total de escores para cada grupo de exposição foi complementada pelo teste Qui-Quadrado de Partição. Para análise estatística dos valores relativos às enzimas, massa corpórea, consumo de água e ração foi utilizado o teste ANOVA seguido de TUKEY, com nível de significância 5%.

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da URI - Campus de Erechim

para apreciação, tendo sua aprovação sob Protocolo N° 023/PIA/08. Foram respeitados os princípios éticos de experimentação animal estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Ciências em Animal de Laboratório (SBCAL).

Resultados e discussão

A literatura científica discute amplamente os malefícios causados pelo formaldeído em vários órgãos, entretanto, alguns estudos apresentam resultados conflitantes. Como exemplo, podemos citar o trabalho de Coon *et al.* (2008), o qual demonstrou que mudanças inflamatórias crônicas se desenvolvem no coração e rins de ratos expostos ao formaldeído através de inalação, enquanto Heck *et al.* (1985) ressaltam que em animais expostos ao formaldeído é remota a possibilidade de desencadeamento de toxicidade em sítios distantes.

Para os dados das enzimas, o teste ANOVA, a um critério, não indicou diferença estatisticamente significativa, Tabela 1.

Tabela 1 – Atividade Enzimática.

Substância	n	CONTROLE		FORMALDEIDEO		COMPLUCAD®		Valor de p		
		Média (UI)	Desvio padrão	n	Média (UI)	Desvio Padrão	n		Média (UI)	Desvio padrão
ASPARTATO	7	119,28	34,19	8	152,25	59,73	8	100,50	33,61	0,087
ALANINA	7	37,57	11,42	8	44,00	17,62	8	31,75	8,54	0,2013

Teste Anova seguido de Tukey a 5% de significância.

Segundo Motta (2000) as enzimas aminotransferases estão amplamente distribuídas nos tecidos e seus níveis aumentam consideravelmente nas lesões ou processos infecciosos bem como intoxicações e viroses. Para Kaplan *et al.* (1988), a enzima alanina é específica do tecido hepático e tem como função auxiliar no diagnóstico de doenças deste tecido, quando seus valores são elevados ou

inibidos podem indicar necrose hepatocelular ou icterícia.

Os valores da atividade enzimática encontrados em nosso estudo se mostraram muito superiores aos valores de referência encontrados em estudo realizado por Dantas *et al.* (2006), sendo para aspartato, média de 81 UI e alanina, média de 42 UI.

A análise histológica do tecido hepático baseou-se em onze variáveis, havendo alterações estatisticamente significativas entre os grupos para três delas: “dilatação sinusoidal”, “congestão vascular” e “células eosinofílicas”. Neste mesmo tecido ainda puderam ser observadas e descritas algumas

alterações no grupo exposto ao Complucad®, como presença de regeneração hepática ao redor da Veia Centro Lobular dos animais em decorrência da presença de células com formato estrelado. De maneira geral os dois grupos apresentaram uma desorganização estrutural dos hepatócitos, Tabela 2.

Tabela 2 - Avaliação histológica do tecido hepático.

PARÂMETROS	G.C			G.F			G.CP			Valor de H	Valor de p
	+1	+2	+3	+1	+2	+3	+1	+2	+3		
INTENSIDADE											
Infiltração de Célula	7			2	2		5	2		1,4289	0,4895
Vacuolização Citoplasmática	7			7			4	2		0,2335	0,8898
Células Eosinofílicas	3	3	1	1	1	6	3	2	2	6,1973	0,0451*
Hipercromatismo	1			3	1					3,2253	0,1994
Tumefação Celular	3	1		1			2			1,9281	0,3813
Congestão Vascular	7			5	3		7			6,2748	0,0434*
Dilatação Sinusoidal	1				8		3	3	1	15,2667	0,0005*
Megalocitose				3						2,1638	0,3390
Perda da Arquitetura/Necrose Celular				1			2			0,7213	0,6972
Dilatação de Veia Centrolobular				2	1		1			1,7443	0,4181
TOTAL DOS ESCORES	29	8	3	25	32	18	27	18	9	-	-
ESCORES POR GRUPO	Escore = 40			Escore = 75			Escore = 54			-	-

* Teste de Kruskal Wallis seguido de Dunn a 5% de significância.

Em estudos realizados por Rusch (1982) e Dubreuil (1976) o principal efeito identificado para o fígado foi à diminuição do peso absoluto em 26% para os ratos machos e 12% para as ratas fêmeas. Sogut *et al.* (2004) em seu estudo com ratos Wistar expostos ao formaldeído nas concentrações de zero, 10 e 20 ppm, 8 horas/dia, 5 dias/semana durante 4 semanas (exposição subaguda) avaliou os valores hepáticos de (GSH) glutationa reduzida, (MDA) malondialdeído, (NO) ácido nítrico, (XO) xantina oxidase e (MPO) mieloperoxidase, os seus resultados mostraram redução significativa da atividade do GSH e XO no tecido hepático nas exposições de zero, 10 e 20 ppm de formaldeído. Estes números sugerem que o sistema antioxidante é moderadamente prejudicado pela exposição

excessiva ao formaldeído. O valor diminuído de GSH-reduzida pode estar relacionado à depressão e suscetibilidade ao dano oxidativo em ratos expostos ao formaldeído em período subagudo.

A análise do tecido renal também mostrou características levemente diferentes para os três grupos, onde o grupo formaldeído parece ter sido mais lesado. Destaca-se a presença de desestruturação tubular, sendo de maneira mais discreta no grupo exposto ao Complucad®. No G.F os túbulos distais tiveram uma diminuição de seus diâmetros, verificou-se a presença de células eosinofílicas no epitélio tubular e espaço extra-tubular em praticamente todos os animais do grupo. Para a análise deste tecido foram consideradas seis variáveis, Tabela 3.

Tabela 3 - Avaliação histológica do tecido renal.

PARÂMETROS	G.C			G.F			G.CP			Valor de <i>H</i>	Valor de <i>p</i>
	+1	+2	+3	+1	+2	+3	+1	+2	+3		
INTENSIDADE											
Espaço de Filtração				2	2					3,8433	0,1464
Tumefação Celular Cortical				1	5		4			5,1750	0,0752
Congestão Vascular Cortical	3	2		6		2	7	1		2,0098	0,3661
Vacuolização Citoplasmática	3			1	2	2	3			3,0161	0,2213
Células Inflamatórias	1	2		6	2		7	1		3,9809	0,1366
Dilatação do Túbulo Contorcido distal	5	1		4	3	1	5	3		4,5335	0,1037
TOTAL DOS ESCORES	16	10	0	20	28	12	26	10	0		
ESCORES POR GRUPO	Escore = 26			Escore = 60			Escore = 36				

*Teste de Kruskal Wallis seguido de Dunn a 5% de significância.

Em estudo realizado por Keller (1990) foi identificada uma ação mais intensa de toxicidade pelo formaldeído na região do túbulo contorcido proximal do tecido renal, diferentemente do achado deste estudo. Porém, indiferente da localização precisa da agressão do órgão, o estudo citado corrobora com o presente, apontando determinada agressão em tecidos distantes. Outro estudo realizado por Coon *et al.* (2010), também aponta este órgão como alvo de agressão ao formaldeído.

Em pesquisa realizada pela American Industrial Higiene Associação (AIHA) em 1983, ratos foram expostos por 3 ppm de vapor de formaldeído por 6 horas/dia, 5 dias/semana durante 4 semanas, não revelou mudanças histopatológicas a nível renal. Estudo de Dubreuil *et al.* (1976), ratos foram expostos 22 h/dia ao vapor de formaldeído por 90 dias, também não demonstrou mudanças histopatológicas neste tecido. Ruch *et al.* (1983) não evidenciaram alterações no tecido renal de ratos expostos a 1 ppm de formaldeído vapor, durante 22 h/dia, 7 dias/semana por 26 semanas. Wilmer *et al.* (1989) igualmente não encontraram alterações histopatológicas no tecido renal, em estudo com dois grupos experimentais expostos a 10 e 20 ppm de vapor de formaldeído durante 8 h/dia, 5 dias por semana durante 4 semana.

Ainda em estudo realizado por Golalipour *et al.* (2009) foram avaliadas alterações histopatológicas e morfométricas do tecido renal de ratos Wistar expostos à solução de formaldeído por inalação a uma concentração de 1.5 ppm. Como resultado foi encontrada presença de congestão focal dos vasos corticais e glomerulares, degeneração vacuolar (hidrópica) nas células tubulares, interstício com presença de hiperemia. Morfologicamente não foi encontrada evidência de alteração do diâmetro de glomérulos, nem dos túbulos contorcidos distais e proximais. O autor concluiu que a exposição por inalação a uma baixa concentração provoca modestas alterações histológicas neste tecido, não sendo significativas.

Na análise do tecido pulmonar verificaram-se algumas alterações no grupo exposto ao Complucad® e em maior intensidade no grupo exposto ao formaldeído. Neste, houve desestruturação alveolar com presença de fibrose septo-alveolar e brônquios sem a presença de cílios, epitélio desestruturado. Uma unidade do mesmo grupo apresentou brônquios com regiões mescladas entre normais e alteradas. Outro achado importante em todas as unidades deste grupo foi a ausência de células calciformes, o que demonstrou que este xenobiótico não provoca uma reação inflamatória considerável, porém provoca agressões ao epitélio das vias aéreas.

Houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,0033$) para a variável “atelectasia” para o grupo exposto ao formaldeído quando comparado ao controle.

No grupo exposto ao Complucad® nota-se uma inflamação de intensidade leve, porém generalizada, mantendo características semelhantes ao grupo controle, com epitélio dos brônquios de aspecto usual, presença de células caliciformes. Uma única unidade deste

grupo apresentou pequena desestruturação alveolar e do epitélio brônquico.

Neste grupo houve alteração estatisticamente significativa ($p=0,0052$) para a variável “leucocitose bronquiolar” quando comparado ao grupo controle. Na análise do tecido foram utilizadas oito variáveis, sendo que as variáveis broncopneumonia, pneumonia e leucocitose alveolar foram extraídas da tabela por não apresentarem nem uma evidência de alteração, Tabela 4.

Tabela 4 - Avaliação histológica do tecido pulmonar.

PARÂMETROS	G.C			G.F			G.CP			Valor de H	Valor de p
	+1	+2	+3	+1	+2	+3	+1	+2	+3		
INTENSIDADE											
Leucocitose intersticial	5	1	1	4	3	1	5	2	1	1,2337	0,5396
Atelectasia				2	4	1	4			11,4031	0,0033*
Hemorragia Alveolar	6	1		6	2		3	5		5,1927	0,0745
Dilatação Alveolar	2	3		3	2	2	6	1	1	1,4974	0,4730
Leucocitose Bronquiolar	6			5	3		2	6		10,5058	0,0052*
TOTAL DOS ESCORES	19	10	3	20	28	12	20	28	6		
ESCORES POR GRUPO	Escore = 32			Escore =60			Escore = 54			-	-

* Teste de Kruskal Wallis seguido de Dunn a 5% de significância.

Blair *et al.* (1990) e Collins *et al.* (1997) relatam o desenvolvimento de câncer de pulmão, divergindo do estudo de Coon *et al.* (2008), os quais demonstraram que ratos expostos a altas concentrações de formaldeído não apresentaram sinais de toxicidade. Em uma meta-análise realizada por Partanen (1993), ele concluiu que a probabilidade de se desenvolver câncer de pulmão por exposição ao formaldeído é muito pequena, sendo mais sujeita a ocorrer ao nível da cavidade nasal e nasofaringe, resultados semelhantes ao do estudo realizado por Arican *et al.* (2009) o qual cita lesões principalmente a nível da mucosa da cavidade nasal.

Neste estudo mesmo com a ausência de células carcinogênicas, foram detectados sinais de toxicidade, comprovados pela análise histológica/estatística, principalmente em animais expostos ao formaldeído.

Após a avaliação histológica dos tecidos hepático, renal e pulmonar demonstrados nas Tabelas 2, 3 e 4, aplicou-se ainda o teste estatístico do Qui-Quadrado de Partição, o qual indicou valores estatisticamente significativos para fígado e rim, entre os grupos expostos, Tabela 5.

Tabela 5 - Comparação das alterações nos tecidos entre os grupos expostos.

Tecidos	X ² (partição)	Valor de p
Fígado	16.4018	0.0025*
Pulmão	7.9543	0.0933
Rim	21.8897	0.0002*

*Qui-Quadrado de Partição, nível de significância de 5%.

No período de exposição subcrônica o tecido pulmonar não demonstrou alteração estatisticamente significativa ($p>0,05$) na análise do total de escores entre os grupos, porém em estudo realizado pelo mesmo autor em período crônico, utilizando-se da mesma

metodologia de exposição foram observadas alterações significativas $p=0,0002$, (BARBIERI *et al.* 2010), sugerindo que o tecido sofre acomodação com os agentes irritantes no período subcrônico.

Valores significativos foram apontados na análise dos tecidos hepático ($p=0,00$) e renal ($p=0,00$) o que nos conduz a idéia que os xenobióticos são tóxicos em sítios distantes mesmo quando em concentração baixa de exposição. Os órgãos como o fígado (DUBREUIL *et al.*, 1976; RUSCH *et al.*, 1983), sangue (HECH *et al.*, 1985; HAUPTMANN *et al.*, 2003), medula óssea (CASANOVA e HECK, 2004), tecido esofágico (PRZYBYSZ, 2009) e epitélio mucociliar (NEYRET, 2001) foram estudados, os autores mantêm um consenso que o tipo de efeito está diretamente correlacionado à concentração do formaldeído.

Considerando o consumo de água e ração dos animais durante os 45 dias de exposição, não se identificou alteração estatisticamente significativa na ingestão, para os animais dos grupos expostos, conforme demonstrado na Tabela 6.

Tabela 6 - Diferença de onsumo de água e ração pelos animais dos três grupos amostrais.

Consumo	G. Controle (g)	G. Formaldeído (g)	G. Complucad (g)	Valor de p
Água	27,57 ± 2,23	28,00 ± 1,52	28,14 ± 1,95	0,85
Ração	21,24 ± 2,04	23,09 ± 1,12	22,14 ± 0,86	0,079

Teste ANOVA seguido de TUKEY 5%.

Para análise estatística da massa corpórea dos animais, utilizou-se o teste estatístico de ANOVA 5%, considerou-se a diferença entre o peso inicial e o peso final dos animais de cada grupo. Na Tabela 7 podem ser observados os valores por grupo de exposição, entretanto não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,72$), entre os grupos.

Tabela 7 – Controle de peso corpóreo dos animais.

G. Controle (g)	G. Formaldeído (g)	G. Complucad (g)	Valor de p
145,43 ± 51,59	131,75 ± 47,27	152,89 ± 56,24	0,72

Teste ANOVA seguido de TUKEY a 5% de significância.

Em uma exposição crônica de 90 dias ao formaldeído e Complucad®, efetivada por Barbieri *et al.* (2010) foram identificadas alterações como diminuição da ingestão hídrica ($p=0,01$), e diminuição do ganho de peso ($p=0,004$).

Segundo alguns autores são considerados sinais de toxicidade física, alterações de peso corporal, diminuição do consumo de alimento e água, alteração da deambulação, piloereção, diarreia e até mesmo mortalidade (MANSON; KANG, 1994; CHAHOUD *et al.* 1999 apud NEPOMUCENO, 2005).

Outro achado importante na análise física foi à presença de amarelamento dos pelos nos animais do grupo exposto ao formaldeído. Este achado já havia sido relatado em estudos feitos por (COON *et al.* 1970; DUBREUIL *et al.*, 1976; SKAYA, 971 apud RUSCH *et al.* 1983), que constataram o amarelamento dos pelos nos ratos expostos ao formaldeído a concentrações de (1.0, 1.6, 3.0 ppm).

Conclusão

No período de exposição subcrônica ao formaldeído e Complucad® de ratos Wistar não foram identificados sinais de toxicidade através da análise enzimática, porém alterações puderam ser observadas através da análise histológica em todos os tecidos estudados, sendo apontado como significativo no tecido renal e hepático. O tecido pulmonar apresentou algumas alterações isoladas, não chegando a ser significativas quando analisadas em sua totalidade, porém sinais de toxicidade a este tecido pelos xenobióticos não

são descartas, em decorrência de sua detecção quando exposto por um período mais longo.

Com base no presente estudo, acredita-se que o grau de toxicidade tem relação com a dose de exposição, porém o período também tem uma correlação direta, haja visto a ausência de alterações significativas no tecido pulmonar na exposição subcrônica quando comparado ao de exposição crônica. O tecido renal sofreu alteração significativa no período

de exposição subcrônica, o que pode ser entendido como uma adaptação mais lenta do metabolismo para este tecido.

Diante dos resultados verificados, pode-se inferir que tanto o formaldeído quanto o Complucad® demonstram ser potencialmente agressivos aos tecidos, sendo essas agressões mais perceptíveis em animais expostos ao formaldeído.

AGRADECIMENTOS

SUPORTE PARA PESQUISA POR PIIC-URI-CAMPUS DE ERECHIM/RS.

À Christine L. Bonissoni Biasus, por seu auxílio nos procedimentos realizados no Laboratório de Análises Clínicas do Centro de Estágios e Práticas Profissionais (URICEPP) - Erechim.

À Taís Caramalak Franczak, pelo auxílio nas análises histológicas, realizadas no Laboratório de Histologia da URI- Erechim.

AUTORES

Dechristian França Barbieri - Mestrando em Fisioterapia pela UFSCar. E-mail: dechristianfb@gmail.com

Elvis Wisniewski - Mestre em Fisioterapia pela UFSCar. Professor Pesquisador do Departamento de Ciências da Saúde - Curso de Fisioterapia. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) - Campus de Erechim.

Miriam Salete Wilk Wisniewski - Mestre em Fisioterapia pela UFSCar. Chefe do Departamento de Ciências da Saúde. Professora Pesquisadora do Curso de Fisioterapia. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) - Campus de Erechim.

Silvana Souza Roman - Doutora em Ciências Biológicas Bioquímica Toxicológica pela UFSM. Professora Pesquisadora do Curso de Farmácia. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) - Campus de Erechim.

Luiz Carlos Cichota - Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Santa Maria. Professor do curso de Farmácia. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) - Campus de Erechim.

Rogério Marcos Dallago - Doutor em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Professor titular de química. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) - Campus de Erechim.

Simone Maffini Cerezer - Doutora em Engenharia de Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Professora do Departamento de Ciências Exatas e da Terra. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI) - Campus de Erechim.

REFERÊNCIAS

- ÁLVARES, M. et. al. Aplicación de Complucad como fijador em histopatológicos humana: estudio comparativo com formaldeideodehído. **Rev Esp Patol**, Espanha, v. 32, n. 4, p. 535-541, 1999.
- ARICAN, R.Y. et. al. Effects of formaldehyde inhalation on the junctional proteins of nasal respiratory mucosa of rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**. v. 61, p. 297-305, 2009.
- ANDERSEN, M. L. at al. **Princípios Éticos e Práticos do Uso de Animais Experimentais**. São Paulo: Editora UNIFESP, 2004.
- BARBIERI, D.F.; WISNIEWSKI, E.; WISNIEWSKI, M.S.W. et al. Toxicidade em ratos Wistar após 90 dias de exposição ao formaldeído e complucad®. Chapecó: **Inspirar Movimento e Saúde**, v. 2, n. 4, p. 122-129. 2010.
- BLAIR, A.; STEWART, T.A.; AND HOOVER, R.N. Mortality from lung cancer among workers employed in formaldehyde industries. **Am. J. Ind.** v. 17, p. 683-699, 1990.
- COON, R. A. et.al. J. Toxicol APPL Pharmacol, n. 16, p. 646-655, 1970. Formaldehyde (HCHO): Disponível em: <NIOSH.http://www.cdc.gov/NIOSH/>. Acesso em: 06/07/2010.
- COLLINS, J. J.; ACQUAVELLA, J.F.; ESMEN, N. A. An updated meta-analysis of formaldehyde exposure and upper respiratory cancers. **J. Occup. Environ. Med.** v. 39, p. 639-651. 1997.
- CASANOVA, M.; COLE, P.; COLLINS, J. J.; CONOLLY, R.; DENZEL, E.; HECK, H.; LEONARD, R.; LEWIS, R.; MARSH, G.M.; OTT, M.G., SORAHAN, T., 2004. Letter to the Editor. J. Natl. Cancer Inst. (in press).
- CALLEGARI-JACQUES, S.M. **Bioestatística princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artmed, 2003.
- CONFORTIN, H. et al. **Trabalhos acadêmicos: da concepção à apresentação**. 2. ed. Erechim, RS: EdIFAPES, 2006.
- DANTAS, J.A. et.al. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. **Acta.Sci. Health Sci.** v. 28, n. 2, p. 165-170, 2006.
- DUBREUIL, A.; BOULEY, G.; GODIN, J. et al. Inhalation en continu de faibles doses de formaldehyde. Etude expérimentale chez lê rat. **Eur. Toxicol**, 1976, p. 9:245-250.
- GOLALIPOUR, M, J. et. al. Can Formaldehyde Exposure Induce Histopathologic and Morphometric Changes on Rat Kidney. **Int. J. Morphol**, v. 27, n. 4, p. 1195-1200. 2009.
- HECK, H. D. A. et al. Formaldehyde (CH₂O) concentrations in the blood of humanas and fischer- 344 rats exposed to CH₂O under controlled conditions. **Am. Ind. Hyg. Assoc. J**, v. 46, p. 1-3, 1985.

Instituto Nacional do Câncer INCA. **Formaldeído**. Disponível em <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?ID=795> Acesso em: 04 de março de 2010.

JUNQUEIRA & CARNEIRO. **Histologia Básica**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KELLER, D. A. et al. Histochemical localization of formaldehyde dehydrogenase an the rat. **Toxicol. Appl. Pharmacol**, v. 106, p. 311-326, 1990.

KAPLAN, A.; SZABO, L.L.; JACK, R. et al. **Clinical Chemistry: Interpretation and Techniques**. India: Baltimore:Williams & Wilkins; 1995.

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica: Princípios e interpretações**. 3. ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau, 2000.

NEPOMUCENO, F. et. al. Desenvolvimento embrionário em ratas tratadas com *Hypericum perforatum* durante o período de implantação. **Rev. Bras. Farmacogn**. v. 15, n. 3, p. 224-228, jul/set. 2005.

NEYRET, C.F. et. al. Effects of formaldehyde on the frog's mucociliary epithelium as a surrogate to evaluate air pollution effects on the respiratory epithelium. **Braz J Med Biol Res**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 639-643, July/Feb. 2001.

PARTANEN, T. Formaldehyde exposure and respiratory cancer: a meta-analysis of the epidemiologic evidence. **Scand J Work Environ Health**. v. 19, p. 8-15, 1993.

PRZYBYSZ, C.H. et. al. AÇÃO DO FORMALDEÍDEO NO ESÔFAGO DE RATOS: análise morfológica e morfométrica. **Revista F@pciência**, Apucarana-PR, v. 4, n. 3, p. 16 -29, 2009.

RUSCH, G.M. et. al. A 26-Week Inhalation Toxicity Study with Formaldehyde in the Monkey, Rat, and Hamster. **Toxicology and applied pharmacology**. v. 68, p. 329-343, 1983.

SOGUT, S. et al. Does the subacute (4-week) exposure to formaldehyde inhalation lead to oxidant/antioxidant imbalance in rat liver. **Eur J Gen Med**, v. 1, n. 3, p. 26-32. 2004.

WILMER, J. W.; WOUTERSEN, R. A.; APPLEMAN, L. M. et al. Subchronic (13-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in male rats: 8-hour continuous versus 8-hour intermittent exposures. **Toxicol. Lett.**, v. 47, n. 3, p. 287-293. 1989.

