

# ADESIVOS CIRÚRGICOS PARA ESTERILIZAÇÃO TUBÁRIA: ESTUDO EXPERIMENTAL

HENRI CHAPLIN RIVOIRE\*  
DJALMA JOSÉ FAGUNDES\*\*  
SERGIO BIGOLIN\*\*\*

## RESUMO

**Introdução:** avaliar a esterilização tubária com novas metodologias procurando uma técnica eficaz e com baixo custo. **Objetivo:** estudar aspectos macro e microscópicos e da perviedade de tubas uterinas de coelhas, em longo prazo, submetidas à obstrução tubária pela via transvaginal com adesivos cirúrgicos. **Métodos:** 57 coelhas (114 tubas uterinas), albinas, New Zealand, com gestação e parto anterior ao experimento, divididas em quatro grupos: GSIMU (simulado-24 tubas), GEFIBRI (0,25mL de adesivo de fibrina em 30 tubas), GE-GRF (0,25mL de adesivo de GRF em 30 tubas) e GEBUTIL (0,25mL de adesivo de n-butil-2-cianoacrilato em 30 tubas). Acasaladas permanentemente após o experimento e estudadas em subgrupos de 30, 90 e 180 dias. Macroscopicamente analisadas quanto a gestações e perviedade, microscopicamente quanto ao diâmetro tubário (em cm), a mucosa tubária (em mm), ao miosalpinge (em mm), a densidade óptica total e ao processo inflamatório. A análise estatística entre lados (direito e esquerdo) usou Testes de McNemar e Wilcoxon entre os subgrupos e entre os grupos usou a Generalização do Teste Exato de Fisher e Prova de Kruskal-Wallis, sendo as diferenças localizadas pelo Teste de Comparações Múltiplas de Dunn, e nível de significância de 0,05 ( $\alpha \leq 5\%$ ). **Resultados:** GSIMU mostrou perviedade e gestações em todos os subgrupos. GEFIBRI mostrou perviedade e gestações em todos os subgrupos. GE-GRF não mostrou perviedade ou gestações, mas intenso processo inflamatório com alterações da morfologia tubária. GEBUTIL não mostrou perviedade ou gestações, nem alterações morfológicas da mucosa tubária. **Conclusões:** o adesivo de n-butil-2-cianoacrilato se mostrou eficaz para produzir esterilização tubária em longo prazo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Tubas uterinas. Esterilização reprodutiva. Adesivos cirúrgicos. Coelhas. Cirurgia experimental.

## INTRODUÇÃO

A esterilização cirúrgica é um dos métodos para controle da natalidade utilizado por um grande número de mulheres. Existem considerações que mais de cem milhões de mulheres no mundo se

---

\* Professor-Doutor, Adjunto, Chefe do Departamento de Cirurgia da Fundação Universidade Federal do Rio Grande – RS.

\*\* Professor-Doutor, Adjunto, da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.

\*\*\* Professor-Mestre, Assistente, da Universidade Regional Integrada de Erechim – RS.

utilizem desse método para controlar a fertilidade, sendo o mais utilizado globalmente<sup>1</sup>.

Os métodos que utilizam a via transvaginal para promover a esterilização têm sido desenvolvidos constantemente, com a descoberta de novos materiais e o desenvolvimento das técnicas operatórias, principalmente da histeroscopia, que aplica no lúmen tubário substâncias ou dispositivos capazes de impedir a fecundação<sup>1</sup>.

Há mais de cem anos o método ideal é procurado, e todos eles apresentam algum grau de insatisfação ou de falha<sup>2</sup>.

São utilizados os métodos laparoscópicos com diversas técnicas: coagulação unipolar com ou sem divisão da tuba uterina, coagulação bipolar, cauterização, aplicação de banda de silástico, colocação de clips Spring, de Hulka, de Filshie, anel de Yoon, método de Pomeroy. Tais Pareiaquimétodos representam cerca de 50.000 esterilizações laparoscópicas no Reino Unido e aproximadamente 1 milhão nos EUA, a cada ano<sup>2</sup>.

Pela histeroscopia pode ser realizada a eletrocoagulação, criocoagulação, uso do laser de Nd:YAG, aplicação de substâncias químicas (quinacrina, tetraciclina, metilcianoacrilato), e também a aplicação de métodos mecânicos com a colocação de dispositivos que venham a causar esterilização, de cerâmica, de náilon, de polietileno, de silicone, de politetra-fluoro-etileno, e mais recentemente dois novos dispositivos: Essure e Adiana<sup>1,2</sup>.

Nosso objetivo foi estudar a aplicação de três tipos de adesivos cirúrgicos, de uso corrente na prática médica, no lúmen tubário de coelhas, para promover a esterilização, pela via transvaginal. Para tanto utilizamos o adesivo de fibrina, o adesivo de gelatina-resorcina-formaldeído e o adesivo de n-butil-2-cianoacrilato.

## **MÉTODOS**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São Paulo da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (CEP 835/01).

Foram utilizadas 57 coelhas (n=114 tubas uterinas), albinas, New Zealand, que já haviam tido gestação e parto anteriormente ao experimento, com média de idade de oito meses e com peso médio de 3.800g.

Foram divididas aleatoriamente em quatro grupos, o GSIMU (grupo simulado em 24 tubas uterinas), o GEFIBRI (grupo experimento fibrina com 30 tubas uterinas), o GE-GRF (grupo experimento GRF com 30 tubas uterinas) e o GEBUTIL (grupo experimento butil com 30 tubas uterinas); cada grupo foi dividido em subgrupos para estudo em trinta

dias (8 tubas do grupo simulado e 10 tubas de cada grupo experimento), noventa dias (8 tubas do grupo simulado e 10 tubas de cada grupo experimento) e 180 dias (8 tubas do grupo simulado e 10 tubas de cada grupo experimento).

Após ser pesado, o animal teve como pré-anestésico o diazepam  $0,5\text{mg.Kg}^{-1}$  e foi anestesiado com um composto de tiletamina/zolazepan na dose de  $25\text{mg.Kg}^{-1}$ . A analgesia foi realizada com citrato de fentanila  $0,05\text{mg.Kg}^{-1}$ . Foi feita antibioticoprofilaxia, em dose única, com hemisuccinato de cloranfenicol na dose de  $50\text{mg.Kg}^{-1}$ . Todos os fármacos foram aplicados utilizando a via intramuscular<sup>3</sup>.

Após os procedimentos de pré-anestesia, anestesia, analgesia e antibioticoprofilaxia, o animal foi colocado em mesa cirúrgica própria. Foi realizada a videovaginoscopia e a cateterização tubária conforme método já descrito anteriormente por Thurmond e Ross<sup>4,5</sup>.

No GSIMU, após a realização da cateterização do istmo tubário, os cateteres foram retirados sem a introdução de nenhuma substância.

No GEFIBRI as tubas uterinas foram cateterizadas e foi injetado  $0,25\text{mL}$  de adesivo biológico de fibrina (Beriplast®) em cada istmo tubário.

No GE-GRF após o cateterismo foi injetado  $0,25\text{mL}$  de adesivo biológico de gelatina-resorcina-formadeído (Colagel®) em cada istmo tubário.

No GEBUTIL cada istmo tubário recebeu  $0,25\text{mL}$  de adesivo sintético de n-butil-2-cianoacrilato (Histoacryl®) após o cateterismo.

As coelhas foram acasaladas com os mesmos machos comprovadamente férteis, reprodutores do biotério, com os quais já tinham acasalado e tido gestação e parto antes do experimento.

Na vigência de gestação se aguardou a resolução da mesma para a realização da retirada da peça cirúrgica para os estudos.

As coelhas foram novamente anestesiadas, conforme protocolo descrito anteriormente e de acordo com o tempo de estudo (30, 90 ou 180 dias), e por meio de uma laparotomia mediana foram retirados os úteros, tubas uterinas e ovários em monobloco, para o estudo da perviedade e histológico.

A eutanásia foi realizada com o animal anestesiado e com a injeção intracárdica de  $20\text{mL}$  de Sulfato de Magnésio a 100%.

O estudo da perviedade realizado *in vitro* se fez pela conexão do cateter a uma seringa de  $20\text{mL}$  para insuflação de ar e a um manômetro para medir a pressão intra-uterina aplicada em mmHg (Figura 1).

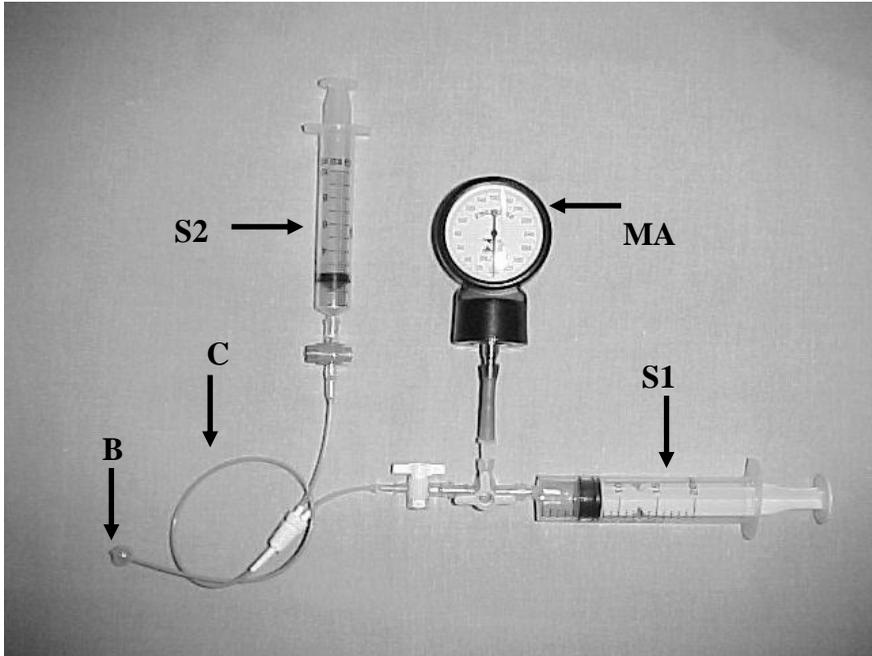


FIGURA 1 – Foto mostrando o sistema para o Teste de Pressão de Rompimento. MA-manômetro, S1-seringa 20mL, S2-seringa 10mL, C-cateter de 2 vias, B-balonete.

A peça cirúrgica foi imersa em uma cuba com solução de cloreto de sódio 0,9%, e foi insuflado ar sob pressão até 40mmHg. Foi considerada perviedade presente caso a tuba testada emitisse bolhas de ar pela extremidade das fímbrias (Teste de Pressão de Rompimento).

A avaliação das tubas uterinas no laboratório de histopatologia foi realizada por meio de protocolo para macroscopia que, após a devida identificação, avaliou as condições de armazenamento e fixação da peça; suas medidas longitudinal, transversa e antero-posterior; o aspecto da serosa; a medida da parede tubária e a presença do adesivo em seu lúmen (Grupos GEFIBRI, GE-GRF e GEBUTIL).

Foi realizado corte para inclusão em bloco de parafina nos locais em que foi feita a manipulação com o cateter (GSIMU) e nos locais em que se palpou o polímero formado pelo adesivo cirúrgico (GEFIBRI, GE-GRF e GEBUTIL). Em todos os grupos foram realizados três cortes histológicos (um corte no local do manuseio ou do adesivo, um corte à montante e um corte à jusante). A espessura dos cortes foi de 5µm,

sendo que no GEBUTIL foi utilizado micrótomo de lâmina de diamante para cortar o polímero no interior das tubas.

As lâminas foram analisadas quanto aos danos causados no epitélio pelo adesivo, presença ou aderência do adesivo, a morfometria do diâmetro tubário em centímetros, da mucosa e do miosalpinge em milímetros, a densimetria (densidade óptica total) das células da mucosa e a avaliação do processo inflamatório.

A Densidade Óptica Total foi a verificação da ploidia de Ácido Desoxirribonucléico (DNA), onde foi feita a verificação da quantidade total de DNA do núcleo da célula por meio de uma coloração específica e estequiométrica, isto é, a quantidade de corante no núcleo celular é proporcional à quantidade de DNA, permitindo estabelecer a mensuração fotométrica, numa relação entre absorvância por micrômetro e área do núcleo, no analisador de imagens. Foi estabelecida a medida em 400 células por lâmina<sup>6</sup>.

Para a classificação do processo inflamatório foi elaborado e utilizado um escore em acordo com o tipo de inflamação encontrada: Grau 0-ausência de inflamação, Grau 1-inflamação leve, Grau 2-inflamação moderada e Grau 3-inflamação severa.

Foi utilizado o programa Image Proplus versão 4.5<sup>®</sup> para a morfometria, sendo feita a média de 8 (oito) mensurações do diâmetro das tubas uterinas (em cm), da mucosa (em mm) e do miosalpinge (em mm).

Os cortes histológicos para a mensuração das variáveis morfométricas e classificação do processo inflamatório foram corados pela hematoxilina e eosina (HE), e para a densimetria utilizou-se a reação de Feulgen (coloração pela fucsina ácida – FA)<sup>7</sup>.

A metodologia estatística representou as variáveis qualitativas por frequência absoluta (n) e relativa (%), e as quantitativas por média, desvio padrão (dp) e mediana.

Os lados direito e esquerdo foram comparados em relação às variáveis qualitativas pelo Teste de McNemar e em relação às variáveis quantitativas pela Prova de Wilcoxon para amostras relacionadas.

As comparações entre os subgrupos de tempo de estudo foram realizadas pela Generalização do Teste Exato de Fisher em variáveis qualitativas e pela Prova de Kruskal-Wallis para amostras independentes em variáveis quantitativas.

Os grupos foram comparados em relação às variáveis qualitativas pela Generalização do Teste Exato de Fisher e em relação às variáveis quantitativas pela Prova de Kruskal-Wallis para amostras independentes.

Após aplicação da Prova de Kruskal-Wallis, as diferenças foram localizadas pelo Teste de Comparações Múltiplas de Dunn.

Foi adotado o nível de significância de 0,05 ( $\alpha \leq 5\%$ ) e níveis descritivos (p) inferiores a esse valor foram considerados significantes e representados por asterisco (\*).

## RESULTADOS

Quanto à metodologia utilizada no experimento não ocorreram falhas, e também não houve óbitos de animais com os protocolos medicamentosos.

Na análise de peso foi constatada uma queda constante do peso dos animais do GE-GRF em todos os tempos do estudo, o que apresentou significância estatística pois apresentaram peso final inferior ao peso inicial, principalmente nos primeiros trinta dias do experimento; sendo que nos outros grupos ocorreu ganho ponderal (Tabela 1). Isso demonstrou a toxicidade sistêmica do adesivo de GRF, que influenciou diretamente no ganho de peso dos animais utilizados nesse grupo.

TABELA 1 – Distribuição da significância estatística da variação absoluta de peso (final-inicial) dos animais segundo os subgrupos (30, 90 e 180 dias) e os grupos (GSIMU,GEFIBRI, GE-GRF e GBUTIL).

Tempo	P	Diferenças
30 dias	0,005 *	GSIMU ≠ GE-GRF GFIBRI ≠ GE-GRF GE-GRF ≠ GEBUTIL
90 dias	0,588	
180 dias	0,009 *	GSIMU ≠ GE-GRF GFIBRI ≠ GE-GRF GE-GRF ≠ GEBUTIL

No estudo das gestações ficou constatado que todos as coelhas do GSIMU tiveram gestações nos dois úteros; enquanto no grupo GEFIBRI não houve gravidez em cinco úteros do subgrupo de trinta dias e todos os demais úteros tiveram gestações. No GE-GRF e GEBUTIL não ocorreu nenhuma gravidez. O que dispensou a análise estatística (Tabela 2). As gestações que ocorreram no GSIMU demonstraram não existir influência da manipulação das tubas uterinas com os cateteres, que tal manipulação não foi lesiva e conseqüentemente permitiu a ocorrência de gestações, e no GEFIBRI ficou demonstrado, com as gestações, que o adesivo de fibrina não tem a capacidade de obstruir as tubas uterinas e também não causa danos que alterem a morfologia e fisiologia tubária.

TABELA 2 – Distribuição dos corpos uterinos segundo o grupo de estudo (GSIMU, GEFIBRI, GE-GRF e GEBUTIL) quanto à presença de gestação.

<b>Gestação</b>	<b>GSIMU</b>	<b>GEFIBRI</b>	<b>GE-GRF</b>	<b>GEBUTIL</b>
<b>Sim</b>	24 (100,0)	25 ( 83,3)	0 ( 0,0)	0 ( 0,0)
<b>Não</b>	0 ( 0,0)	5 ( 16,7)	30 (100,0)	30 (100,0)
<b>Total</b>	24 (100,0)	30 (100,0)	30 (100,0)	30 (100,0)

Generalização do Teste Exato de Fisher:  $p < 0,001$  \*

Na pesquisa da perviedade tubária ficou demonstrado que todas as tubas uterinas dos grupos GSIMU e GEFIBRI estavam pervesas enquanto todas as tubas dos grupos GE-GRF e GEBUTIL estavam obstruídas; o que também dispensou a análise estatística (Tabela 3). Dessa maneira pode-se constatar que tanto o adesivo de GRF quanto o de n-butil-2-cianoacrilato obstruíram as tubas impedindo a passagem do ar por meio do teste de pressão de rompimento efetuado.

TABELA 3 – Mostrando a distribuição das tubas uterinas divididas segundo o grupo de estudo quanto à presença de perviedade.

<b>Perviedade</b>	<b>GSIMU</b>	<b>GEFIBRI</b>	<b>GE-GRF</b>	<b>GEBUTIL</b>
<b>Sim</b>	24 (100,0)	30 (100,0)	0 ( 0,0)	0 ( 0,0)
<b>Não</b>	0 ( 0,0)	0 ( 0,0)	30 (100,0)	30 (100,0)
<b>Total</b>	24 (100,0)	30 (100,0)	30 (100,0)	30 (100,0)

Generalização do Teste Exato de Fisher:  $p < 0,001$  \*

A medida do diâmetro tubário, estabelecida em cm, mostrou significância estatística quando se comparou as medidas de cada grupo nos subgrupos de 30, 90 e 180 dias (Tabela 4), evidenciando que a deposição dos adesivos de GRF e de cianoacrilato produzem um aumento do diâmetro da tuba uterina por distensão mecânica ocasionada pelo volume depositado do adesivo no lúmen tubário.

TABELA 4 – Distribuição da significância estatística na comparação do diâmetro tubário entre os grupos (GSIMU, GEFIBRI, GE-GRF e GEBUTIL) nos subgrupos (30, 90 e 180 dias).

<b>Tempo</b>	<b>p</b>	<b>diferenças</b>
<b>30 dias</b>	0,023 *	GSIMU < GEFIBRI GSIMU < GEBUTIL
<b>90 dias</b>	0,425	
<b>180 dias</b>	0,047 *	GSIMU < GE-GRF GSIMU < GEBUTIL

A medida da espessura da mucosa tubária (em mm) mostrou significância estatística quando foram comparados os grupos nos subgrupos de 90 e 180 dias (Tabela 5). Ocorreu hipertrofia da mucosa no GE-GRF e também no GEBUTIL, o que consideramos tenha sido em

decorrência da presença do adesivo, ocasionando assim estímulo do peristaltismo tubário na tentativa de expulsão do polímero formado no interior da tuba uterina.

TABELA 5 – Distribuição da significância estatística na comparação da espessura (mm) da mucosa entre os grupos (GSIMU, GEFIBRI, GE-GRF e GEBUTIL) nos subgrupos (30, 90 e 180 dias).

<b>Tempo</b>	<b>p</b>	<b>Diferenças</b>
<b>30 dias</b>	0,334	
<b>90 dias</b>	0,004 *	GSIMU > GE-GRF GEFIBRI < GEBUTIL GE-GRF < GEBUTIL
<b>180 dias</b>	0,009 *	GSIMU < GEBUTIL GEFIBRI < GE-GRF GEFIBRI < GEBUTIL

A medida da espessura do miosalpinge (em mm) mostrou significância estatística quando foram comparados os grupos nos subgrupos de 90 e 180 dias (Tabela 6). Ao final de 180 dias o miosalpinge do GEBUTIL mostrou espessura bem maior do que os demais grupos porque a formação do polímero de adesivo no lúmen tubário estimulou a tuba uterina no aumento do seu peristaltismo tentando expulsar o adesivo e isso provocou a hipertrofia acentuada do miosalpinge, mas não foi detectada nenhuma alteração de significado patológico que pudesse ter sido ocasionada pela cola utilizada.

TABELA 6 – Distribuição da significância estatística na comparação da espessura (mm) do miosalpinge entre os grupos (GSIMU, GEFIBRI, GE-GRF e GEBUTIL) nos subgrupos (30, 90 e 180 dias).

<b>Tempo</b>	<b>p</b>	<b>Diferenças</b>
<b>30 dias</b>	0,158	
<b>90 dias</b>	< 0,001 *	GSIMU > GE-GRF GEFIBRI < GEBUTIL GE-GRF < GEBUTIL
<b>180 dias</b>	< 0,001 *	GSIMU < GEBUTIL GEFIBRI < GEBUTIL GE-GRF < GEBUTIL

Na avaliação da Densidade Óptica Total foi encontrada significância estatística nos subgrupos de 30, 90 e 180 dias no grupo GE-GRF (Tabela 7). Isso fez constatar que a ação tóxica e lesiva do adesivo de GRF provocou uma hiperplasia celular importante da mucosa, não constatada nos demais grupos.

TABELA 7 – Distribuição da significância estatística na comparação da Densidade Óptica Total (absorbância) das células da mucosa entre os subgrupos (30, 90 e 180 dias) nos grupos (GSIMU, GEFIBRI, GE-GRF e GEBUTIL).

Grupo	p	Diferenças
<b>GSIMU</b>	0,391	
<b>GEFIBRI</b>	0,634	
<b>GE-GRF</b>	0,037 *	30 dias < 180 dias 90 dias < 180 dias
<b>GEBUTIL</b>	0,143	

No estudo do processo inflamatório ocorreu significância estatística nos grupos e nos subgrupos de 30, 90 e 180 dias (Tabela 8). A demonstração de inflamação moderada e acentuada no final de 180 dias no GE-GRF mostrou sua ação deletéria e também a instalação de inflamação crônica, contra-indicando sua utilização na tuba uterina com a finalidade de esterilização, o processo inflamatório detectado nos demais grupos não apresentou significado clínico que pudesse contra-indicar sua utilização em tubas uterinas.

TABELA 8 – Distribuição da significância estatística na comparação do processo inflamatório entre os grupos (GSIMU, GEFIBRI, GE-GRF e GEBUTIL) nos subgrupos (30, 90 e 180 dias).

Tempo	p	Diferenças
<b>30 dias</b>	< 0,001 *	GSIMU < GE-GRF GFIBRI < GE-GRF GE-GRF > GEBUTIL
<b>90 dias</b>	< 0,001 *	GSIMU < GE-GRF GFIBRI < GE-GRF GE-GRF > GEBUTIL
<b>180 dias</b>	< 0,001 *	GSIMU < GE-GRF GFIBRI < GE-GRF GE-GRF > GEBUTIL

## DISCUSSÃO

A procura de um método de esterilização humana, tanto masculina como feminina que atenda os preceitos éticos e legais vigentes, que seja eficiente e eficaz, que traga um mínimo de agressão ao ser humano e que privilegie o baixo custo operacional é um ideal a ser buscado. Estamos propondo uma metodologia que, se realizável em humanos, poderá ser executada em nível ambulatorial, propiciando uma redução significativa nos custos para os sistemas públicos de saúde.

Para testar a viabilidade do procedimento optou-se por realizar

uma pesquisa em animal de experimentação. A coelha é tida, na literatura médica, como modelo experimental para pesquisa em reprodução, pela semelhança histológica e funcional entre suas tubas uterinas e as tubas humanas<sup>8,9</sup>. A coelha apresenta dois colos, dois úteros independentes, duas tubas uterinas e dois ovários; sendo um modelo *in vivo* da tuba uterina humana, exceto pelo tamanho que corresponde de 1/3 a 1/2 da humana. Apresenta também a vantagem que, em experimentos, pode ser usado um lado anatômico como controle do outro<sup>10,11,12</sup>.

No tocante aos adesivos cirúrgicos, a escolha recaiu sobre os três mais freqüentemente referidos na literatura pertinente: cola de fibrina, cola de gelatina-resorcina-formaldeído e derivados do cianoacrilato.

A utilização desses adesivos é objeto de numerosas publicações em diversos tecidos e órgãos, mostrando resultados variáveis de acordo com as situações estudadas, mas de modo geral são aceitos como opções para promover a hemostasia ou síntese (suturas e anastomoses)<sup>13,14,15,16,17,18-45</sup>.

Para a anestesia foi utilizado um composto de cloridrato de tiletamina 125mg e cloridrato de zolazepam 125mg, que tem ação cataléptica e analgésica, na proporção de 1:1, e citrato de fentanila<sup>46-50</sup>, que se mostrou eficiente e eficaz no período de tempo médio de noventa minutos, nas doses utilizadas. Foram realizados reforços anestésicos, equivalentes à metade da dose inicial, quando houvesse alguma reatividade. As drogas foram administradas por via intramuscular<sup>51</sup>, evitando-se tanto a aplicação endovenosa de anestésicos como a anestesia inalatória, pois o coelho apresenta instabilidade na dose-resposta aos agentes anestésicos comumente usados e dificuldade na intubação traqueal<sup>46,47,49,50</sup>.

O cateterismo tubário foi feito de maneira criteriosa e cuidadosa em virtude da debilidade tecidual do útero e da tuba uterina da coelha. O peristaltismo uterino,  $1 \pm 0,2$  contrações em cada minuto, e sua forma anatômica espiralada<sup>52</sup>, representaram obstáculos discretos para a progressão do cateter 5F, que uma vez colocado na junção útero-tubária, não ofereceu resistência à passagem por seu interior do cateter 2,5F até que fosse atingido o istmo tubário, sendo então facilmente injetados os adesivos cirúrgicos.

Estudo experimental em coelhas com a finalidade de esterilização, utilizando a cateterização das tubas uterinas por via transvaginal e aplicação de etanol, hidrogel e uma emulsão oclusiva, mostrou que o etanol atingiu a cavidade peritoneal de todos os animais. Os resultados após dois e com trinta dias de observação mostraram que ocorreu obstrução em uma de seis tubas com o uso de etanol, o

hidrogel obstruiu três de seis tubas, e a emulsão oclusiva, cinco de seis tubas<sup>53</sup>.

Há relato da utilização de esferas metálicas para obstruir as tubas uterinas de coelhas, 34% dos animais expulsaram as esferas, permanecendo o restante no local de colocação, entretanto a prevenção da gestação foi de 84%, com divisão dos grupos para observação entre cinco e dez semanas, entre 26 e 37 semanas e entre vinte e 38 semanas<sup>54</sup>.

Outro estudo utilizando hidrogel com substância esclerosante, fazendo um tampão dentro do lúmen de oito tubas de oito coelhas, determinando um tempo entre 25 a 28 dias para a observação. Uma eliminou totalmente o tampão, em quatro o hidrogel estava na tuba e ovário, provocando aderências entre estes e o intestino, e em um animal estava envolvido também o peritônio parietal. Não ocorreu gestação em seis úteros, mas apresentou salpingite em todas as tubas que continham o hidrogel<sup>55</sup>.

Em estudo para esterilização tubária de coelhas utilizando a aplicação transvaginal de metil-cianoacrilato, foi notada nos cortes histológicos a presença de necrose celular, células inflamatórias, fibrina e fibrose no tempo de duas semanas. Após dois e seis meses, além dos achados descritos, foi observada a total absorção do adesivo, e em todas as tubas havia fibrose de segmentos da parede tubária e processo inflamatório crônico<sup>56</sup>.

Também há relatos do tampão de silicone aplicado em dezenove tubas de coelhas, por via abdominal, que mostrou um índice de falha de 5,4%, tendo estabelecido o período de trinta dias para a observação do experimento<sup>57</sup>.

Outro trabalho refere a aplicação do adesivo de fibrina em dez tubas e em outras quatorze utilizou coagulação bipolar e adesivo de fibrina, por via abdominal, em coelhas. Nas tubas em que foi utilizada a coagulação mais o adesivo ocorreu obstrução em 71,4%, enquanto que nas tubas em que foi utilizado somente o adesivo de fibrina não ocorreu obstrução em nenhuma. Os grupos foram estudados entre os dias três a quatro, sete a onze, quatorze a dezessete e 21 a 24 do pós-operatório<sup>58</sup>.

Relato utilizando a via abdominal e a coagulação bipolar controlada por computador, endotubária, em quarenta tubas de coelhas, mostrou que apenas uma não obstruiu, ocasionando gestação, com quatro e com doze semanas após as operações<sup>59</sup>.

Já relato da aplicação de 0,15mL de metil-cianoacrilato no lúmen tubário de coelhas, por incisão no corno uterino a 2cm da junção útero-tubária, em seis semanas mostrou que todas as tubas estavam

obstruídas e no estudo histológico foi comprovada a destruição do epitélio tubário com extensa área de fibrose e ausência do adesivo, notando-se partículas do polímero nos macrófagos<sup>60</sup>.

Estudos experimentais para esterilização tubária em coelhas relatam a coagulação endoluminal com 98% de sucesso por laparotomia<sup>61</sup>, fotocoagulação por laser com 94% de sucesso por laparotomia<sup>62</sup>, utilização de um copolímero de etileno álcool vinil que mostrou não ser eficaz<sup>63</sup>, oclusão da tuba com eletrocoagulação por radiofrequência que não foi comprovada<sup>64</sup>, uso de um artefato com submucosa de intestino delgado de coelho que em 50% recanalizou em 180 dias<sup>65</sup>, aplicação de polietileno glicol por laparotomia com 57% de eficácia<sup>66</sup>.

A utilização de tampão de silicone ou clipe pode apresentar falhas que chegam a quase 10%<sup>67</sup>, o desenvolvimento de um artefato rígido para colocação endotubária mostrou dificuldade por ter que utilizar instrumentos rígidos e nem sempre ser possível sua utilização<sup>68</sup>.

A instilação de substâncias na cavidade uterina como a quinacrina mostrou eficácia de 95%, mas dependeu de instilações freqüentes e pode apresentar falha em vigência de variações anatômicas do útero<sup>69-71</sup>. Foi utilizado tablete com 500mg de estolato de eritromicina e apresentou falha de 35,8%<sup>72</sup>.

Foi tentada a utilização de polidocanol, que não mostrou eficácia quando utilizado em ratas Wistar e macacas Rhesus. Houve dano celular expressivo como fibrose, atrofia, inflamação, metaplasia escamosa e sinéquias nas ratas e sem qualquer alteração nas macacas<sup>73</sup>.

Os micro-implantes endotubários têm sido estudados. Um composto de titânio e dracon, que provoca esterilização definitiva, colocado por histeroscopia, tem mostrado eficácia, embora com a desvantagem de não ter efeito imediato e poder provocar perfurações da tuba uterina, além da destruição do tecido tubário<sup>74-79</sup>.

Outra alternativa relatada para esterilização endotubária utilizou uma combinação de dano térmico controlado do endosalpinge e inserção de uma matriz biocompatível no lúmen tubário, mas que necessita de um período de doze semanas para que a matriz seja incorporada e produza obstrução<sup>80</sup>.

A utilização do laser Nd:YAG por laparoscopia mostrou ser eficaz, embora com falha em torno de 3%, é um método de alto custo, o que inviabiliza seu uso corrente<sup>81</sup>.

Trabalho anterior na linha de pesquisa em adesivo cirúrgico com o n-butil-2-cianoacrilato usado para a obstrução da tuba uterina por via vídeo-histeroscópica em coelhas mostrou, com trinta dias de

observação, ausência de gestação, assim como ausência de perviedade tubária nos testes de pressão ou instilação de corante, permanecendo o polímero formado pelo adesivo no seu local de aplicação. Histologicamente não se constatou alterações da morfologia tubária<sup>82,83</sup>.

Dentro da mesma linha de pesquisa outro trabalho com o mesmo adesivo em obstrução de tubas uterinas de ovelhas, após noventa dias, constatou não ter ocorrido gestação em nenhum dos animais em que foi utilizada a técnica de aplicação vídeo-histeroscópica do adesivo no lúmen tubário, assim como não existiu perviedade nos testes de pressão de rompimento ou com corante. No estudo histológico ficou constatada a presença do polímero circunscrito na luz tubária e a ausência de alterações morfológicas<sup>84</sup>.

Encontrou-se na literatura apenas uma referência de uso de n-butil-2-cianoacrilato em seres humanos, em que duas mulheres foram submetidas à aplicação transvaginal e que após quatro anos de seguimento, controladas por histerosalpingografia, permaneciam com a obstrução tubária<sup>85</sup>. Em contato, estabelecido via correio eletrônico em 2005, com este grupo de pesquisadores, tivemos a notícia de que não houve seguimento de tal experimento, que teve seu controle apenas por imagem, não se sabendo do comportamento do adesivo na estrutura e função da tuba uterina.

Considerou-se que a variabilidade de peso nos subgrupos e entre grupos, mais especificamente a apresentada pelo GE-GRF com diminuição do peso dos animais, se deveu provavelmente ao formaldeído. Os animais apresentaram inapetência e prostração importantes, havendo a necessidade da intervenção do médico veterinário do biotério para o tratamento medicamentoso das intercorrências, o que não influenciou nos resultados da pesquisa, mas que mostrou não ser o adesivo adequado para utilização na luz tubária em decorrência de sua toxicidade.

Tanto a histotoxicidade quanto a toxicidade sistêmica do adesivo de GRF está ligada à quantidade de formaldeído utilizado para a polimerização, sendo que estão sendo propostas a substituição deste por aldeídos menos tóxicos, como o glutaraldeído e o glioxal, que apresentam melhor biocompatibilidade e baixa toxicidade e mantém as propriedades adesivas do GRF<sup>86,87</sup>.

Para contornar a toxicidade apresentada pelos animais, foi utilizado um composto antitóxico, de uso veterinário, com a seguinte composição: acetil-d-L-metionina 5g, cloridrato de colina 2g, cloridrato de tiamina 1g, cloridrato de piridoxina 0,04g, cloridrato de L-arginina 0,60g, riboflavina 0,02g, nicotinamida 0,50g, pantotenato de cálcio 0,20g e glicose 20g diluídos em veículo líquido em quantidade suficiente para

completar 100mL (Mercepton®). A quantidade administrada foi de 2mL pela via intramuscular, diariamente, até que o animal voltasse à ingesta alimentar normal e mostrasse estar ativo novamente.

Os animais dos demais grupos tiveram uma evolução ponderal compatível com o desenvolvimento normal dos animais, uma vez que foram usados animais jovens e ainda em fase de ganho ponderal.

Um dos critérios para avaliar a eficácia da obstrução tubária foi o procedimento *in vivo*, proporcionado pelo cruzamento das fêmeas com os machos comprovadamente férteis. A avaliação da fertilidade para controle sobre as tubas uterinas de coelhas é um parâmetro aceito e utilizado por sua fidedignidade, tendo sido amplamente utilizado em pesquisas sobre reprodução<sup>55,57,59</sup>.

O diagnóstico clínico de gestação foi feito por meio da palpação abdominal das coelhas, técnica de procedimento padrão em bioterismo que consegue detectar o aumento do volume do útero e a movimentação dos fetos<sup>27</sup>. Os acasalamentos ocorreram duas vezes por semana, durante o experimento, com machos reprodutores de comprovada fertilidade, com os quais as coelhas já haviam acasalado e procriado anteriormente<sup>57,59,88</sup>.

A coelha é uma ovuladora induzida, isto é, requer cópula para ovular. A cópula substitui o estrogênio como o estímulo que induz o disparo ovulatório de gonadotrofinas. Os ovuladores induzidos apresentam padrões de crescimento folicular nos quais grupos de folículos se desenvolvem, são mantidos em estado maduro por poucos dias e regredem. Padrões de crescimento folicular podem ser distintamente separados por cada ovário, como nas gatas, mas nas coelhas eles se superpõem exatamente, ocorrendo a maturação folicular nos dois ovários ao mesmo tempo<sup>89</sup>. A implantação do embrião no útero da coelha acontece de sete a oito dias após a fecundação e a gestação dura de trinta a trinta e três dias<sup>88</sup>.

No grupo GSIMU, como esperado, ocorreu a gestação em todos os animais e em todos os tempos observados. Isso significou que o procedimento específico de cateterização não foi agressivo ou lesivo para a tuba uterina a ponto de impedir a gestação. Por outro lado, nos animais do grupo GEFIBRI com trinta dias de observação 50% apresentaram gestação e após cento e oitenta dias 83,3% dos animais apresentaram gestação, o que demonstrou que a cola de fibrina não foi eficaz para promover a obstrução tubária. No grupo GE-GRF não ocorreu nenhum caso de gestação mostrando eficácia de 100%, embora os resultados histológicos, a serem discutidos adiante, e a toxicidade mostrada pelos animais contra-indiquem o seu uso. Por sua vez o adesivo de cianoacrilato mostrou-se eficaz em 100% dos animais na

avaliação de impedimento da gestação.

Terminado o período de observação estipulado e não tendo ocorrido a gestação, a eutanásia foi realizada, com o animal anestesiado, pela injeção intracárdica de sulfato de magnésio em alta concentração. O magnésio é essencial para a atividade de numerosas enzimas e desempenha importante papel na transmissão neuroquímica e na excitabilidade muscular. A presença de altas concentrações de magnésio provoca aumento do tempo de condução, com alargamento dos intervalos P-R e QRS no eletrocardiograma, retardando a velocidade de formação dos impulsos no nódulo sino-atrial, desencadeando assistolia, produzindo parada cardíaca em diástole<sup>90</sup>.

A abertura da cavidade abdominal foi realizada cuidadosamente por meio de uma incisão mediana infraumbilical e procedeu-se à inspeção macroscópica para diagnóstico de gestações extra-uterinas ou identificação de falhas técnicas da cateterização tubária. Não foram constatadas tais alterações em nenhum animal.

A fragilidade da tuba uterina, tanto animal como humana, pode causar acidentes operatórios quando de sua cateterização, como o rompimento e destruição do seu epitélio, sendo mais freqüentes quando da tentativa da colocação de dispositivos que venham a impedir a fecundação<sup>91</sup>.

Nos animais dos grupos GSIMU e GEFIBRI não foram encontradas alterações no provável local de manipulação com o cateter ou da deposição do adesivo de fibrina. O fato foi uma evidência que nem a manipulação com os cateteres na luz tubária ou o adesivo de fibrina causou alterações que pudessem ser detectadas macroscopicamente.

Já no grupo GE-GRF foram notadas alterações visíveis na serosa tubária no local da aplicação do adesivo de gelatina-resorcina-formaldeído. Ocorreu um processo inflamatório evidente caracterizado por áreas escuras de sofrimento vascular, retração cicatricial e deformidade da tuba, demonstrando a histotoxicidade desse adesivo, o que contra-indica sua utilização na esterilização tubária (Figura 2).

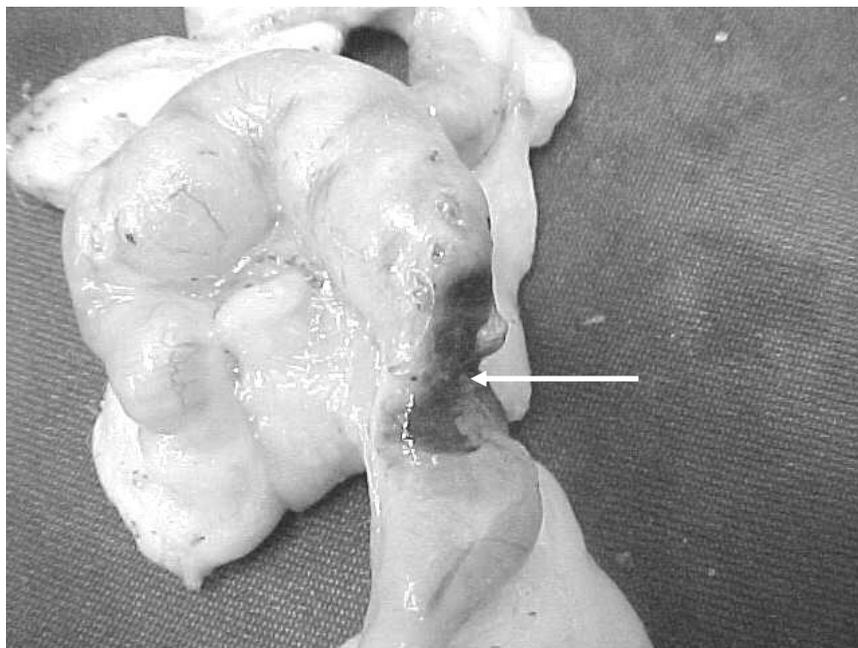


FIGURA 2 – Foto mostrando processo inflamatório com necrose (seta) na junção útero-tubária ocasionada pela aplicação do adesivo de Gelatina-Resorcina-Formaldeído em animal do Grupo Experimento GRF – 180 dias.

Contudo no grupo GEBUTIL foi possível palpar-se o polímero formado pelo adesivo de cianoacrilato no seu local de aplicação na tuba, evidenciando que não ocorreu migração ou expulsão do mesmo, apesar do peristaltismo tubário, produzindo a obstrução tubária.

O teste de perviedade executado foi o teste de pressão de rompimento, por meio da injeção de ar nos corpos uterinos, até 40mmHg, com a tuba submersa em cloreto de sódio a 0,9%. Testando a amplitude da pressão intraluminal dos ovidutos de coelhas quando de sua contração, foi obtida uma média de 40mmHg enquanto a pressão intra-uterina apresentava uma média de 12mmHg<sup>52</sup>. Em outros estudos foi utilizada a pressão de 80mmHg para testar a perviedade das tubas uterinas de coelhas e de ovelhas, sendo o dobro do máximo em que se conseguiu passagem de ar pelas tubas de coelhas normais que foram testadas previamente<sup>82,84</sup>.

Com a realização do teste de pressão de rompimento ficou demonstrado que todas as tubas uterinas, tanto à direita como à esquerda, do GSIMU e do GEFIBRI estavam pérvias, embora cinco

úteros do grupo GEFIBRI não tenham apresentado gestação no período de trinta dias, o que mostrou a ineficácia do adesivo de fibrina para promover obstrução tubária. Já todas as tubas do GE-GRF e do GEBUTIL encontravam-se obstruídas, em todos os tempos de observação de trinta, noventa e cento e oitenta dias. Ficou evidenciado que a aplicação desses adesivos no lúmen tubário foi capaz de impedir a passagem do ar aplicado no teste, provocando a interrupção do trânsito na tuba uterina, e assim não permitir que ocorresse fecundação nos animais em estudo.

No GEBUTIL foi substituída a imersão em xileno por éter de petróleo, em virtude de o xileno dissolver até 80% do cianoacrilato, e os cortes foram realizados com lâmina de diamante, já que a lâmina normal do micrótomo não consegue fazer os cortes necessários ao estudo quando é utilizado o adesivo de n-butil-2-cianoacrilato<sup>92</sup>.

Foi desenvolvido um protocolo do estudo histológico para pesquisar a presença do adesivo. Não foi detectada a presença do adesivo de fibrina nas tubas uterinas do GEFIBRI; nas tubas do GE-GRF não se palpou o adesivo, mas foi palpada uma área de reação fibrótica; no GEBUTIL o adesivo foi palpável e estava presente no local esperado nas trinta tubas em que foi aplicado. O adesivo de cianoacrilato, dessa maneira, demonstrou ser inabsorvível<sup>93</sup>, e também não foi expelido por nenhuma das tubas, que apresenta  $6,0 \pm 0,5$  contrações em cada minuto em direção ao corno uterino<sup>52</sup>.

No estudo histológico do GSIMU não foram notadas alterações dos segmentos do istmo tubário, quer no provável local da manipulação com os cateteres ou à montante ou à jusante, mostrando que a manipulação com cateteres das tubas uterinas não causa danos em longo prazo nem afeta a função das tubas. Dessa maneira, não provocou inflamação nem fibrose, nem anormalidades secretórias, mantendo a função reprodutiva<sup>94,95</sup>. Portanto, o procedimento de cateterização tubária é seguro, é realizado de maneira fácil e com morbidade baixa, não ocasionando alterações funcionais.

Em uma tuba do GEFIBRI foi encontrado um pequeno granuloma, mas sem significado clínico, pois esse animal teve gestação normalmente, não ocorrendo obstrução da tuba; nas demais tubas não foram detectadas alterações. O adesivo de fibrina foi totalmente absorvido e não deixou nenhum sinal que pudesse ser detectado, o que mostra sua biocompatibilidade, mas para a finalidade de criar obstrução tubária foi totalmente ineficaz.

Na análise histológica do GE-GRF foram encontradas alterações significantes como a formação de processo inflamatório crônico, congestão e fibrose da mucosa dessas tubas, resultados encontrados

em todos os tempos do estudo. O adesivo de GRF mostrou eficácia para obstruir a tuba uterina, mas apresentou grande reatividade celular com alterações na morfologia tubária, além do quadro tóxico sistêmico relatado, mostrando ser incompatível para utilização no lúmen tubário com finalidades de esterilização (Figura 3).

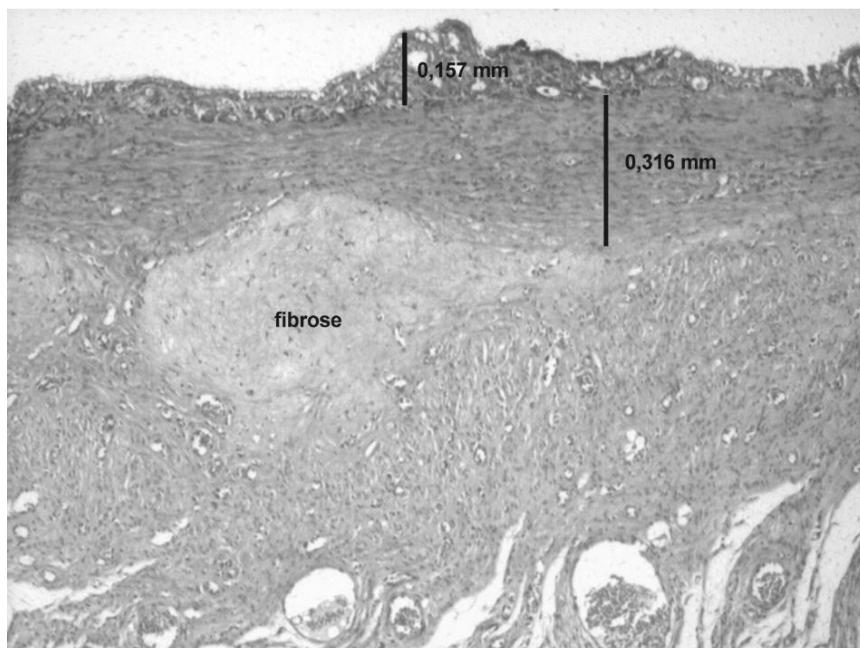


FIGURA 3 – Fotomicrografia de um corte transversal da tuba uterina, à montante da aplicação do adesivo de GRF, em um animal do GE-GRF, aos noventa dias de observação. Mostrando a morfometria da mucosa (MUC) e do miosalpinge (MIO). Notar a fibrose da lâmina própria (fibrose). (HE-50X).

A realização de esterilização tubária pelo método de Pomeroy provoca alterações histológicas no istmo tubário, restritas ao local da ligadura, sendo que a microcirculação distante 0,25cm do local já é comparável com a de tubas não manipuladas<sup>82-84,9,96-98</sup>. Nessa pesquisa não foram encontradas alterações semelhantes às descritas nos grupos GSIMU, GEFIBRI e GEBUTIL, havendo congestão vascular e fibrose detectável apenas no GE-GRF.

Analisando o GEBUTIL, em uma única tuba foram encontradas células polimorfonucleares na luz tubária, mas sem correspondentes manifestações macroscópicas. Tanto à montante como à jusante não se

constatou alterações histológicas, sendo evidenciado tão somente um achatamento das pregas da mucosa no local da aplicação do adesivo<sup>99</sup>. O polímero formado pelo adesivo foi detectado em todas as tubas em que foi utilizado, não ocorrendo expulsão, se comportando como um tampão e causando obstrução.

Não ocorreram alterações que demonstrassem toxicidade celular nem destruição do epitélio tubário, assim também como não ocorreu adesividade da substância ao epitélio, nem foram encontradas porções do adesivo no interior de macrófagos, como relatado com a utilização de metil-cianoacrilato<sup>60</sup>. Não foram detectadas áreas hemorrágicas, nem focos infecciosos. O n-butil-2-cianoacrilato mostrou ser um adesivo biocompatível, não absorvível na tuba uterina, mantendo a obstrução produzida pela sua aplicação em todos os tempos do estudo.

A avaliação morfométrica do diâmetro tubário, feita em centímetros, mostrou não haver diferença entre lados de cada subgrupo no mesmo tempo de estudo de cada grupo ou mesmo quando agrupadas independentemente. Entretanto ocorreu significância estatística na medida do diâmetro tubário do GSIMU, que se apresentou menor do que naqueles grupos em que houve a colocação de adesivo cirúrgico. A média do diâmetro tubário do GSIMU foi menor na comparação entre grupos em cada tempo do estudo. A aplicação de adesivo na luz tubária provoca sua dilatação, aumentando dessa maneira o diâmetro, o que não aconteceu quando só foi realizada a colocação do cateter sem a injeção de nenhuma substância. Pôde-se verificar que mesmo no grupo GEFIBRI, que teve o adesivo absorvido, o diâmetro tubário foi maior que no GSIMU.

Na morfometria da mucosa, feita em milímetros, não ocorreu diferença entre lados nos grupos e nos subgrupos no mesmo tempo de observação. Ocorreu significância estatística quando da comparação das medidas da mucosa no GE-GRF nos tempos de trinta, noventa e cento e oitenta dias quando comparado cada grupo de maneira independente (Figura 4). Também ocorreu significância estatística entre todos os grupos de estudo, quando comparados entre si, nos tempos de noventa e cento e oitenta dias. A média das medidas da mucosa mostra uma maior variabilidade no GEBUTIL. Mesmo com o achatamento ocorrido pela compressão desenvolvida pelo polímero do adesivo de cianoacrilato não existiu nenhum dano à mucosa tubária, contrário ao que se evidenciou com o GE-GRF, que mostrou a espessura menor provavelmente pela destruição ocasionada pela histotoxicidade desse adesivo, o que não ocorreu no GSIMU e no GEFIBRI.

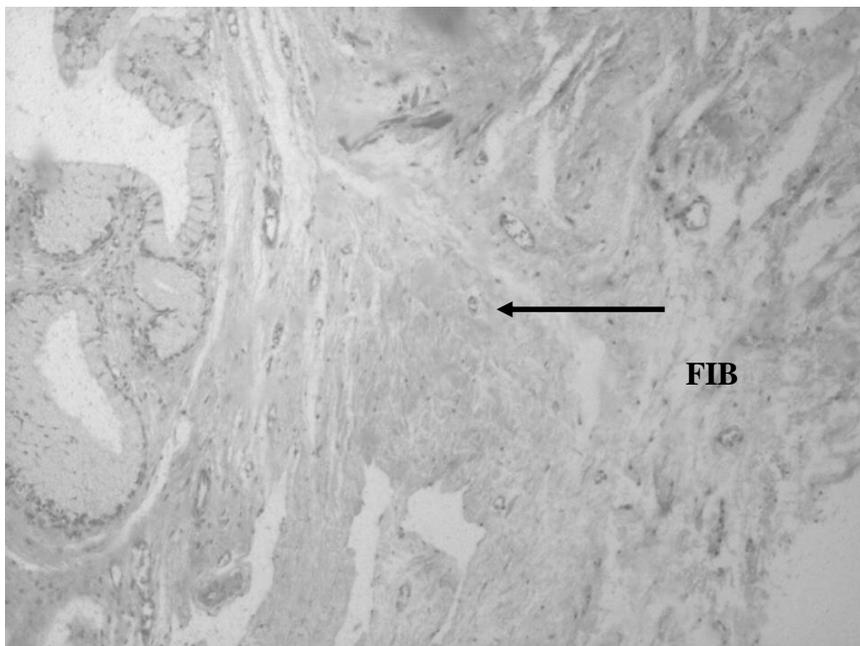


FIGURA 4 – Fotomicrografia de um corte transversal da tuba uterina, no local de aplicação do adesivo de GRF, em um animal do GE-GRF, aos cento e oitenta dias de observação. Notar a extensa área de fibrose (FIB) invadindo e destruindo a camada muscular. (HE-50X).

O miosalpinge foi avaliado morfometricamente em milímetros, e não mostrou variação quando feita a comparação entre lados em cada subgrupo, nem tampouco houve diferença na comparação entre tempos de estudo em cada grupo, nem entre grupos. A diferença estatisticamente significativa foi mostrada no GEBUTIL, quando analisado separadamente, nos tempos de estudo de trinta, noventa e cento e oitenta dias. Quando os grupos foram comparados entre si, foi evidenciada uma significância estatística nos tempos de noventa e cento e oitenta dias entre todos os grupos. As alterações de medida do miosalpinge foram notadas acentuadamente no GEBUTIL, que recebeu o adesivo de cianoacrilato, revelando aumento da espessura do miosalpinge.

Esse aumento das medidas das espessuras e diâmetros está relacionado à presença do adesivo de cianoacrilato no lúmen tubário, provocando a sua obstrução e conseqüente hiperatividade do peristaltismo tubário na tentativa de expulsar o adesivo, o que acabou

não ocorrendo em nenhuma das tubas. Também não ocorreu a sua absorção, dentro do período observado, mostrando seu caráter inabsorvível no lúmen da tuba uterina. O achado está de acordo com outro estudo relatado na literatura de nanopartículas de butilcianoacrilato, preparadas com diferentes estabilizantes (dextran 70.000, poloxamer 188 ou polisorbato 85), sendo o tamanho das partículas determinado antes e após purificação por centrifugação. Após um ano de implantação tecidual não mostrou diminuição do tamanho, já que tal diminuição seria o indicador da degradação<sup>100</sup>.

A Densidade Óptica Total é utilizada dentro da biologia celular para expressar o diagnóstico clínico citológico de modo analítico quantitativo. Faz a verificação da quantidade total de DNA da célula por meio de uma coloração específica e estequiométrica, isto é, a quantidade de corante no núcleo celular é proporcional à quantidade de DNA, permitindo que seja feita a mensuração fotométrica no analisador de imagens, numa relação entre absorbância por micrômetro e área do núcleo<sup>6,101</sup>.

O estudo da Densidade Óptica Total<sup>75</sup> na presente pesquisa mostrou não haver diferenças entre lados do mesmo grupo de estudo e também entre os lados dos subgrupos de mesmo tempo de estudo em cada grupo, assim como entre os diferentes grupos. Na comparação entre os subgrupos de mesmo tempo de estudo dentro de cada grupo, ocorreu significância estatística no GE-GRF, mostrando aumento da Densidade Óptica Total em relação aos demais subgrupos, o que não aconteceu quando se comparou cada grupo em cada tempo do estudo.

O aumento da Densidade Óptica Total no GE-GRF, que utilizou o adesivo GRF, se deveu a grande cito e histotoxicidade do adesivo, causada provavelmente pelo formaldeído de sua formulação, o que provocou uma reação inflamatória e conseqüente hiperplasia celular, que se manteve até o tempo mais longo de observação de cento e oitenta dias (Figura 5).

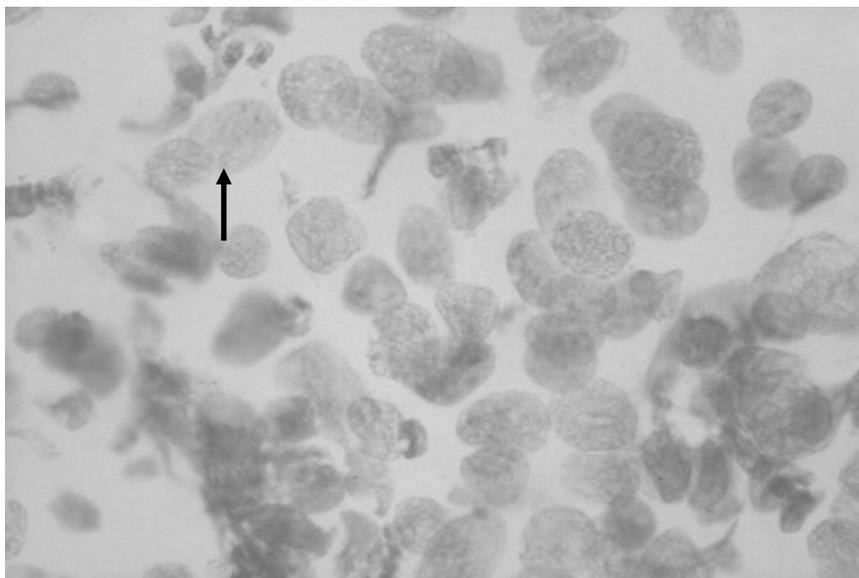
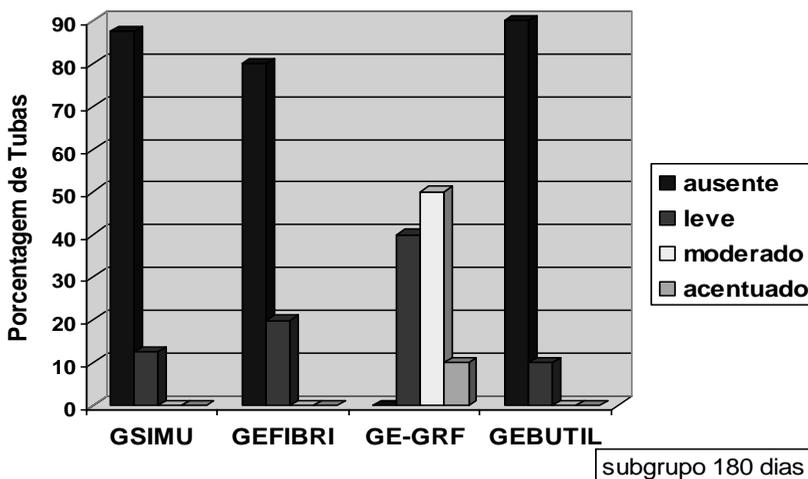


FIGURA 5 – Fotomicrografia de um campo relacionado mostrando a coloração específica do núcleo celular para expressão do DNA (seta). Preparação que será submetida à mensuração fotométrica em analisador de imagens, em um animal do GE-GRF, aos cento e oitenta dias de observação. (FA-400X).

Na análise do processo inflamatório, quando feita a comparação entre os lados direito e esquerdo e entre os subgrupos de mesmo tempo, não foi encontrada significância estatística. O mesmo ocorrendo quando foi feita a comparação entre si dos diferentes grupos avaliados. Já na comparação entre subgrupos, no mesmo tempo de trinta dias, foi notada significância estatística entre os grupos GEFIBRI e GE-GRF com processo inflamatório mais acentuado que os demais grupos. A cola de fibrina provocou reação inflamatória com trinta dias, mas que não foi identificada em tempos posteriores de observação mostrando que a sua absorção ocorreu em fase precoce. Já o adesivo de GRF mostrou processo inflamatório persistente em todos os tempos de observação.

Quando comparados os grupos entre si, em cada tempo de estudo, o GE-GRF apresentou reação inflamatória acentuada em relação aos demais grupos, mostrando a atividade lesiva desse adesivo. Foi detectado processo inflamatório com tendência à cronicidade a longo prazo, que não foi notado nos outros grupos durante todo o tempo da análise, mostrando ser inviável a sua utilização na tuba uterina, mesmo tendo provocado obstrução em todas elas (Gráfico 1).

GRÁFICO 1 – Distribuição da porcentagem de tubas uterinas quanto à classificação do processo inflamatório dos grupos (GSIMU, GEFIBRI, GE-GRF e GEBUTIL) no subgrupo de 180 dias.



Baseado nos resultados apresentados, pode-se dizer que o procedimento por via endoscópica de cateterização tubária com a finalidade de esterilização utilizando a aplicação de adesivos cirúrgicos é factível e mostrou-se eficaz e seguro, embora a sua eficácia dependa do tipo de adesivo utilizado. Detalhes técnicos da cateterização tubária deverão ser aperfeiçoados e adaptados a outras espécies de animais e em particular aos seres humanos.

Estudos experimentais devem ser realizados por períodos de tempo mais longos, embora dentro da correspondência do ciclo vital da coelha, o período de seis meses possa ser considerado como de longa duração. Outros mamíferos não roedores, de maior porte, como as ovelhas, devem ser utilizados para testar esses adesivos em períodos de seis ou doze meses, uma vez que o ponto questionável é a permanência do tampão de adesivo de cianoacrilato por longo prazo.

Não se localizaram na literatura relatos experimentais ou em seres humanos da utilização do adesivo de GRF para esterilização tubária. A toxicidade sistêmica do adesivo e sua intensa reação inflamatória são fatores que desestimulam a continuidade de sua aplicação, contudo a alteração proposta na sua composição química pela mudança do polimerizador abre novas perspectivas para seu emprego<sup>86,87</sup>.

A cola de fibrina, pela sua rápida e total absorção, não cumpre os

princípios básicos e indispensáveis para produzir a obstrução tubária desejada para uma esterilização permanente e estável. O relato único da literatura sobre seu uso em coelhas mostrou que ela foi ineficiente na totalidade dos casos<sup>58</sup>. A sua aplicação para os fins de esterilização tem que ser repensada nos moldes propostos nesta linha de pesquisa, uma vez que os trabalhos realizados até aqui mostraram resultados desfavoráveis à sua utilização.

As referências ao n-butil-2-cianoacrilato dizem respeito aos trabalhos anteriores nesta linha de pesquisa<sup>82-84</sup> e ao único relato do uso diretamente em seres humanos com bons resultados após quatro anos de seguimento com controles por imagem<sup>85</sup>. Em face dos resultados obtidos nesta pesquisa o cianoacrilato merece um aprofundamento no entendimento de sua aplicação.

Dessa maneira, a realização de novos trabalhos experimentais para comprovar a real eficácia do método em questão proporcionará uma aplicabilidade clínica em larga escala, abrindo a possibilidade de um método eficaz, de baixo custo operacional, seguro, de mínima morbidade, de execução rápida, sem o envolvimento de hospitalização, procedimentos cirúrgicos invasivos e procedimentos anestésicos.

Vários procedimentos e artefatos têm sido colocados à disposição daquelas mulheres que desejam escolher um método contraceptivo temporário ou definitivo<sup>102</sup>, mas por vezes a esterilização programada para o pós-parto encontra barreiras na sala de pré-parto, envolvendo desde condições clínicas até a falta de estrutura física para a realização do procedimento<sup>103</sup>.

Os custos de um procedimento laparoscópico para esterilização ficam em torno de US\$ 3449 e o implante de um artefato endotubário custam US\$ 1374<sup>104</sup>, enquanto o procedimento proposto na pesquisa apresentada gerará um custo total de aproximadamente 200 dólares americanos.

## **CONCLUSÕES**

Concluimos que o método proposto mostrou eficácia no período de tempo estudado quando se utilizou o adesivo de n-butil-2-cianoacrilato, tendo aplicabilidade clínica viável e factível de execução no sistema público de saúde em nível ambulatorial, com baixo custo, não causando alterações morfológicas das tubas uterinas e produzindo obstrução tubária eficaz. O adesivo de fibrina não obstruiu as tubas uterinas e o adesivo de GRF, embora tenha causado obstrução, provocou danos celulares significantes e inflamação crônica nas tubas uterinas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbott J. Transcervical sterilization. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2005; 19(5):743-56.
2. Chapman L, Magos A. Currently available devices for female sterilization. *Expert Rev Med Devices.* 2005; 2(5):623-34.
3. Rivoire HC, Fagundes DJ, Traversi MCF, Kinas PG. Modelo de anestesia intramuscular em coelhos para cirurgia experimental. *Vitalle.* 2004;16(2):39-47.
4. Thurmond AS, Rosch J, Ross PL, Uchida BT, Scanlan RM, Patton PE. Transvaginal fallopian tube catheterization in an animal model. *Invest Radiology.* 1988; 23(11):818-21.
5. Ross PL, Thurmond AS, Uchida BT, Jones MK, Scanlan RM, Kessel E. Transcatheter tubal sterilization in rabbits, technique and results. *Invest Radiology.* 1994; 29(5):570-3.
6. Wied GL, Bibbo M, Bartels PH. Computer analysis of microscopic images: application in cytopathology. *Pathol Annu.* 1981;16: 367-409.
7. Itikawa O, Ogura Y. The Feulgen reaction after hydrolysis at room temperature. *Stain Technol.* 1954; 29(1):13-5.
8. Barbot J, Dubuisson JB, Santarelli J. Etude expérimentale de la perméabilité des trompes de lapine après section de le isthme et anastomose microchirurgicale. *J Chir.* 1979; 116(4):307-10.
9. Bernhardt-Huth D, Schlösser HW, Frantzen CH. Morphological alterations of rabbit oviducts after ligation of the isthmus or ampulla. *Arch Gynecol.* 1980; 229(3):167-76.
10. Thurmond AS, Rösch J, Ross PL, Uchida BT, Scanlan RM, Patton PE. Transvaginal fallopian tube catheterization in an animal model. *Invest Radiology.* 1988; 23(11):818-21.
11. Schanaider A, Silva PC. Uso de animais em cirurgia experimental. *Acta Cir Bras [serial online]* 2004;19(4):441-47. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.
12. Fagundes DJ, Taha MO. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. *Acta Cir Bras.* 2004; 19(1): 59-65.
13. Ferrigno CRA, Stopiglia AJ, Bechara GH, Futema F. Comparação entre os efeitos da mistura gelatina-resorcina-formaldeído e do n-butil-cianoacrilato em angiorráfias de veia jugular externa de coelhos. *Acta Cir Bras.* 2003; 18(3):250-6.
14. Ferrigno CRA, Laus JL, Bechara GH, Stopiglia AJ. Comparação entre os efeitos da mistura gelatina-resorcina-formaldeído (Colagel®) e do n-butil-2-cianoacrilato (Histoacryl®) na esofagoplastia cervical de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*; Linnaeus 1758). Estudo clínico e morfológico. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 1997; 34(4):218-24.
15. Fagundes DJ, Taha MO, Montero EFS. Adesivo em cirurgia. In: Burihan E, (ed.) *Condutas em cirurgia.* São Paulo (SP): Editora Atheneu. 2001. p.685-90.
16. Ciapetti G, Stea S, Cenni E, Sudanese A, Marraro D, Toni A, Pizzoferrato A. Toxicity of cyanoacrylates in vitro using extract dilution assay on cell cultures. *Biomaterials.* 1994; 15(2):92-6.
17. Haj N, Haj M, Shasha SM, Oettinger M. Tubal anastomosis in the rat using the tissue adhesive cyanoacrylate (Histoacryl). *Gynecol Obstet Invest.* 1994; 38(1):54-6.
18. Park W, Kim WH, Lee CH, Kim DY, Choi JH, Huh JW, Sung HM, Kim IS, Kweon OK. Comparison of two fibrin glues in anastomoses and skin closure. *J Vet Med A.* 2002; 49(7):385-9.

19. Amaral AT, Taha MO, Fagundes DJ, Simões MJ, Novo NF, Juliano Y. Morphologic study of enteroanastomosis with sutures in separated stitches supplemented with synthetical adhesive or biological adhesive. *Acta Cir Bras.* 2004; 19(4):393-404.
20. Fontes CER, Taha MO, Fagundes DJ, Ferreira MV, Prado Filho OR, Mardegan MJ. Estudo comparativo do uso de cola de fibrina e cianoacrilato em ferimento de fígado de rato. *Acta Cir Bras.* 2004; 19(1):37-42.
21. Taha MO, Mueller SF, Fraga MM, Rosseto M, Fagundes DJ, Juliano Y, Caricati-Neto A. Morphologic analysis of the fibular nerve repaired with fibrin adhesive. *Transplant Proc.* 2004; 36(2):401-3.
22. Bahar I, Weinberger D, Lusky M, Avisar R, Robinson A, Gaton D. Fibrin glue as a suture substitute: histological evaluation of trabeculectomy in rabbit eyes. *Curr Eye Res.* 2006;31(1):31-6.
23. Biondo-Simões MLP, Lemos R, Capraro MA, Cardoso AF, Adur RC, Pinto A. Use of adhesives in renal traumatic injuries. *Acta Cir Bras.* 1995;10(4):161-3.
24. Walker JD, Kratz JM, Basler CG, Meck LP, Stratton JR, Kribbs SB, Crawford Jr FA, Spinale FG. Fate of gelatin-resorcinol-formaldehyde/glutaraldehyde adhesive on femoral vessel morphology. *J Surg Res.* 1997; 71(1):73-8.
25. Sung HW, Huang DM, Chang WH, Huang LL, Tsai CC, Liang IL. Gelatin-derived bioadhesives for closing skin wounds: an in vivo study. *J Biomater Sci Polym Ed.* 1999; 10(7):751-71.
26. Rittoo D, Sintler M, Burnley S, Millns P, Smith S, Vohra R. Gelatine-resorcine-formol glue as a sealant of ePTFE patch suture lines. *Int Angiol.* 2001; 20(3):214-7.
27. MacGillivray TE. Fibrin sealants and glues. *J Card Surg.* 2003; 18(6):480-5.
28. Tarsoly E, Bornemisza GY, Furka I. Tissue reaction to Hystoacryl blue adhesive and histological investigation of its disappearance in various organs. *Acta Chir Acad Sci Hung.* 1982; 23(2):61-73.
29. O'Leary JA. Tissue adhesives and pelvic hemostasis: an evaluation of isobutyl-2-cyanoacrylate. *J Surg Oncol.* 1971;3(2):117-20.
30. Borba CC, Neto ER, Val RLR, Borba Jr CO, Soufen MS, Neto AF, Sakotani AY. Uso do cianoacrilato na síntese da pele de ratos trabalho de pesquisa experimental. *Acta Cir Bras* [serial online]. 2000;15(1). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acta>.
31. Pelissier P, Casoli V, Bail BL, Martin D, Baudet J. Internal use of n-butyl-2-cyanoacrylate (Indermil) for wound closure: an experimental study. *Plast Reconstr Surg.* 2001;108(6):1661-6.
32. Döner F, Sari I. Facial wound closure with butyl-2-cyanoacrylate. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2003;14(4):359-71.
33. Gennari R, Rotmensz N, Ballardini B, Scevola S, Perego E, Zanini V, Costa A. A prospective, randomized, controlled clinical trial of tissue adhesive (2-octylcyanoacrylate) versus standard wound closure in breast surgery. *Surgery.* 2004;136(3):593-9.
34. Singer AJ, Thode Jr HC. A review of the literature on octylcyanoacrylate tissue adhesives. *Am J Surg.* 2004;187(2):238-48.
35. Blondeel PNV, Murphy JW, Debrosse D, Nix III JC, Puls LE, Theodore N, Coulthard P. Closure of long surgical incisions with a new formulation of 2-octylcyanoacrylate tissue adhesive versus commercially available methods. *Am J Surg.* 2004; 188(3): 307-13.
36. Marcovich R, Williams AL, Rubin MA, Wolf Jr JS. Comparison of 2-octyl-

cyanoacrylate adhesive, fibrin glue, and suturing for wound closure in the porcine urinary tract. *Urology*. 2001;57(4):806-10.

37. Seifman BD, Rubin MA, Williams AL, Wolf Jr JS. Use of absorbable cyanoacrylate glue to repair an open cystotomy. *J Urol*. 2002; 167(4):1872-5.

38. Reece TB, Maxey TS, Kron IL. A prospectus on tissue adhesives. *Am J Surg*. 2001; 182(2-Suppl 1):40S-44S.

39. Kulkarni SS, Chava VK. Comparison of cyanoacrylate and silk sutures on healing of oral wounds – an animal model study. *Indian J Dent Res*. 2003; 14(4):254-8.

40. Qu L, Jung Z, Wang Y. Sutureless anastomoses of small and medium sized vessels by medical adhesive. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2004;28(5):526-33.

41. Mota FCD, Eurides D, Freitas PMC, Beletti ME, Goulart MR, Cunha LMF, Silva LAF, Fioravanti MCS. Use of the n-butyl-cyanoacrylate adhesive and the polyglactine thread suture for corneal raphy in rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J Vet Sci*. 2004; 5(3):267-70.

42. Ozmen MM, Ozalp N, Zulfikarogly B, Abbasoglu L, Kacar A, Seckin S, Koc M. Histoacryl blue versus sutured left colonic anastomosis: experimental study. *ANZ J Surg*. 2004; 74(12): 1107-100.

43. Fotiadis C, Leventis I, Adamis S, Gorgoulis V, Domeyer P, Zografos G, Sechas M, Skalkeas G. The use of isobutylcyanoacrylate as a tissue adhesive in abdominal surgery. *Acta Chir Belg*. 2005; 105(4): 392-6.

44. Reckers LJ, Fagundes DJ, Cohen M, Raymundo JLP, Moreira MB, Paiva VC. Medial meniscus transplantation using cyanoacrylate in rabbits. *Acta Cir Bras*. 2006; 21(2): 92-6.

45. Ozisik PA, Inci S, Soylemezoglu F, Orhan H, Ozgen T. Comparative dural closure techniques: a safety study in rats. *Surg Neurol*. 2006; 65(1): 42-6.

46. Massone F, editor. *Anestesiologia veterinária: farmacologia e técnicas*. 2ª ed. Rio de Janeiro (RJ): Editora Guanabara Koogan S.A.; 1994.

47. Fonseca NM, Goldenberg S, Gomes PO, Lima CAP. Anestesia em coelhos. *Acta Cir Bras*. 1996; 11(2): 82-104.

48. Silverman J, Huhndorf M, Bolk M, Slater G. Evaluation of a combination of tiletamina and zolazepam as an anesthetic for laboratory rodents. *Lab Anim Sci*. 1983; 33(5):457-60.

49. Massone F. Anestesia de 1 a 10. *Nosso Clínico* 1998; 3:7-14.

50. Schossler JE, Sampaio AA, Schossler DR. Anestesia geral em coelhos pela tiletamina-zolazepam associada ao fentanil-droperidol. *Rev Centro Cien Rurais*. 1989;19(3): 267-72.

51. Schossler JE, Schossler DR. Avaliação clínica da anestesia geral pela tiletamina-zolazepam associada ao fentanil em ratos (*Rattus norvegicus albinus*). *Acta Cir Bras*. 1993; 8(1): 32-4.

52. Suzuki H, Tsutsumi Y. Intraluminal pressure changes in the oviduct, uterus, and cervix of the mated rabbit. *Biol Reprod*. 1981;24(4):723-33.

53. Maubon A, Rouanet JP, Laurent A, Joujoux JM, Cover S, Courtieu, Wassef M, Godlewski G, Honiger J, Lopez FM, Mares P. Tubal sterilization by selective catheterization in an animal model. *Invest Radiology*. 1994;29(2):156-61.

54. Ross PL, Thurmond AS, Uchida BT, Jones MK, Scanlan RM, Kessel E. Transcatheter tubal sterilization in rabbits, technique and results. *Invest Radiology*. 1994; 29(5): 570-3.

55. Maubon AJ, Thurmond AS, Laurente A, Honiger JE, Scanlan RM, Rouanet JP.

Selective tubal sterilization in rabbits: experience with a hydrogel combined with a sclerosing agent. *Radiology*. 1994;193(3):721-3.

56. Berkey GS, Nelson R, Zuckerman AM, Dillehay D, Cope C. Sterilization with methyl cyanoacrylate-induced fallopian tube occlusion from a nonsurgical transvaginal approach in rabbits. *JVRI*. 1995;6(5):669-74.

57. Davis RH, Erb R, Kyriazis GA, Balin H. Fallopian tube occlusion in rabbits with silicone rubber. *J Reprod Med*. 1975;14(2):56-61.

58. Sonmez AS, Arub I, Dunn RC, Kaufman RH, Chuong CJ. Sterilization with fibrin sealant in a rabbit uterine horn model. *Am J Obstet Gynecol*. 1997;177(3):573-8.

59. Hurts BS, Ryan T, Thomsen S, Lawes K. Computer-controlled bipolar endotubal sterilization is successful in a rabbit model. *Fertil Steril*. 1999;71(4):765-70.

60. Corfman PA, Richart RM, Taylor HC. Response of the rabbit oviduct to a tissue adhesive. *Science*. 1965;148:1348-50.

61. Spörri S, Bell B, Dreher E, Schneider H, Motamedi M. Tubal sterilization by means of endoluminal coagulation: an in vivo study in rabbits. *Contraception*. 2000;62(3):141-7.

62. Spörri S, Bell B, Yandell R, Motamedi M. Diode laser assisted transcervical tubal sterilization: an in vivo study in rabbits. *Lasers Surg Med*. 2001;29:379-385.

63. Abdala N, Levitin A, Dawson A, Maffra Jr R, Munoz-Ramirez H, Godec K, Dolmatch BL. Use of ethylene vinyl alcohol copolymer for tubal sterilization by selective catheterization in rabbits. *J Vasc Interv Radiol*. 2001;12(8):979-84.

64. Seo TS, Oh JH, Yoon Y, Ryu KN, Lim JW. Occlusion of the Fallopian tube by selective transcatheter radiofrequency electrocoagulation: an experimental study in rabbits. *J Vasc Interv Radiol*. 2002;13(4):399-404.

65. Binkert CA, Pavcnik D, Andrews RT, Loriaux MM, Uchida B, Brountzos E, Rösch J. Fallopian tube occlusion with use of a small intestine submucosa device: evaluation in a rabbit model. *J Vasc Interv Radiol*. 2004;15(6):609-13.

66. McLemore R, Kim EJ, Brandon TA, Aerni G, Roy KH, Vernon BL. Tubal sterilization with a waterborne polyethylene glycol in situ cross-linking material: a minimally invasive approach. *Fertil Steril*. 2005;83(Suppl 1):1284-92.

67. Peterson HB, Xia Z, Wilcox LS, Tylor LR, Trussell J. Pregnancy after tubal sterilization with silicone rubber band and spring clip application. *Obstet Gynecol*. 2001;97(2):205-10.

68. Hart R, Magos A. Development of a novel method of female sterilization: the development of a novel method of hysteroscopic sterilization. *J Lapar Adv Surg Tec*. 2002;12(5):365-70.

69. Zipper J, Kessel E. Quinacrine sterilization: a retrospective. *Int J Gynecol Obstet*. 2003;83(Suppl 2):S7-S11.

70. Lu W, Zhu J, Zhong C, Zhao Y. A comparison of quinacrine sterilization (QS) and surgical sterilization (TL) in 600 women in Ghizhou Province, China. *Int J Gynecol Obstet*. 2003;83(Suppl 2):S51-S58.

71. Ferreira CRC, Magalhaes DRB, Lippes J. Sonographic recognition of three cases of septate uteri diminishes failures of quinacrine sterilization. *Contraception*. 2006; 73(4): 433-6.

72. Bairagy NR, Mullick BC. Use of erythromycin for nonsurgical female sterilization in West Bengal, India: a study of 790 cases. *Contraception*. 2004;69(1):47-9.

73. Jensen JT, Rodriguez MI, Liechtenstein-Zábrák J, Zalanyi S. Transcervical

polidocanol as a nonsurgical method of female sterilization: a pilot study. *Contraception*. 2004;70(2):111-5.

74. Ubeda A, Labastida R, Dexeus S. Essure®: a new device for hysteroscopic tubal sterilization in an outpatient setting. *Fertil Steril*. 2004;82(1):196-9.

75. McSwain H, Shaw C, Hall LD. Placement of the Essure permanent birth control device with fluoroscopic guidance: a novel method for tubas sterilization. *J Vasc Interv Radiol*. 2005;16(7):1007-12.

76. Litta P, Cosmi E, Sacco G, Saccardi C, Ciavattini A, Ambrosini G. Hysteroscopic permanent tubal sterilization using a nitinol-dracon intratubal device without anaesthesia in the outpatient setting: procedure feasibility and effectiveness. *Hum Reprod*. 2005;20(12):3419-22.

77. Gibon E, Lopès P, Linet T, Martigny H, Orieux C, Philippe HJ. Hysteroscopic fallopian tube sterilization procedure: feasibility and one-year follow-up. *Gynecol Obstet Fertil*. 2006;34(3):202-8.

78. Weston G, Bowditch J. Office ultrasound should be the first-line investigation for confirmation of correct Essure placement. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2005;45(4):312-5.

79. Thoma V, Chua I, Garbin O, Hummel M, Wattiez A. Tubal perforation by Essure microinsert. *J Minim Invasive Gynecol*. 2006;13(2):161-3.

80. Abbot J. Transcervical sterilization. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2005;19(5):743-56.

81. Erian J, El-Toukhy T, Chandakas S, Hill NCW, Theodoridis T. Laparoscopic laser sterilization: an alternative option. *J Obstet Gynaecol*. 2005;25(7):681-84.

82. Rivoire HC. Aplicação transvaginal de n-butil-2-cianoacrilato e o estudo da perviedade das tubas uterinas de coelhas [Dissertação – Mestrado], São Paulo (SP): Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina; 2001.

83. Rivoire HC, Fagundes DJ, Taha MO, Novo NF, Juliano Y. Esterilização tubária com adesivo cirúrgico sintético: estudo experimental. *Rev Col Bras Cir*. 2003; 30(5):337-43.

83. Bigolin S. Estudo da perviedade das tubas uterinas após aplicação transvaginal de n-butil-2-cianoacrilato, em ovelhas [Dissertação – Mestrado], São Paulo (SP): Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina; 2005.

84. Pelage JP, Herbreteau D, Paillon JG, Murray JM, Rymer R, Garance P. Selective salpingography and fallopian tubal occlusion with n-butyl-2-cyanoacrylate: report of two cases. *Radiology*. 1998;207(3):809-12.

86. Samir B, Marini CP, Bauman FG, Shirazian D, Damiani P, Robertazzi R, Jacobowitz IJ, Acinapura A, Cunningham JN. Comparative study of biological glues: cryoprecipitate glue, two-component fibrin sealant, and "French" glue. *Ann Thorac Surg*. 1995;60(5):1255-62.

87. Nakajima T, Kawazoe K, Izumoto H, Kamada T, Kataoka T, Yoshioka K, Sugai T. Influence of gelatin-resorcin-formalin glue on mid-term redissection after aortic repair. *Surg Today*. 2005;35(2):112-16.

88. Gürtler K, Ketz HA, Kolb E, Schröder L, Seidel H. A fisiologia da reprodução. In: Kolb E, editor. *Fisiologia Veterinária*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A.;1984. p.374-412.

89. Cunningham JG, editor. In: *Tratado de Fisiologia Veterinária*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A.;1999. p.361-7.

90. Mudge GH, Weiner IM. Fármacos que afetam o volume e a composição dos líquidos

corporais. In: Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P, editores. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 5ª ed. Rio de Janeiro (RJ): Editora Guanabara Koogan S.A.;1991. p.449-64.

91. Valle RF, Carignan CS, Wright TC. Tissue response to the STOP microcoil transcervical permanent contraceptive device: results from a pre hysterectomy study. *Fertil Steril*. 2001;76(5):974-80.

92. Stephan E, Buntrock P, Köhler ST. Correlating animal experimental investigations various systems of tissue adhesives. 1<sup>st</sup> tensile strength investigations. 2<sup>nd</sup> histological and morphometric investigations. *Z Exp Chir Transplant Künstl Organe*. 1989;22:221-34.

93. Linden Jr CL, Shalaby SW. Performance of modified cyanoacrylate composition as tissue adhesives for soft and hard tissues. *J Biomed Mater Res*. 1997;38(4):348-55.

94. Maubon AJ, Thurmond AS, Nikolchev J, Khera A, Machan LS, Rouanet JP. Endoscopic transvaginal approach to the rabbit uterine cervix: improvement in the technique of selective tubal catheterization. *Acad Radiol*. 1997;4(4):270-4.

95. Diamond MP, Leach RE, Ginsburg KA, El-Mowafi DM, Dawe E, Scanlan RM. Effects of cornual catheterization on uterotubal histology and function. *Fertil Steril*. 2005;84(1):212-6.

96. El-Banna AA, Hafez ESE. Profile analysis of the oviductal wall in rabbits and cattle. *Anat Rec*. 1970;166(1):469-78.

97. Verco CJ, Gannon BJ, Jones WR. Rabbit oviduct microvascular architecture after tubal ligation. *Fertil Steril*. 1983;40(1):127-30.

98. Del Campo CH, Ginther OJ. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: guinea pigs, rats, hamsters, and rabbits. *Am J Vet Res*. 1972;33(12):2561-78.

99. Galil KA, Schofield ID, Wright GZ. Detection of cyanoacrylates tissue adhesives in histological sections. *J Biomed Mater Res*. 1984;18(6):609-16.

100. Sommerfel P, Sabel BA, Schroeder U. Long-term stability of PBCA nanoparticle suspensions. *J Microencapsul*. 2000;17(1):69-79.

101. Wied GL, Bibbo M, Bartels PH. Computer analysis of microscopic images: application in cytopathology. *Pathol Annu*. 1981;16:367-409.

102. Sommerfel P, Sabel BA, Schroeder U. Long-term stability of PBCA nanoparticle suspensions. *J Microencapsul*. 2000;17(1):69-79.

103. Peterson HB, Curtis KM. Long-acting methods of contraception. *N Engl J Med*. 2005;353(20):2169-75.

104. Chapman L, Magas A. Currently available devices for female sterilization. *Expert Rev Med Devices*. 2005;2(5):623-34.

Recebido em 15/09/06

Aceito em 30/09/06