

DIMAS ANDRÉ MILCHESKI

**Estudo experimental de avulsão parcial de retalho cutâneo
em membros inferiores de ratos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Clínica Cirúrgica

Orientador: Prof. Dr. Marcus Castro Ferreira

São Paulo

2010

DIMAS ANDRÉ MILCHESKI

**Estudo experimental de avulsão parcial de retalho cutâneo
em membros inferiores de ratos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Clínica Cirúrgica

Orientador: Prof. Dr. Marcus Castro Ferreira

São Paulo

2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Milcheski, Dimas André

Estudo experimental de avulsão parcial de retalho cutâneo em membros inferiores de ratos / Dimas André Milcheski. -- São Paulo, 2010.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Clínica Cirúrgica.

Orientador: Marcus Castro Ferreira.

Descritores: 1.Ferimentos e lesões 2.Extremidade inferior 3.Transplante de pele
4.Fenômenos fisiológicos da pele 5.Pele/lesões 6.Necrose/etiologia 7.Uso de
medicamentos 8.Modelos animais 9.Cirurgia Plástica

USP/FM/DBD-507/10

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Dimas e Naides, pelo amor e carinho. O empenho por eles empreendido permitiu minha formação como pessoa e médico.

Ao meu irmão, David, pela amizade e companheirismo.

À minha esposa, Karine, pelo amor, motivação e compreensão contínuos.

Aos meus filhos, Alexia e André, pela alegria e fonte de inspiração constantes.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marcus Castro Ferreira, Professor Titular da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, meu orientador, pela sua orientação, seus ensinamentos, seu apoio, sua confiança, e modelo profissional.

Ao Dr. Paulo Tuma Jr, responsável pelo Grupo de Cirurgia de Mão da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela colaboração na minha formação profissional.

Ao Dr. Hugo Alberto Nakamoto, amigo de vários anos, pela amizade e colaboração nas diversas atividades científicas e profissionais em comum.

Ao Dr. Aylton Cheroto Filho, amigo e colaborador durante a residência médica e carreira profissional.

Ao acadêmico de medicina, Lucas Nóbegra, pelo auxílio nos experimentos realizados nesta tese.

À Sra. Thais Cocarelli, estatístico, pela contribuição na organização e análise dos dados estatísticos apresentados nesta tese.

À secretária da pós-graduação em Clínica Cirúrgica, Eliane Falconi Monico Gazzetto, pela colaboração e orientação nos aspectos regimentais e administrativos da pós-graduação.

A auxiliar técnica de laboratório, Maria Aparecida Moreira, pelo significativo auxílio e pela diligência na condução dos experimentos em laboratório.

À oficial administrativa, Edna Maria Rodrigues dos Santos, e à assistente administrativa, Silvana Aparecida Biagioni, pela colaboração nos aspectos burocráticos da pós-graduação.

A todos os membros da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, que tiveram participação direta ou indireta na elaboração desta tese.

EPÍGRAFE

“Se você é capaz de sonhá-lo, é capaz de fazê-lo”

Walt Disney (1901 – 1966)

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento da publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª Ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Lista de Símbolos

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Objetivo.....	8
2. MÉTODOS.....	9
2.1 Animais.....	9
2.2 Modelo experimental de desenluvamento cutâneo.....	10
2.3 Grupos controle e experimentais.....	18
2.4 Critérios de inclusão e exclusão.....	20
2.5 Avaliação da área de necrose e da área total do retalho.....	22
2.6 Variáveis estudadas.....	24
2.7 Análise estatística.....	25
2.8 Autofagia e mortalidade.....	28
3. RESULTADOS.....	27
3.1 Análise da área de necrose e da área total do retalho.....	28
3.2 Relação entre área de necrose e área total do retalho.....	32
4. DISCUSSÃO.....	34
4.1 Considerações gerais.....	34
4.2 Modelo apresentado.....	40

4.3 Comparação entre os grupos estudados.....	43
4.4 Fármacos utilizados.....	46
4.4.1 Eficácia da enoxaparina.....	46
4.4.2 Eficácia da pentoxifilina.....	49
4.4.3 Eficácia do alopurinol.....	52
4.5 Considerações finais.....	54
5. CONCLUSÕES.....	56
6. ANEXOS.....	57
7. REFERÊNCIAS.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	adenosina trifosfato
Dr.	Doutor
ed.	edição
et al.	e outros
fig.	figura
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
G	grupo
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IP	intraperitoneal
IV	intravenoso
n	número de pacientes
p.	página
prof.	professor
SC	subcutâneo

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	centímetro
cm ²	centímetro quadrado
g	grama
mg/kg	miligrama por quilograma de peso
mg/ml	miligrama por mililitro
mg	miligrama
ml	mililitro
®	marca registrada
N	normal
O ₂	oxigênio
p	nível descritivo (estatística)
x	versus
UI/kg	unidade internacional por quilograma de peso
=	igual a
<	menor que
>	maior que
%	por cento

RESUMO

Milcheski DA. *Estudo experimental de avulsão parcial de retalho cutâneo em membros inferiores de ratos [tese].* São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010. 69p.

INTRODUÇÃO: Os desenlívamentos cutâneos são lesões graves e frequentemente há dificuldade para o cirurgião decidir qual o tratamento mais adequado a ser instituído, o reposicionamento e sutura do retalho ou o desengorduramento do retalho e enxertia da pele avulsionada. A conduta cirúrgica de reposicionamento e sutura do retalho é mais rápida e simples de ser realizada, mantém as características anatômicas e fisiológicas locais, mas frequentemente evolui com perda parcial ou total do retalho avulsionado. O tratamento cirúrgico de adelgaçamento do retalho desenluvado e enxertia da pele obtida tem a desvantagem de resultar em aspecto estético e protetivo inferiores, mas é o tratamento mais utilizado devido à maior taxa de integração do enxerto. Medicações com propriedades de aumentar a perfusão do retalho desenluvado podem permitir a conduta cirúrgica de reposicionamento e sutura do retalho ao seu leito original, mantendo as vantagens da cobertura cutânea original e preservando total ou parcialmente a viabilidade do retalho. Este estudo avaliou o efeito dos fármacos enoxaparina, pentoxifilina e alopurinol na diminuição da área de necrose de retalhos cutâneos avulsionados através da utilização de um modelo experimental de desenlívamento cutâneo em membros inferiores de ratos. **MÉTODOS:** Os animais foram divididos em 4 grupos com 25 ratos em cada um deles. Os quatro grupos foram submetidos ao modelo proposto de desenlívamento de todo membro inferior, resultando em um retalho de fluxo distal que foi reposicionado ao leito e suturado. O grupo 1 (avulsão / controle) recebeu 1ml de solução salina via intraperitoneal. O grupo 2 (avulsão / enoxaparina) recebeu 1 ml de enoxaparina (320 UI/kg) via subcutânea. O grupo 3 (avulsão / pentoxifilina) recebeu 1 ml de pentoxifilina (25 mg/kg) via intraperitoneal. O grupo 4 (avulsão / alopurinol) recebeu 1 ml de alopurinol (45 mg/kg) via intraperitoneal. As medicações foram infundidas em dose única imediatamente após o reposicionamento e sutura do retalho avulsionado. Os animais foram observados até o 7º dia pós-operatório, quando foram sacrificados e o retalho desenluvado foi retirado e analisado. A área total do retalho e a área de necrose do retalho foram quantificadas para todos os animais e análise estatística foi realizada entre os grupos. **RESULTADOS:** a mediana da área total do retalho desenluvado (cm²) foi de 5,633 para G1, 5,353 para G2, 5,505 para G3 e de 5,870 para G4 (p = 0,7460). A mediana da área de necrose do retalho desenluvado (cm²) foi de 3,368 para G1, 1,663 para G2, 2,297 para G3 e de 1,888 para G4 (p <

0,0001). Houve diferença estatística entre os pares G1 e G2, G1 e G3, G1 e G4 ($p < 0,05$). A relação entre a área de necrose e área total do retalho desenluvado para os quatro grupos foi de 63,34% (G1), 32,71% (G2), 41,7% (G3) e 34,85% (G4) ($p < 0,0001$). Houve diferença estatística entre os pares G1 e G2, G1 e G3, G1 e G4 ($p < 0,05$). **CONCLUSÕES:** Houve diminuição da área de necrose em retalhos cutâneos avulsionados em membros inferiores de ratos com a utilização das medicações enoxaparina (G2), pentoxifilina (G3) e alopurinol (G4) quando comparados ao grupo controle (G1). Não houve diferença estatística significativa entre os grupos terapêuticos com relação à área de necrose nos retalhos cutâneos avulsionados (G2 x G3; G2 x G4; G3 x G4).

Descritores: ferimentos e lesões; extremidade inferior; transplante de pele; fenômenos fisiológicos da pele; pele / lesões; necrose / etiologia; uso de medicamentos; modelos animais; cirurgia plástica.

SUMMARY

Milcheski DA. *Experimental study of partial avulsion of skin flaps in hind limbs of rats [thesis].* São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2010. 69p.

INTRODUCTION: Degloving injuries may be a challenge when it comes to deciding the surgical approach to be used. Repositioning of the flap and suturing is faster and more straightforward, but often leads to total or partial loss of the avulsed flap. Skin flap deffating and grafting of the detached flap have the disadvantages of resulting in poor aesthetic appearance and being less protective, but they have been the most widely used due to the higher rate of graft take. Pharmacological agents with vascular properties that enhance the viability of the reattached flap could be beneficial to patients with degloving injuries. This study evaluated the effects of enoxaparin, pentoxifylline and allopurinol in reducing necrosis area of avulsed skin flaps through a degloving experimental model in the hind limb of rats. **METHODS:** Rats were grouped in four groups with 25 rats each. The four groups were subjected to the proposed degloving model of hind limb, resulting in a reverse flow flap. The flap was then repositioned and sutured. Group 1 (avulsion / control) received 1 ml saline solution intraperitoneally. Group 2 (avulsion / enoxaparin) received 1 ml of enoxaparin (320 IU/kg) subcutaneously. Group 3 (avulsion / pentoxifylline) received 1 ml of pentoxifylline (25 mg/kg) intraperitoneally. Group 4 (avulsion / allopurinol) received 1 ml of allopurinol (45 mg/kg) intraperitoneally. Saline solution and medications were infused in single dose after wound closure. The animals were observed until 7 days postoperatively, when they were sacrificed and the degloved flap was removed and analyzed by image processing software. The total area of the avulsed flap and the necrotic area were measured for all animals and statistical analysis was performed between groups. **RESULTS:** The median total flap area (cm²) was 5.633 for G1, 5.353 for G2, 5.505 for G3 and 5.870 for G4 ($p = 0.7460$). The median necrotic flap area (cm²) was 3.368 for G1, 1.663 for G2, 2.297 for G3 and 1.888 for G4 ($p < 0.0001$). There was statistical difference between pairs G1 and G2, G1 and G3, G1 and G4 ($p < 0.05$). The ratio between the necrotic flap area and total flap area was 63.34% (G1), 32.71% (G2), 41.7% (G3) and 34.85% (G4) ($p < 0.0001$). There was statistical difference between pairs G1 and G2, G1 and G3, G1 and G4 ($p < 0.05$). **CONCLUSIONS:** There was a decrease in necrosis of the avulsed skin flap in the hind limbs of rats with the use of medications enoxaparin (G2), pentoxifylline (G3) and allopurinol (G4) compared to the control group (G1). There was no statistically significant difference in the necrosis area of avulsed skin flaps between treatment groups (G2 x G3; G2 x G4; G3 x G4).

Descriptors: wounds and injuries; lower extremity; skin transplantation; skin physiological phenomena; skin / injuries; necrosis / etiology; drug utilization; models, animal; surgery, plastic.

INTRODUÇÃO

Os desenlívamentos cutâneos são lesões graves e frequentemente há dificuldade para o cirurgião decidir qual o tratamento cirúrgico mais adequado a ser instituído ¹. Observa-se, adicionalmente, aumento na frequência de ferimentos descolantes atendidos na urgência em Centros de Atendimento ao Trauma como no Pronto Socorro do Hospital das Clínicas – FMUSP ².

Os desenlívamentos também são chamados ferimentos descolantes ou avulsões parciais. O termo desenlívamento deriva da palavra inglesa *degloving* e é o mais encontrado na literatura de língua inglesa. Consideram-se os três termos equivalentes.

Estas lesões são secundárias à prensão da extremidade entre uma superfície móvel e uma superfície fixa, como nos casos de atropelamentos, resultando no cisalhamento e avulsão parcial do tecido ³. A pele e o subcutâneo desenlívados ficam conectados apenas por uma das extremidades do membro (proximal, distal, lateral ou medial). Se não houver avaliação adequada e tratamento correto pode ocorrer insuficiência circulatória, seja arterial ou venosa, com conseqüente necrose do tecido descolado ⁴.

Duas opções de tratamento cirúrgico são possíveis para os pacientes com ferimentos descolantes. A primeira delas foi estabelecida por Farmer ⁵,

em 1939, que propôs completar a ressecção do retalho desenluvado, desengordurar o retalho até a espessura de pele e realizar a enxertia desta pele assim preparada no mesmo tempo cirúrgico. Com esta conduta, consegue-se integração da pele avulsionada, cobrindo parcial ou completamente o defeito já no atendimento inicial do paciente sem necessidade de se acrescentar nova área doadora de auto-enxerto. Farmer relatou série clínica com 4 pacientes e notou haver evolução satisfatória com esta conduta cirúrgica. Posteriormente outros autores reafirmaram os achados de Farmer e outros estudos foram apresentados em acordo com esta conduta cirúrgica na década de 80^{1, 3, 6, 7}. Como desvantagens deste tratamento cirúrgico observam-se desnível entre as áreas de enxerto e de cobertura cutânea íntegra, resultando em menor proteção das estruturas subjacentes na área enxertada, edema na extremidade acometida nos casos de ferimentos circunferenciais (por dificuldade de drenagens linfática e venosa) e aspecto estético inferior ao aspecto da cobertura original. Apesar disso, esta tem sido a conduta mais aceita e utilizada para o tratamento dos ferimentos descolantes devido à maior taxa de integração do enxerto com resolução da ferida^{8, 9, 10}.

Mais recentemente, acrescentou-se como tratamento cirúrgico adjuvante dos ferimentos descolantes a utilização de banco de tecidos para acondicionamento da pele do ferimento descolante e enxertia posterior, bem como a utilização do sistema de curativo a vácuo sobre o leito da ferida ou sobre o enxerto de pele.

Em 1967 ¹², Hueston e Gunter relatam a conservação da pele avulsionada em banco de tecidos para os casos de traumas mais extensos, de contaminação da ferida, e de tecidos com viabilidade incerta. Eles preconizaram o desengorduramento do retalho e conservação do enxerto resultante em banco de tecidos. A pele era utilizada vários dias após o trauma, quando a granulação estava favorável à recepção de enxerto de pele. O enxerto de pele deve ser aproveitado o mais brevemente possível, preferencialmente dentro de 48 a 72 horas, para que não haja perda excessiva da pele acondicionada em banco de tecidos ^{12, 13}. Hoogeboom et al ¹⁴ em 1989 foram os primeiros a descrever a utilização da conservação da pele em banco de tecidos para os desenlívamentos de membros inferiores, seguidos por Nogueira et al ¹⁵ em 2001.

Outro avanço no tratamento cirúrgico dos ferimentos descolantes é a utilização do sistema de curativo a vácuo nestes casos. Nakayama et al em 1990 ¹⁶, foram os primeiros autores a descrever um sistema de curativo a vácuo sobre enxertos de pele. Eles descreveram um dreno de sucção sob um curativo adesivo transparente com a finalidade de manter pressão subatmosférica constante sobre o enxerto de pele e de facilitar a monitoração do enxerto através do curativo. Em 1997, Argenta e Morykwas ¹⁷, desenvolvem o sistema de curativo a vácuo que é utilizado atualmente no tratamento de feridas complexas. Os primeiros autores a relatar, em artigos diferentes, o sistema de curativo a vácuo sobre o enxerto de pele nos casos de ferimentos descolantes foram Meara et al ¹⁸ e DeFranzo et al ¹⁹, em 1999, havendo relatos subsequentes na literatura ^{20, 21}. As vantagens observadas

são a imobilização do enxerto, a manutenção de ambiente úmido, a coleta de debris no leito da ferida e a diminuição da taxa de contagem bacteriana. Estes fatores possibilitam taxas de integração do enxerto da ordem de 95% com a utilização do curativo a vácuo sobre o enxerto em feridas complexas 18, 22, 23, 24

A outra modalidade de tratamento cirúrgico possível para os ferimentos descolantes consiste em realizar a limpeza da ferida e em reposicionar e suturar o retalho avulsionado à posição original. Esta conduta leva frequentemente à necrose parcial ou total do tecido avulsionado, resultando em perda do retalho, maior risco de infecção, aumento da morbidade, acréscimo de área doadora de enxerto de pele, maior número de procedimentos cirúrgicos subsequentes e aumento no tempo de internação⁶. Quando não há necrose do retalho reposicionado este tratamento apresenta vantagens potenciais tais como ser mais simples e rápido, preservar a anatomia (com a manutenção do aspecto original e da espessura do tecido) e a fisiologia locais (com ausência de comprometimento do retorno venoso e preservação dos linfáticos).

Em adição a estas duas condutas cirúrgicas relatadas, alguns pacientes se beneficiam de tratamentos cirúrgicos adicionais como a realização de retalhos cirúrgicos para a cobertura de estruturas especializadas expostas (tendão, osso e articulação)²⁵.

Medicações com propriedades de aumentar a viabilidade do retalho desenhado, através de mecanismos diversos, podem ser testadas em

conjunto com a conduta de reposicionamento e sutura do retalho à posição original com a finalidade de diminuir parcial ou totalmente a necrose do retalho descolado. Entre os fármacos disponíveis para este fim podem ser sugeridos as heparinas de baixo peso molecular como a enoxaparina, os agentes hemorreológicos como a pentoxifilina e as medicações antioxidantes como o alopurinol. Caso estas medicações aumentem a viabilidade do retalho avulsionado reposicionado, evitando ou diminuindo sua necrose, este tratamento pode ser instituído como rotina, com suas vantagens potenciais de manutenção da cobertura original, de preservação da função (drenagens venosa e linfática através do retalho) e de manutenção do aspecto estético (preservação da cobertura cutânea e ausência de área de enxerto) na extremidade acometida.

A enoxaparina, uma heparina de baixo peso molecular, tem sido utilizada na prática clínica e vem sendo mais empregada que a heparina devido ao seu perfil favorável de biodisponibilidade e a sua maior meia vida^{26, 27}. Ela também demonstrou melhorar a microcirculação após sua injeção subcutânea, resultando em aumento da área de viabilidade em retalhos de pele e em retalhos livres, conforme relatado separadamente por Buckley e Sorkin²⁸ e por Ritter et al²⁹. Dessa maneira, a enoxaparina poderia aumentar a viabilidade do retalho desenluvado em um modelo experimental, evitando a necrose total ou parcial do tecido. Não há estudo experimental testando a enoxaparina na perfusão de retalhos avulsionados.

A pentoxifilina é um derivado das metilxantinas e um inibidor inespecífico da enzima fosfodiesterase. Através das suas propriedades

hemorreológicas esta medicação altera a plasticidade das hemácias, levando à diminuição da viscosidade sanguínea e ao aumento do fluxo sanguíneo tecidual^{30, 31}. Mais recentemente, foi descrito que a pentoxifilina age em diversas etapas da cascata inflamatória, levando à diminuição da ativação de neutrófilos com conseqüente diminuição da lesão inflamatória tecidual³². A pentoxifilina demonstrou aumentar a viabilidade de retalhos avulsionados da cauda de ratos em um modelo experimental³³. Entretanto, não há modelo experimental de avulsão de retalhos em membros inferiores associado à utilização de pentoxifilina.

O alopurinol, um fármaco antioxidante, atua como inibidor da enzima xantina oxidase, a qual exerce importante papel na formação de radicais livres. Estudos^{34, 35, 36} implicam os radicais livres como participantes do processo de necrose em retalhos cutâneos e mostram efeito favorável do alopurinol e outros antioxidantes na diminuição da necrose. A hipótese de que os radicais livres estão envolvidos na necrose de retalhos foi primeiramente demonstrada por Manson et al³⁶ em 1983. Utilizando um modelo de obstrução venosa induzida em retalhos fásiocutâneos em ratos, os autores demonstraram que os radicais livres eram formados após a reperfusão e que agentes como o alopurinol poderiam evitar a produção destas substâncias tóxicas. Entretanto, no caso dos retalhos avulsionados não há estudo experimental ou clínico investigando a ação de agentes antioxidantes na viabilidade destes retalhos.

O estudo da ação de medicações em ferimentos descolantes nos membros inferiores demanda a utilização de um modelo experimental para

testar o efeito de fármacos, previamente à realização de ensaios clínicos. Há três estudos disponíveis na literatura sobre modelos experimentais de desenlramento ^{33, 37, 38}. Kurata et al ³⁷ em 1978 foram os primeiros autores a propor modelo experimental de desenlramento de retalhos cutâneos em coelhos. Eles testaram a importância dos vasos cutâneos diretos na viabilidade do retalho avulsionado e a relação entre presença e ausência de esmagamento no retalho desenlrado. Em 2006 Oztuna et al ³³ apresentam modelo experimental de avulsão de retalhos na cauda de ratos e testam o efeito da pentoxifilina no aumento da viabilidade do retalho desenlrado. Wang et al ³⁸ em 2008 relatam modelo animal de avulsão de retalhos cutâneos axiais e randômicos no dorso de ratos. Estes autores avaliaram a extensão da necrose do retalho avulsionado e não testaram o efeito de medicações. Nenhum destes estudos relatados se refere aos desenlramentos em membros inferiores e apenas o modelo proposto por Oztuna et al testa medicação para aumento da viabilidade do retalho avulsionado.

No Laboratório de Microcirurgia da FMUSP foi desenvolvido modelo experimental de avulsão parcial de retalhos cutâneos em membros inferiores de ratos. No modelo é realizado o desenlramento cutâneo de base distal de toda extremidade inferior do animal e, em seguida, seu reposicionamento e sutura ao leito original ³⁹. Este modelo permite testar o efeito de medicações para a diminuição da área de necrose no retalho cutâneo desenlrado.

1.1 Objetivo

A presente tese tem por objetivo avaliar o efeito das medicações enoxaparina, pentoxifilina e alopurinol na diminuição da área de necrose de retalhos cutâneos avulsionados, usando modelo experimental de desenluvamento cutâneo em membros inferiores de ratos.

MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela Comissão de Projetos de Pesquisa do HC-FMUSP sob o número 0842/09 (Anexo A).

2.1 Animais

Os experimentos utilizaram 100 ratos (*Ratus norvergicus*) machos, de linhagem *Wistar*, pesando entre 200 e 350 gramas, acondicionados em recipientes individuais, recebendo água e ração *ad libitum* e submetidos a período claro/escuro de 12/12 horas (figura 1).

Figura 1 – Rato acondicionado em recipiente individual – FMUSP – 2010



2.2 Modelo experimental de desenluvamento cutâneo ³⁹

Os ratos foram anestesiados com tiopental sódico* (40 mg/kg) via intraperitoneal. Tricotomias foram realizadas no membro inferior direito e região inguinal (figura 2).

* O tiopental (frasco-ampola com 1g) foi diluído em 20 ml de soro fisiológico a 0.9%, aplicado na dose de 40 mg/kg de peso intraperitoneal inicialmente; doses de 10 mg/kg foram repetidas nos casos em que houve necessidade de complementação da anestesia.

Figura 2 – Posicionamento do animal e tricotomia na extremidade inferior direita – FMUSP – 2010



Inicialmente foi realizada a marcação da incisão na raiz da coxa do animal (figura 3). Procedeu-se em seguida à incisão na base da coxa, conforme a marcação, em toda a circunferência, abrangendo pele e tecido subcutâneo (figura 4).

Figura 3 – Marcação da incisão na raiz da coxa e da porção distal a ser desenluvada – FMUSP – 2010



Figura 4 – Incisão circunferencial da pele e do subcutâneo – FMUSP – 2010



Quatro ganchos *Backaus* foram posicionados na borda distal da incisão (localizados nos quadrantes anterior, posterior, lateral e medial do membro inferior). O desenlramento do retalho de pele e subcutâneo foi realizado através de tração progressiva distal suficiente para ocorrer o desenlramento cutâneo (figura 5), realizando-se a avulsão até a região do tornozelo, na altura do terço distal da perna do animal (figura 6).

Figura 5 – Posicionamento dos ganchos nos quatro quadrantes – FMUSP – 2010

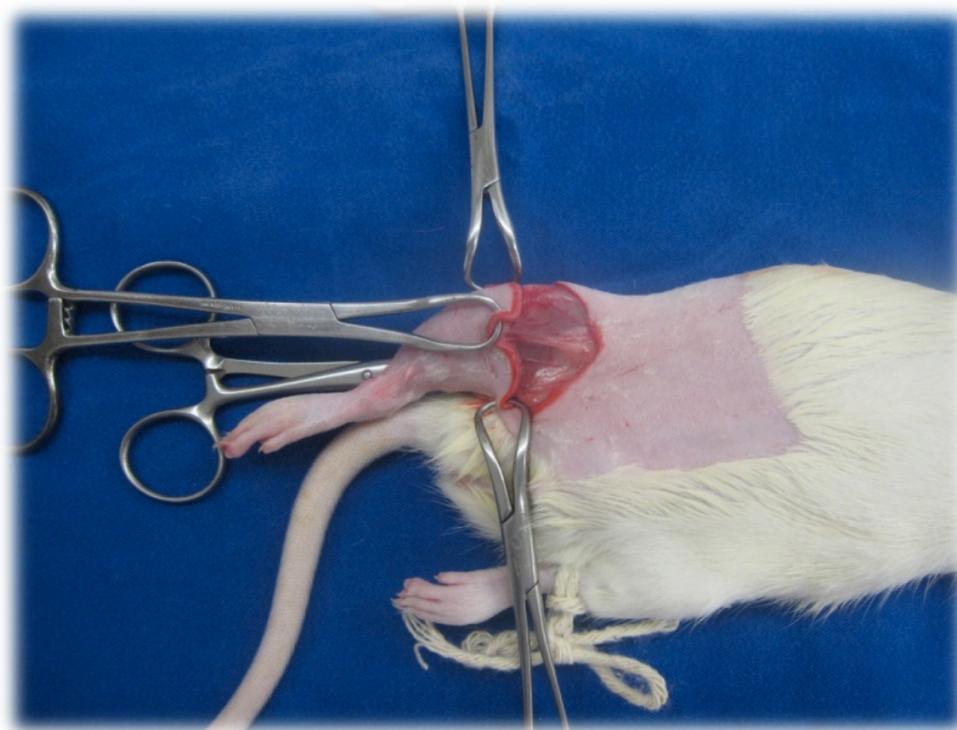


Figura 6 – Desenluvamento do retalho até a porção distal da perna – FMUSP – 2010



Após 5 minutos foi realizado o reposicionamento do retalho ao seu leito original e procedeu-se à sutura da pele com nylon 5.0 contínuo (figuras 7 e 8).

Figura 7 – Reposicionamento do retalho – FMUSP – 2010



Figura 8 – Sutura contínua da pele com nylon 5.0 – FMUSP – 2010



Em seguida, foi infundido 1 ml de solução (soro fisiológico ou medicação, conforme o grupo) via intraperitoneal (grupos 1, 3 e 4) ou via subcutânea (grupo 2) (figura 9). E, finalmente, realizou-se aspersão do antibiótico tópico rifampicina na ferida operatória e o animal foi acondicionado em recipiente individual (figura 10).

Figura 9 – Injeção de 1 ml de solução via intraperitoneal – FMUSP – 2010



Figura 10 – Aplicação de rifampicina na ferida operatória – FMUSP – 2010



No período pós-operatório os animais receberam a medicação analgésica dipirona na dose 30mg/kg via oral (administrado na água com troca diária) nos dias subsequentes.*

* Conforme procedimento sugerido e em vigência no Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (comunicação pessoal).

2.3. Grupos controle e experimentais

Os ratos foram divididos em quatro grupos submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico. Cada grupo contou com 25 animais, conforme relacionado abaixo:

a) Grupo 1 (avulsão / controle). Foi injetado 1 ml de solução salina via intraperitoneal imediatamente após a sutura da ferida operatória;

b) Grupo 2 (avulsão / enoxaparina). Foi injetado 1 ml de solução contendo enoxaparina (320 UI/kg) via subcutânea imediatamente após a sutura da ferida operatória;

A enoxaparina^{*} foi diluída em soro fisiológico 0,9% até atingir a concentração e volume finais estabelecidos (320 UI/kg).

c) Grupo 3 (avulsão / pentoxifilina). Foi injetado 1 ml de solução contendo pentoxifilina (25 mg/kg) via intraperitoneal imediatamente após a sutura da ferida operatória;

A pentoxifilina^{**} foi diluída em soro fisiológico 0.9% até atingir a concentração e volume finais estabelecidos (25 mg/kg).

* Clexane® 60 mg/0,6 ml – seringa 0,6 ml, Sanofi Aventis.

** Pentox® 100 mg/5 ml, ampola 5 ml, Farmasa SA.

d) Grupo 4 (avulsão / alopurinol). Foi injetado 1 ml de solução contendo alopurinol (45 mg/kg) via intraperitoneal imediatamente após a sutura da ferida operatória.

O alopurinol^{*} foi diluído em hidróxido de sódio 1 N até dissolução total. A esta solução alcalina foi adicionado ácido clorídrico 1 N até início de precipitado, sinalizando máxima solubilidade. Adicionada então uma gota final de hidróxido de sódio 1 N para dissolver o precipitado e acrescentada água destilada para se obter o volume final necessário. Utilizada dose de 45 mg/kg de peso em 1 ml de solução aplicada em bolo intraperitoneal.

A solução salina e as medicações foram injetadas em bolo imediatamente após a sutura da ferida operatória. Todas as medicações foram administradas em dose única.

Em todos os grupos o retalho foi observado diariamente para verificação de sinais de viabilidade ou inviabilidade do retalho avulsionado (coloração da pele, enchimento capilar, isquemia, congestão ou necrose), e presença de complicações cirúrgicas (hematoma, deiscência de ferida e infecção).

Os animais foram observados diariamente até o 7º dia pós-operatório, quando foram sacrificados através de dose letal de tiopental intraperitoneal.

* Alopurinol comprimido 100 mg, farmácia própria do HC-FMUSP.

2.4. Critérios de inclusão e exclusão

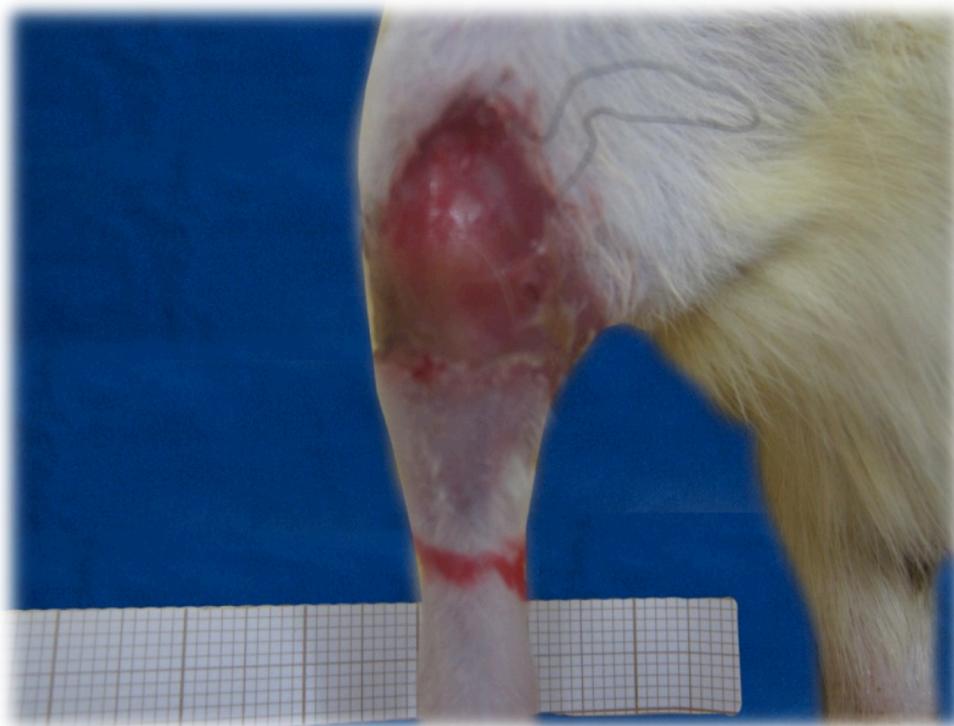
O critério de inclusão adotado foi a presença de necrose parcial ou total do retalho no 7º dia pós-operatório (figura 11).

Figura 11 – Necrose parcial do retalho no 7º dia pós-operatório – FMUSP – 2010



Os critérios de exclusão utilizados foram a ocorrência de óbito trans- ou pós-operatório e a presença de autofagia total ou parcial do retalho no pós-operatório (figura 12).

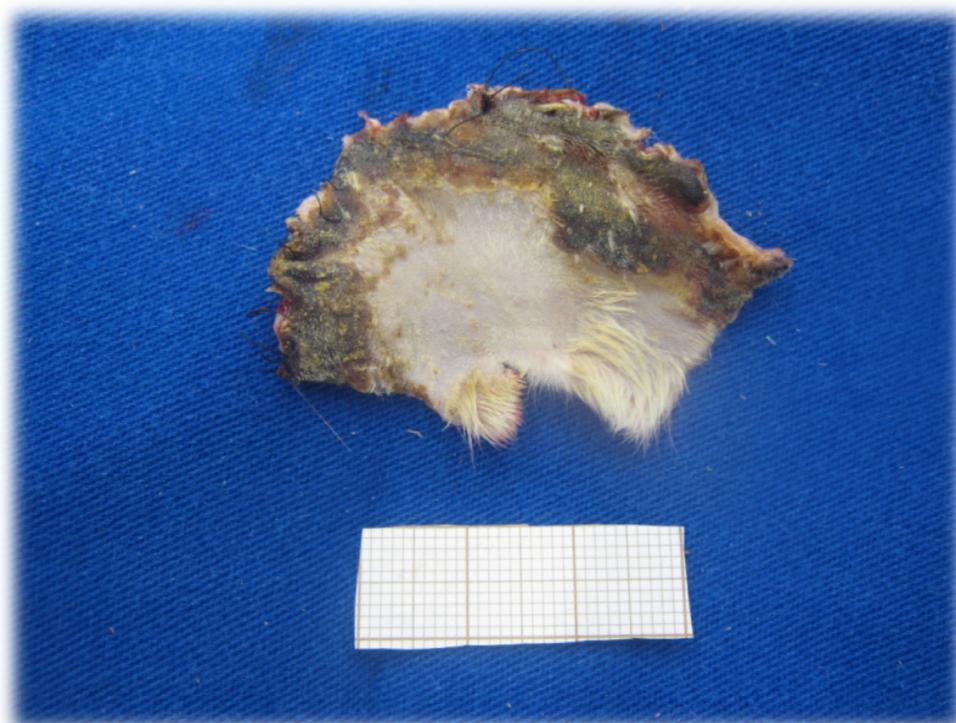
Figura 12 – Presença de autofagia parcial no 7º dia pós-operatório – FMUSP – 2010



2.5 Avaliação da área de necrose e da área total do retalho

A avaliação final da área necrose do retalho foi realizada através da ressecção do retalho em toda a sua extensão (figura 13).

Figura 13 – Retalho retirado e planificado em mesa operatória com escala associada – FMUSP – 2010



O retalho foi então planificado na mesa operatória em conjunto com uma escala em centímetros e foto digital padronizada foi realizada (mesma distância focal, modo macro e sem *flash*).

A imagem retirada de cada animal foi processada em computador e analisada através do programa *Image J*⁴⁰, adequado ao cálculo de áreas. Através deste programa foram dimensionadas a área de necrose e a área total do retalho (figuras 14 e 15).

Figura 14 – Quantificação da área total do retalho através do programa *Image J* – FMUSP – 2010

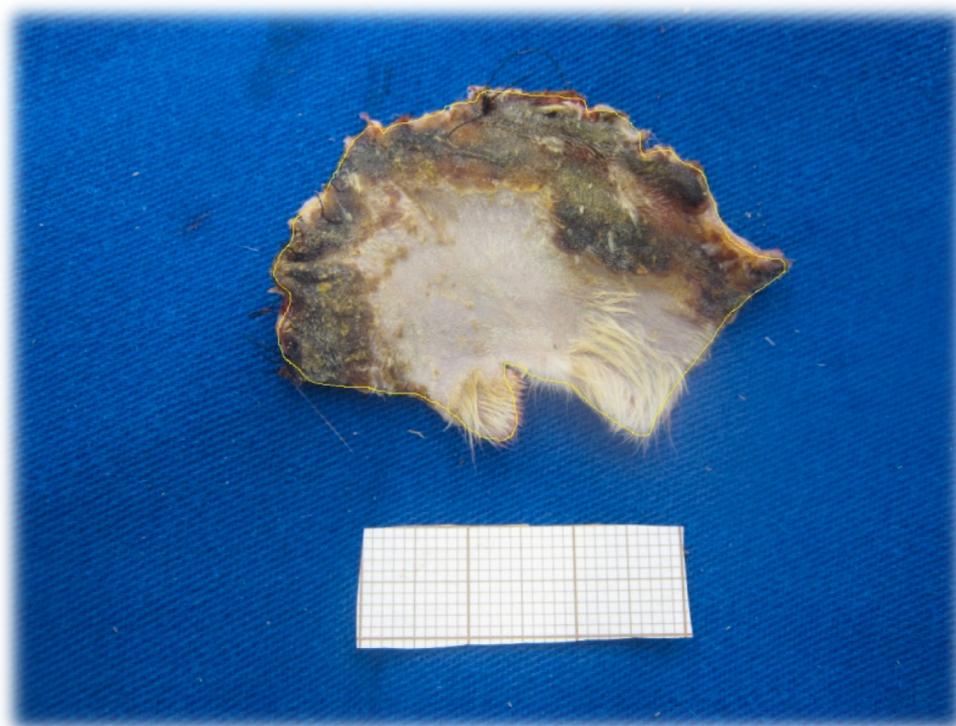
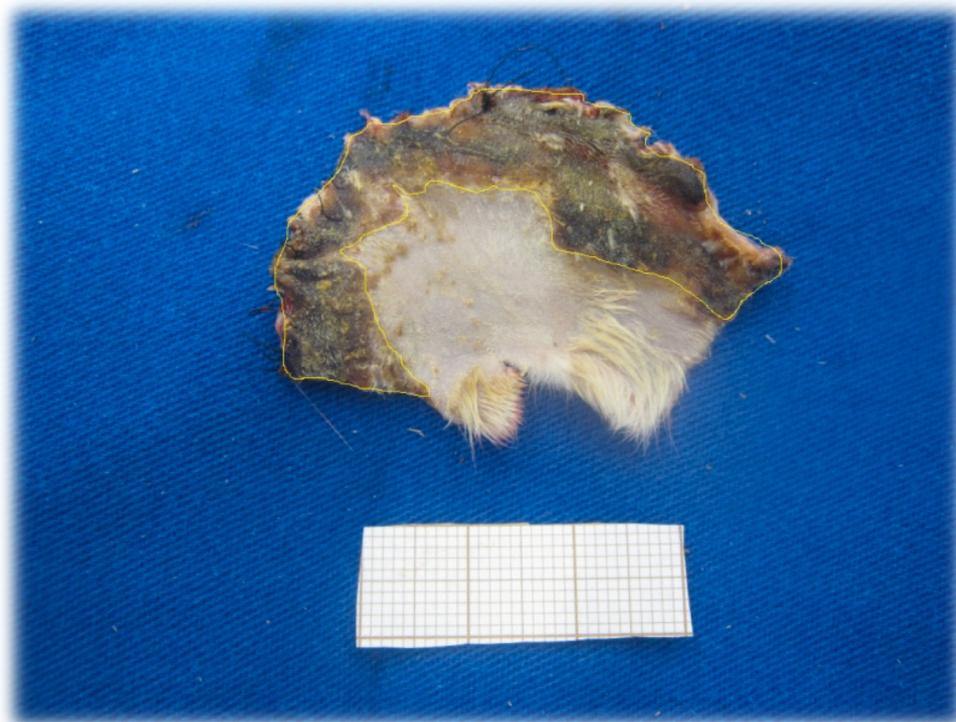


Figura 15 – Quantificação da área de necrose do retalho através do programa *Image J* – FMUSP – 2010



2.6. Variáveis estudadas

Durante a realização do estudo foram avaliadas as seguintes variáveis:

- Área total do retalho;
- Área de necrose do retalho;
- Relação entre a área de necrose e a área total.

2.7. Análise estatística

A amostragem foi estratificada em quatro grupos (G1 a G4) e foi considerada assimétrica não pareada. Verificou-se que a amostra apresentou distribuição assimétrica após a aplicação do teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

As variáveis quantitativas contínuas foram apresentadas descritivamente em tabelas contendo medianas, valores mínimos e máximos. As taxas de autofagia e de óbito (variáveis ordinárias) foram apresentadas em percentuais.

Os dados referentes às áreas e à relação entre as áreas nos quatro grupos (variáveis quantitativas) foram analisados através do teste não paramétrico para amostras independentes de Kruskal-Wallis.

Utilizou-se também o teste de comparações múltiplas de Dunn para verificar diferenças entre os grupos quando pareados dois a dois (G1xG2, G1xG3, G1xG4, G2xG3, G2xG4 e G3xG4).

Os valores com nível de significância de 95% ($p < 0,05$) foram considerados significantes.

A análise estatística foi inteiramente realizada através do programa *Prism 4 for Macintosh* versão 4.0⁴¹.

2.8 Autofagia e mortalidade

A taxa global de autofagia foi de 15%. A distribuição da autofagia por grupos está listada na tabela 1. Não houve diferença estatística entre os grupos ($p = 0,998$).

Tabela 1 – Autofagia nos grupos estudados – FMUSP – 2010

GRUPO	G1 (n = 25)	G2 (n = 25)	G3 (n = 25)	G4 (n = 25)
AUTOFAGIA PRESENTE	16% 4 de 25	12% 3 de 25	16% 4 de 25	16% 4 de 25

A taxa global de óbito foi de 14%. A distribuição da taxa de óbito por grupos está listada na tabela 2. Não houve diferença estatística entre os grupos ($p = 0,993$).

Tabela 2 – Taxa de óbito nos grupos estudados – FMUSP – 2010

GRUPO	G1 (n = 25)	G2 (n = 25)	G3 (n = 25)	G4 (n = 25)
ÓBITO	16% 4 de 25	16% 4 de 25	12% 3 de 25	12% 3 de 25

Os óbitos ocorreram entre o 1º e o 6º dia pós-operatório. Não foram observados infecção ou hematoma em nenhum animal dos quatro grupos estudados no período de seguimento pós-operatório.

RESULTADOS

No anexo B encontram-se relacionados os dados completos para os quatro grupos referentes às taxas de autofagia e de óbito, à área total, à área de necrose e à relação entre a área de necrose e área total do retalho avulsionado.

Foram operados 100 animais distribuídos em quatro grupos (G1 a G4), com 25 animais em cada grupo. Após a exclusão dos animais por autofagia do retalho e por óbito, restaram 17 ratos no grupo 1 e 18 ratos em cada um dos demais grupos (G2 a G4).

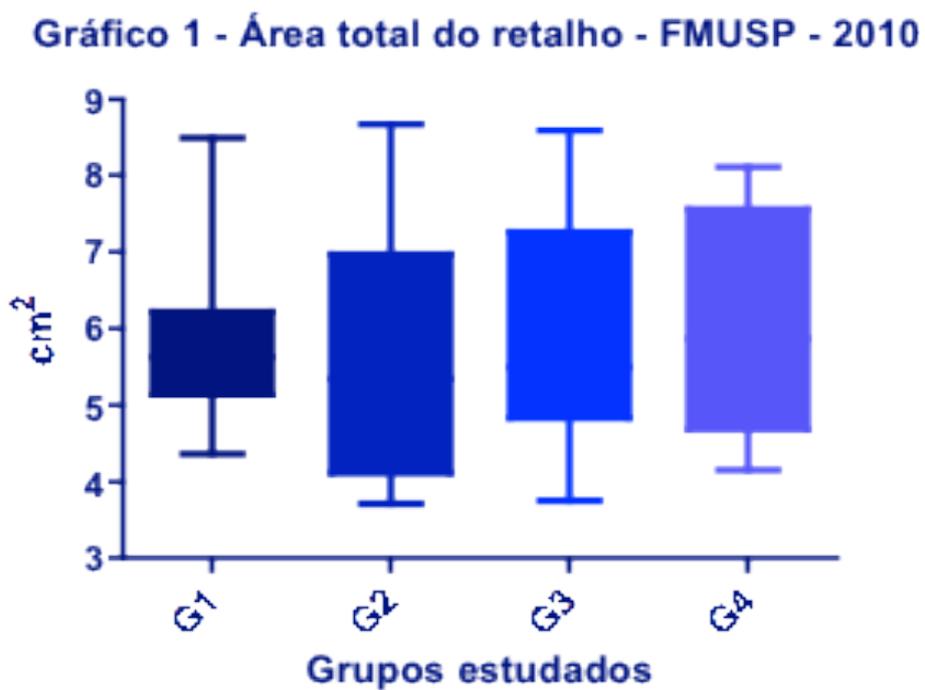
3.1 Análise da área de necrose e da área total do retalho

A área total do retalho avulsionado nos 4 grupos encontra-se relacionada na tabela 3, onde se verificam as medianas e os valores mínimos e máximos. Não houve diferença estatística entre os grupos ($p = 0,7460$).

Tabela 3 – Avaliação área total nos grupos estudados (cm²) – FMUSP – 2010

GRUPO	G1 (n = 17)	G2 (n = 18)	G3 (n = 18)	G4 (n = 18)
VALOR MÍNIMO	4,374	3,723	3,756	4,156
MEDIANA	5,633	5,353	5,505	5,870
VALOR MÁXIMO	8,498	8,681	8,600	8,108
NÍVEL SIGNIFICÂNCIA	$p = 0,7460$			

No gráfico 1 (diagrama da caixa) estão relacionados os valores mínimo e máximo e os quartis inferior e superior para a variável área total do retalho.



A área de necrose do retalho avulsionado nos 4 grupos encontra-se relacionada na tabela 4, onde se verificam as medianas e os valores mínimos e máximos. Houve diferença estatística entre os grupos ($p < 0,0001$).

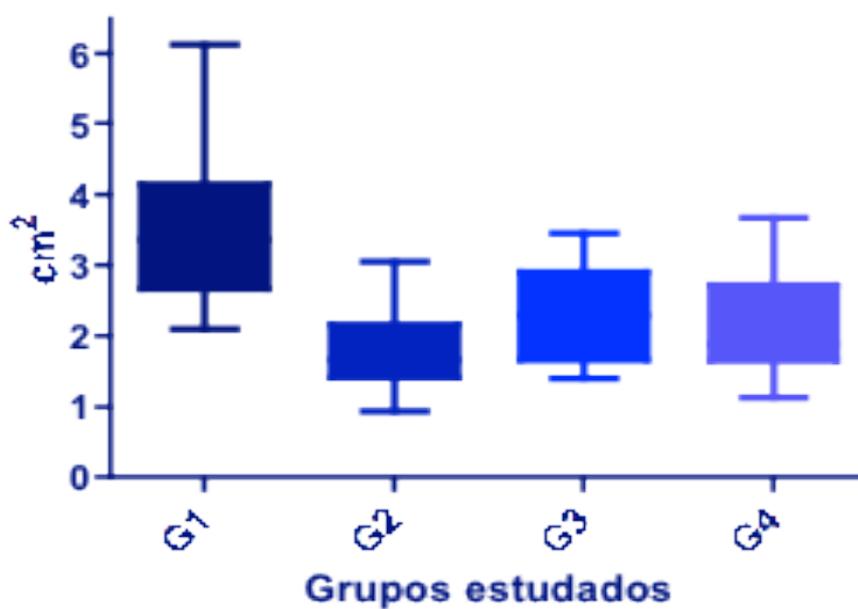
Através do teste de Dunn observou-se que houve diferença estatística entre os pares G1 e G2 ($p < 0,001$), G1 e G3 ($p < 0,05$), G1 e G4 ($p < 0,01$).

Tabela 4 – Avaliação da área de necrose nos grupos estudados (cm²) – FMUSP – 2010

GRUPO	G1 (n = 17)	G2 (n = 18)	G3 (n = 18)	G4 (n = 18)
VALOR MÍNIMO	2,097	0,9470	1,405	1,140
MEDIANA	3,368	1,663	2,297	1,888
VALOR MÁXIMO	6,134	3,053	3,458	3,675
NÍVEL SIGNIFICÂNCIA	$p < 0,0001$			

No gráfico 2 (diagrama da caixa) estão relacionados os valores mínimo e máximo e os quartis inferior e superior para a variável área de necrose do retalho.

Gráfico 2 - Área de necrose - FMUSP - 2010



3.2 Análise da relação entre área de necrose e área total do retalho

A razão entre a área de necrose e área total do retalho avulsionado nos 4 grupos encontra-se relacionada na tabela 5, onde se verificam as medianas e os valores mínimos e máximos. Houve diferença estatística entre os grupos ($p < 0,0001$).

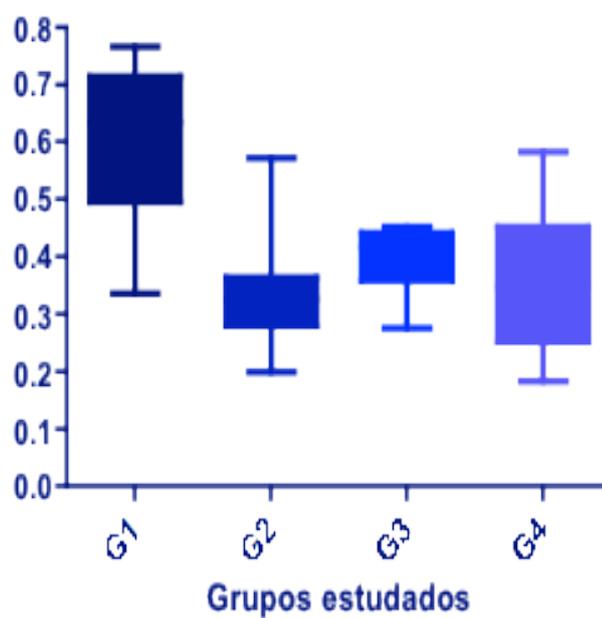
Através do teste de Dunn verificou-se que houve diferença estatística entre os pares G1 e G2 ($p < 0,001$), G1 e G3 ($p < 0,01$) e G1 e G4 ($p < 0,001$).

Tabela 5 – Análise da relação entre área de necrose e área total do retalho nos grupos estudados (%) – FMUSP – 2010

GRUPO	G1 (n = 17)	G2 (n = 18)	G3 (n = 18)	G4 (n = 18)
VALOR MÍNIMO	33,64	19,95	27,66	18,43
MEDIANA	63,34	32,71	41,70	34,85
VALOR MÁXIMO	76,68	57,21	45,23	58,21
NÍVEL SIGNIFICÂNCIA	$p < 0,0001$			

No gráfico 3 (diagrama da caixa) observam-se os valores mínimo e máximo e os quartis inferior e superior para a relação entre a área de necrose e a área total do retalho desenluvado.

Gráfico 3 - Relação entre áreas de necrose e total - FMUSP - 2010



DISCUSSÃO

4.1 Considerações gerais

O estudo dos ferimentos descolantes apresenta interesse renovado nas últimas décadas devido ao aumento da sua incidência nos grandes centros urbanos, geralmente relacionados a casos de atropelamento por veículos pesados (caminhão ou ônibus) ou a acidentes automobilísticos envolvendo motociclistas ².

Na prática clínica observa-se a ocorrência destes eventos predominantemente na população masculina adulta jovem, grupo com maior risco de envolvimento em acidentes relacionados aos ferimentos descolantes ⁴². Disso resulta um elevado custo econômico devido ao longo período de internação hospitalar e à perda de dias trabalhados.

As vítimas de ferimentos descolantes apresentam alta taxa de ferimentos associados na própria extremidade (fraturas, lesões articulares e de grandes vasos) e sistêmicos (traumatismos cranioencefálicos, torácicos, abdominais e pélvicos) ^{3, 18}. Assim sendo, os pacientes apresentam taxa de amputação e óbito considerável. Um levantamento realizado no HC-FMUSP em 2009 mostrou taxa de amputação de 28,6% e de óbito de 14,3%, evidenciando a gravidade destes casos ⁴³. Neste mesmo estudo, a taxa de traumas associados foi de 95,2%. Estas características, em conjunto com a

dificuldade no tratamento cirúrgico dos ferimentos descolantes, fazem com que o paciente fique internado por período prolongado e suscetível às complicações decorrentes de longos períodos de permanência hospitalar, como infecções e úlceras de pressão. O tempo médio de internação observado na literatura varia de 32 a 68 dias^{3, 43}.

Duas são as modalidades possíveis de tratamento cirúrgico para os desenlamentos de membros inferiores, (1) a limpeza da ferida e a resutura do retalho desenluvado à posição original ou (2) a limpeza da ferida e ressecção do retalho desenluvado, seguido de seu adelgaçamento e enxertia da pele obtida sobre a ferida no atendimento inicial⁴³.

A opção pela limpeza da ferida e resutura do retalho à posição original, de maneira similar à reparação de um ferimento corto-contuso, tem apelo por se tratar de uma conduta rápida e por proporcionar, ao mesmo tempo, o restabelecimento da anatomia e fisiologia locais. A maior dificuldade para realização desta conduta consiste na elevada taxa de necrose do retalho avulsionado⁴³. Quando isso ocorre há necessidade de desbridamento do tecido necrótico e enxertia de pele adicional. A pele avulsionada é perdida e não pode ser utilizada como doadora para enxertia, havendo necessidade de se criar nova área doadora no paciente, com maior morbidade decorrente de outro procedimento cirúrgico.

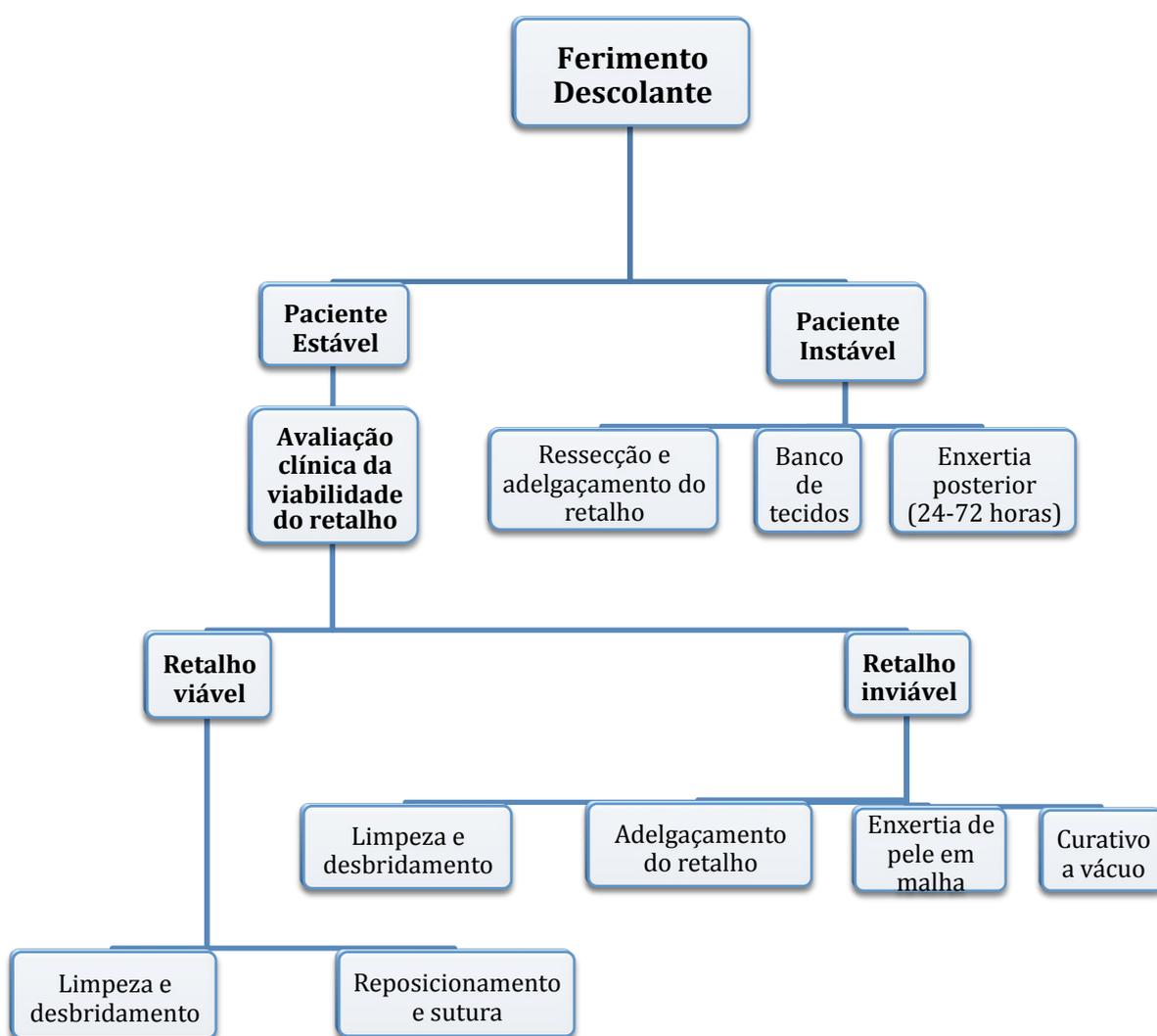
A outra modalidade de tratamento cirúrgico dos ferimentos descolantes, a limpeza da ferida com ressecção e adelgaçamento do retalho até a espessura de pele e sua enxertia no tempo inicial, apresenta algumas

desvantagens. Esta conduta demanda maior tempo cirúrgico (em um paciente, frequentemente, hemodinamicamente instável) e leva à perda das características anatômicas originais da extremidade (degrau entre a pele saudável e a área de enxerto, com conseqüente diminuição da proteção das estruturas subjacentes na área enxertada) e resulta em aspecto inestético. Pode também haver a perda das características funcionais da extremidade, levando a dificuldades no retorno venoso e na drenagem linfática e, conseqüentemente, edema pós-trauma, o que pode ser observado nos casos de desenluvamentos circunferenciais. Em contrapartida, esta conduta cirúrgica tem a vantagem de evitar que o tecido descolado evolua para necrose com necessidade de desbridamentos adicionais, de nova enxertia de pele, de utilização de pele doadora para auto-enxerto e de maior tempo de internação. Tal conduta resulta, nos casos em que o retalho mostra-se inviável, em resolução mais rápida e eficaz do ferimento pela maior integração do enxerto, com menor número de cirurgias e permanência hospitalar inferior.

Na prática clínica observa-se que há dificuldade em definir qual a conduta mais apropriada e a decisão deve ser tomada após julgamento clínico criterioso. Devido a estas particularidades o grupo de feridas da Divisão de Cirurgia Plástica do HC-FMUSP desenvolveu um protocolo de atendimento para o tratamento de ferimentos descolantes em membro inferiores ^{2, 43}. O protocolo indica a utilização de um dos tratamentos cirúrgicos supracitados com base no tempo de apresentação após o trauma (maior ou menor que 24 horas), na avaliação do retalho desenluvado através

de parâmetros clínicos (viável ou inviável) e nas condições hemodinâmicas do paciente (instável ou estável) (figura 16).

Figura 16 – Protocolo de atendimento de ferimentos descolantes nos membros inferiores – FMUSP – 2010



Inicialmente os pacientes são divididos em instáveis e estáveis em relação a sua condição hemodinâmica. Os pacientes graves considerados instáveis não devem ser submetidos à cirurgia prolongada, sendo então realizada a ressecção do retalho e oclusão da ferida. O retalho ressecado é adelgado na forma de enxerto de pele parcial e acondicionado em banco de tecidos até o paciente ter condições clínicas para ser realizada a enxertia da pele retirada. Dessa maneira, não há demora no tratamento das condições associadas.

Os pacientes estáveis podem ter avaliação apropriada do retalho desenluvado através de parâmetros clínicos tais como tempo decorrido entre o trauma e o tratamento (maior ou menor que 24 horas), orientação do pedículo (proximal, distal, lateral ou medial), contaminação local, esmagamento do retalho e padrão de sangramento do retalho.

Quando o retalho é considerado viável, procede-se à limpeza da ferida e ao reposicionamento e sutura do retalho ao leito original. A prática clínica demonstra que esta conduta apresenta elevado índice de insucesso, evoluindo com necrose parcial ou total do retalho reposicionado em até 90% dos casos onde esta opção cirúrgica é realizada ².

Nos casos de pacientes estáveis com retalho desenluvado considerado inviável, procede-se à ressecção do retalho e desengorduramento até a espessura de pele parcial. O enxerto obtido é transformado em malha (trama 3 : 1) e utilizado no momento do atendimento

inicial. Coloca-se curativo a vácuo sobre o enxerto com a finalidade de aumentar a integração do enxerto de pele ⁴³.

No HC-FMUSP, o sistema de curativo a vácuo tem sido utilizado desde 2003 como tratamento adjuvante de feridas complexas com a finalidade de preparar o leito da ferida para a cirurgia definitiva ou de aumentar a integração de enxertos de pele em feridas difíceis ^{44, 45}.

A utilização de medicações que proporcionem aumento da viabilidade do retalho desenluvado, permitindo a conduta de limpeza da ferida e ressutura do retalho ao leito de origem de maneira rotineira, pode simplificar o tratamento cirúrgico dos ferimentos descolantes, pois eles seriam conduzidos como ferimentos corto-contusos tradicionais. Daí o interesse em estudar grupos de fármacos com propriedades benéficas à circulação dos retalhos cutâneos avulsionados.

4.2 Modelo apresentado

Na literatura encontram-se três relatos prévios de modelo animal de avulsão parcial de retalhos^{33, 37, 38}. O primeiro modelo foi descrito por Kurata et al³⁷ em 1978. Os autores realizam avulsões cutâneas parciais no dorso de coelhos associado a esmagamento em um dos grupos. Eles avaliam a importância dos vasos cutâneos diretos na viabilidade do retalho e a sua relação com esmagamento associado do retalho, observando maior área de necrose no grupo com esmagamento do retalho. Em 2006 Oztuna et al³³ apresentam estudo experimental com avulsão cutânea da cauda de ratos e testam em um dos grupos a eficácia da medicação pentoxifilina. Este estudo foi desenvolvido como piloto e apresenta número limitado de animais (15 animais divididos em 3 grupos – modelo, controle e medicação), o que fragiliza o nível de evidência do estudo. Wang et al³⁸ em 2008 relatam seu modelo experimental de avulsão parcial de retalhos em ratos. Os autores realizam avulsão parcial de retalhos cutâneos axiais e randômicos (30 ratos divididos em dois grupos) no dorso dos animais e avaliam o grau de necrose resultante. Eles observam que o grupo com retalhos randômicos teve menor área de necrose (40% no grupo randômico x 77% no grupo axial). Este estudo não testa medicações no modelo proposto.

O modelo aqui apresentado³⁹ reproduz as condições clínicas encontradas em um ferimento descolante de membro inferior e contou com 25 animais submetidos ao desenlramento cutâneo da extremidade inferior

direita dos animais com a finalidade de correlacionar a anatomia e fisiologia análogas às duas situações, clínica e experimental.

Optou-se pela realização do desenlramento com base distal por se tratar de uma lesão mais grave à circulação do retalho em comparação aos retalhos de base proximal, lateral ou medial. Devido à maior área de desenlramento, ao pedículo de base distal e ao maior grau de isquemia e congestão há área de necrose mais extensa. Dessa maneira, ficam mais evidentes a observação e comparação com grupos terapêuticos aplicados no modelo.

Há variação na intensidade e na apresentação clínica dos ferimentos descolantes tais como extensão do desenlramento, grau de esmagamento do tecido, grau de contaminação da ferida, condições associadas (outros traumas) e tempo decorrido até o tratamento inicial do ferimento. Dessa maneira, a correlação de um modelo com a grande diversidade de situações clínicas fica prejudicada. Devido a isso se optou pela realização de um modelo uniforme de fluxo distal (com maior extensão de necrose do retalho) para permitir a comparação com grupos terapêuticos. Não foram então replicados cenários de ferimentos descolantes com esmagamento de tecido, contaminação da ferida ou atendimento tardio (mais de 24 horas).

O modelo foi padronizado de modo a ser um procedimento simples, rápido, de fácil execução e realizado pelo mesmo operador. Dessa maneira, acredita-se que o modelo experimental desenvolvido é útil para testar a eficácia de medidas terapêuticas diversas.

Na avaliação clínica pós-operatória, observou-se inicialmente grau variado de congestão e edema do retalho avulsionado (primeiros dois dias), evoluindo para necrose parcial do retalho desenluvado em todos os casos (3º e 4º dias) e estabilização da necrose parcial a partir do 5º dia pós-operatório. Não se observou hematoma ou infecção em nenhum animal.

A área total de desenlramento no grupo 1 (avulsão / controle) apresentou mediana de 5,633 cm² (mínimo 4,374 e máximo de 8,498 cm²). A área de necrose observada apresentou mediana de 3,368 cm² (mínimo 2,097 e máximo de 6,134 cm²). Com relação ao percentual de necrose observado (relação entre as áreas de necrose e total do retalho) a mediana obtida foi de 63,34% (mínimo de 33,64% e máximo de 76,68%). Observa-se que ocorreu um percentual elevado de necrose no modelo desenvolvido, o que facilita a visualização da diminuição de necrose em grupos terapêuticos.

4.3 Comparação entre os grupos estudados

Observou-se taxa global de autofagia de 15%. Ao se comparar os quatro grupos estudados não houve diferença entre os mesmos para esta variável (G1 = 16%; G2 = 12%; G3 = 16%; G4 = 16%; $p = 0,998$). A autofagia em ratos ocorre devido à insensibilidade resultante na porção necrótica do retalho ⁴⁶. Na fase piloto deste estudo utilizou-se filme de radiografia recortado na forma de um colete para conter o animal no pós-operatório e impedir a autofagia do retalho, mas todos os animais conseguiram retirar o colete. Dessa maneira, optou-se pela utilização do antibiótico tópico rifampicina.* Com isso, a taxa de autofagia manteve-se em níveis aceitáveis.

A taxa global de óbito foi de 14%. A comparação entre os grupos mostra que não houve diferença entre os mesmos com relação à taxa de óbitos. (G1 = 16%; G2 = 16%; G3 = 12%; G4 = 12%; $p = 0,993$). Os óbitos ocorreram entre o 1º e o 6º dia pós-operatório, sem concentração em um dia específico.

Quando se consideram as taxas de autofagia e de óbito e se verifica que não houve diferença estatística entre os quatro grupos para estas duas variáveis, infere-se que os grupos apresentaram distribuição homogênea e são comparáveis.

* Conforme procedimento sugerido pelos veterinários do Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (comunicação pessoal).

Em nenhum dos grupos estudados verificou-se hematoma ou infecção no período pós-operatório.

A área total do retalho avulsionado nos grupos estudados não apresentou diferença estatística significativa entre os grupos ($p = 0,7460$). Os dados referentes à área total do retalho desenluvado nos grupos estudados, similares e sem diferença estatística significativa, evidenciaram que o procedimento cirúrgico foi equivalente para os quatro grupos, permitindo comparar as áreas de desenluvamento entre o grupo controle e os grupos terapêuticos.

Com relação à área de necrose nos quatro grupos estudados, houve diferença estatística entre os grupos ($p < 0,0001$). O teste de Dunn mostrou diferença estatística entre os pares G1 e G2 ($p < 0,001$), G1 e G3 ($p < 0,05$), G1 e G4 ($p < 0,01$). Não houve diferença estatística significativa entre os pares de grupos terapêuticos (G2 x G3; G2 x G4; G3 x G4; $p > 0,05$).

Os dados aqui apresentados mostram que a área de necrose do retalho foi diferente entre o grupo controle (G1) e os demais grupos (G2 a G4), sendo observada maior área de necrose em favor do grupo 1 ($p < 0,05$). Dessa maneira, observou-se efeito protetor de necrose com as três medicações utilizadas (enoxaparina, pentoxifilina e alopurinol). No entanto, entre os grupos terapêuticos (G2 a G4) não houve diferença significativa, verificando-se eficácia similar das três medicações no efeito de diminuição da área de necrose no retalho ($p > 0,05$).

Para melhor visualização do efeito das medicações em comparação ao grupo controle, utilizou-se também o cálculo da razão entre a área de necrose e a área total dos retalhos avulsionados. Dessa maneira, os dados podem também ser visualizados em percentuais.

A relação entre a área de necrose e área total do retalho avulsionado nos quatro grupos mostrou diferença estatística entre os grupos (G1 = 63,34%; G2 = 32,71%; G3 = 41,7%; G4 = 34,85%; $p < 0,0001$). Através do teste de Dunn verificou-se diferença estatística entre os pares G1 e G2 ($p < 0,001$), G1 e G3 ($p < 0,01$) e G1 e G4 ($p < 0,001$). Não houve diferença estatística significativa entre os pares de grupos terapêuticos (G2 x G3; G2 x G4; G3 x G4; $p > 0,05$).

Da mesma maneira, a razão apresentada mostra os dados de suas variáveis originárias (áreas de necrose e total), reafirmando a eficácia das medicações utilizadas em comparação ao grupo controle e ausência de diferença estatística significativa entre os grupos terapêuticos.

4.4 Fármacos utilizados

4.4.1 Eficácia da enoxaparina

A enoxaparina pertence ao grupo das heparinas de baixo peso molecular e tem sido mais utilizada que a heparina devido ao seu melhor perfil de biodisponibilidade e a sua maior meia vida^{26, 27}.

O efeito anticoagulante das heparinas de baixo peso molecular ocorre através da ativação da antitrombina, considerado o principal mecanismo de ação da heparina, e, principalmente, da maior atividade de inibição do fator Xa, o qual inibe a transformação da protrombina em trombina⁴⁷. Desta forma, o principal mecanismo de ação das heparinas de baixo peso molecular impede a geração da trombina, proporcionando anticoagulação.

Quando comparada com a heparina, a enoxaparina apresenta diversas vantagens. A enoxaparina se liga menos às proteínas plasmáticas e às células endoteliais e, por isso, possui taxa de eliminação, resposta à dose e bioatividade mais previsíveis. Possui ainda uma meia-vida plasmática duas a quatro vezes maior do que a heparina, além de maior absorção subcutânea, o que permite a aplicação de doses mais espaçadas. A enoxaparina também possui menor interação plaquetária com o fator de *von Willebrand* e com o endotélio e atua menos intensamente sobre a permeabilidade vascular, o que faz com que cause menos hemorragias que

as heparinas. Outra vantagem da enoxaparina consiste na monitoração laboratorial, já que esta é desnecessária na maioria dos pacientes, consequência da consistência da sua relação dose-efeito ⁴⁸.

Alguns estudos demonstram que a enoxaparina melhora a microcirculação após sua injeção por via subcutânea, resultando em aumento da área de viabilidade em retalhos cutâneos e em retalhos livres ^{28, 29, 49}. Dessa maneira, pode-se inferir que a enoxaparina apresenta potencial para aumentar a viabilidade de retalhos desenhuvados, inibindo a necrose tecidual.

No presente estudo o grupo 2 foi submetido à infusão de enoxaparina na dose de 320 UI/kg. Miyawaki et al ⁴⁹ utilizam a mesma dosagem administrada via subcutânea em dose única de forma semelhante a aqui utilizada. Estes autores estudam o efeito da enoxaparina em retalhos cutâneos congestos em modelo experimental realizado em coelhos e observaram aumento da viabilidade dos retalhos no grupo terapêutico.

Os achados do experimento aqui apresentado demonstraram diminuição da taxa de necrose na comparação entre os grupos controle (G1) e o grupo da enoxaparina (G2), favorecendo o último. Observou-se que a relação entre as áreas de necrose e total foi da ordem de 63,34% para G1 e de 32,71% para G2 ($p < 0,001$). Essa diminuição de 30,63% na área de necrose é significativa e apresenta potencial de utilização clínica. Não houve diferença estatística significativa na comparação da enoxaparina com os outros dois grupos estudados (G3 e G4; $p > 0,05$).

Um aspecto importante a ser salientado consiste no fato da enoxaparina aumentar o risco de eventos hemorrágicos. Apesar do risco ser inferior ao das heparinas tradicionais, ele ainda se faz presente. Nos pacientes vítimas de ferimentos descolantes isso se torna relevante, uma vez que eles apresentam elevada associação com outros traumatismos e hemorragia associada, o que pode impedir o uso da enoxaparina. Dessa maneira, ao se elaborar ensaios clínicos para o uso de enoxaparina nesse cenário, há necessidade de exclusão dos pacientes com maior risco de sangramento (traumatismos sistêmicos).

4.4.2 Eficácia da pentoxifilina

A pentoxifilina é considerada um derivado das metilxantinas e um inibidor inespecífico da enzima fosfodiesterase. Ela é classificada como um agente hemorreológico com a propriedade de melhorar o fluxo sanguíneo tecidual devido a sua habilidade em aumentar a plasticidade das hemácias, elevando o fluxo intravascular pela diminuição resultante da viscosidade sanguínea^{30, 31}.

O mecanismo de ação da pentoxifilina ainda permanece pouco claro, mas está relacionado aos efeitos sobre parâmetros hemorreológicos, aumentando a deformabilidade dos eritrócitos pela redução tanto da viscosidade sanguínea quanto do potencial de agregação plaquetária e formação de trombos^{50, 51}.

Outro mecanismo de ação, descrito mais recentemente, consiste na sua ação em diversas fases da cascata inflamatória, levando à inibição da ativação de neutrófilos com resultante diminuição da lesão tecidual pela resposta inflamatória³².

Na literatura encontra-se efeito benéfico da pentoxifilina no tratamento de doenças vasculares periféricas, como claudicação intermitente e úlceras venosas de membros inferiores, doenças cerebrovasculares e outras condições que envolvam defeitos regionais na microcirculação^{50, 51, 52}.

Alguns estudos demonstram o efeito deste fármaco no aumento da preservação tecidual através da melhora da perfusão e viabilidade de

retalhos miocutâneos em porcos³⁰ e de retalhos cutâneos em ratos^{53, 54}, da atenuação dos danos de reperfusão em traumas por lesões testiculares⁵⁵ e da redução da lesão hepática pelos efeitos de isquemia e reperfusão³¹.

Oztuna et al³³ demonstram através de estudo experimental que a pentoxifilina aumenta a viabilidade de retalhos avulsionados da cauda de ratos. Os autores, além de apresentar apenas 5 animais em cada grupo, fazem somente análise qualitativa dos achados de necrose através da classificação para úlcera de pressão⁵⁶, avaliando achados inflamatórios na análise histológica por hematoxilina e eosina.

No estudo aqui apresentado o grupo 3 foi submetido à infusão de pentoxifilina na dose de 25 mg/kg. Esta dose também foi utilizada por Oztuna et al³³ e administrada via intraperitoneal de forma semelhante à utilizada no grupo 3.

No presente estudo confirmou-se a eficácia da pentoxifilina na diminuição da área de necrose para o modelo proposto de avulsão parcial de retalhos. Os achados evidenciaram diminuição da taxa de necrose na comparação entre os grupos controle (G1) e o grupo da pentoxifilina (G3), favorecendo o último. Observou-se que a relação entre as áreas de necrose e total foi da ordem de 63,34% para G1 e de 41,7% para G3 ($p < 0,01$). Esta diminuição de 21,64% na área de necrose no grupo 3 sugere benefício na utilização da pentoxifilina na prática clínica após a elaboração de estudos clínicos controlados que confirmem esta evidência experimental. Não houve

diferença estatística significativa na comparação da pentoxifilina com os outros dois grupos estudados (G2 e G4; $p > 0,05$).

4.4.3 Eficácia do alopurinol

O alopurinol, um agente antioxidante, atua como inibidor da enzima xantina oxidase, que exerce importante papel na formação de radicais livres durante a reperfusão. O alopurinol não permite a conversão das hipoxantinas derivadas do ATP em ácido úrico, reação onde o O_2 é transformado em O_2^- ^{34, 46}. Os radicais superóxido e hidroxila, metabólitos do oxigênio extremamente reativos, são formados em situações de isquemia e reperfusão. Podem causar lesão na membrana celular diretamente através da peroxidação lipídica ou através da degradação do colágeno intracelular. Estes radicais livres derivados do oxigênio podem desempenhar um importante papel na etiologia microvascular do fenômeno vascular de isquemia e reperfusão^{36, 57}.

Existem várias referências na literatura sobre os efeitos benéficos do alopurinol e outros agentes antioxidantes em modelos de isquemia e reperfusão em retalhos fásciocutâneos em ratos e porcos^{34, 35, 57, 58, 59, 60}.

No estudo em questão o grupo 4 foi submetido à infusão de alopurinol na dose de 45 mg/kg. Esta dose também foi utilizada por Cunha et al⁴⁶ e Concannon et al⁶¹, em estudos separados, e administrada via intraperitoneal em dose única de forma semelhante a aqui utilizada.

No estudo aqui apresentado verificou-se diminuição da taxa de necrose na comparação entre os grupos controle (G1) e o grupo do alopurinol (G4), favorecendo a utilização desta medicação. Ao se considerar

a relação entre as áreas de necrose e total obteve-se 63,34% para G1 e 34,85% para G4 ($p < 0,001$). Encontrou-se uma diminuição de 28,49% na área de necrose no G4, evidenciando que o alopurinol pode ser útil no tratamento dos ferimentos descolantes em membros inferiores através da diminuição da área de necrose do retalho avulsionado, sendo necessários estudos clínicos que confirmem esta sugestão experimental. O fato de se tratar de uma medicação bem conhecida e com perfil de efeitos colaterais aceitável favorece a realização de tais estudos. Não houve diferença estatística significativa na comparação do alopurinol com os outros dois grupos estudados (G2 e G3; $p > 0,05$).

4.5 Considerações finais

A utilização de doses seriadas diárias das medicações testadas neste estudo poderia ser realizada para verificar se há efeito adicional na diminuição da necrose do retalho desenluvado em comparação com a utilização de dose única.

Há também a possibilidade de combinar as três medicações aqui utilizadas com a finalidade de demonstrar se há efeito sinérgico entre elas, com aumento na viabilidade dos retalhos desenluvados.

Uma consideração adicional seria a utilização de modalidades terapêuticas diferentes a fim de melhorar o tratamento dos desenlamentos cutâneos. Diversas classes de medicamentos poderiam ser utilizadas como antiagregantes plaquetários, outras medicações antioxidantes e agentes vasodilatadores, entre outros. A utilização do método a vácuo como modalidade terapêutica parece ser pertinente a fim de testar suas propriedades em um retalho avulsionado. Nestas duas situações, a combinação de medicações ou a utilização do sistema de curativo a vácuo, o modelo apresentado pode ser reproduzido e utilizado para verificação do efeito destas opções terapêuticas.

O uso clínico das medicações aqui testadas experimentalmente deve ser estimulado a fim de se verificar a sua utilidade no tratamento dos ferimentos descolantes. Para tanto, há necessidade da elaboração e realização de estudos clínicos prospectivos controlados e aprovados em

comissão de ética e pesquisa. Devido às três medicações estudadas apresentarem longo histórico de utilização clínica para outros fins e perfil de efeitos colaterais conhecido e aceitável, há possibilidade de se aprovar estudos com este objetivo e de se verificar a eficácia clínica destes fármacos.

CONCLUSÕES

As seguintes conclusões podem ser depreendidas do presente estudo:

1. Observou-se a diminuição da área de necrose em retalhos cutâneos avulsionados em membros inferiores de ratos com a utilização das medicações enoxaparina (G2), pentoxifilina (G3) e alopurinol (G4) quando comparados ao grupo controle (G1);
2. Não houve diferença estatística significativa entre os três grupos terapêuticos com relação à área de necrose nos retalhos cutâneos avulsionados (G2 x G3; G2 x G4; G3 x G4).

ANEXOS

6.1 Anexo A – Aprovação do projeto de pesquisa



APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 21/10/2009, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0842/09**, intitulado: "**ESTUDO EXPERIMENTAL DE AVULSÃO DE RETALHOS CUTÂNEOS EM MEMBROS INFERIORES DE RATOS**" apresentado pelo Departamento de **CIRURGIA**.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Marcus Castro Ferreira**

Pesquisador (a) Executante: **Dimas André Milcheski**

CAPPesq, 23 de Outubro de 2009

Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão de
Ética para Análise de Projetos
de Pesquisa

6.2 Anexo B – Dados completos para os quatro grupos estudados

6.2.1 Taxa de autofagia

Taxa de Autofagia	G1	G2	G3	G4
Sim	4	3	4	4
Não	21	22	21	21
Total	25	25	25	25

6.2.2 Taxa de óbito

Taxa de Óbito	G1	G2	G3	G4
Sim	4	4	3	3
Não	21	21	22	22
Total	25	25	25	25

6.2.3 Área total (cm²)

Animal	G1	G2	G3	G4
1	8,472	6,550	6,433	7,971
2	8,498	3,867	4,891	5,196
3	7,500	5,065	6,054	4,637
4	5,968	4,506	5,458	5,285
5	5,451	5,300	5,306	4,523
6	5,069	3,723	4,781	4,605
7	5,205	8,233	4,475	7,156
8	4,806	6,479	5,080	6,605
9	6,073	4,292	5,047	7,569
10	5,483	7,391	5,878	6,499
11	6,234	4,575	3,756	5,529
12	5,551	5,560	3,988	4,745
13	5,854	3,879	8,221	5,066
14	4,374	5,406	6,931	7,978
15	4,476	8,681	8,600	6,211
16	6,210	5,955	5,551	4,156
17	5,633	8,101	7,596	7,556
18	-	3,954	8,090	8,108

6.2.4 Área de necrose (cm²)

Animal	G1	G2	G3	G4
1	6,134	1,846	2,760	1,768
2	5,782	0,947	2,022	1,695
3	5,751	1,445	2,289	1,955
4	4,159	1,738	2,408	1,184
5	2,488	3,032	2,304	2,633
6	3,741	1,385	2,159	2,545
7	3,925	2,498	1,624	1,820
8	2,738	2,086	1,405	2,969
9	2,614	1,485	1,882	1,395
10	3,368	1,671	1,636	1,618
11	2,097	1,634	1,699	2,804
12	2,886	1,877	1,413	1,803
13	4,133	1,289	3,458	1,716
14	2,506	2,239	3,056	3,085
15	2,835	3,053	2,753	2,225
16	2,926	1,655	2,482	1,140
17	3,934	1,616	3,245	2,364
18	-	1,160	3,339	3,675

6.2.5 Relação entre a área de necrose e a área total

Animal	G1	G2	G3	G4
1	0,7240321	0,2818321	0,4290378	0,221804
2	0,6803954	0,2448927	0,4134124	0,3262125
3	0,766800	0,2852912	0,3780971	0,4216088
4	0,6968834	0,3857079	0,4411873	0,2240303
5	0,456430	0,5720755	0,4342254	0,5821357
6	0,7380154	0,3720118	0,4515792	0,5526602
7	0,7540826	0,3034131	0,362905	0,254332
8	0,5697045	0,3219633	0,2765748	0,449508
9	0,4304298	0,3459925	0,3728948	0,1843044
10	0,6142623	0,2260858	0,278326	0,2489614
11	0,3363811	0,3571585	0,4523429	0,5071442
12	0,5199063	0,3375899	0,3543129	0,3799789
13	0,706013	0,3323022	0,4206301	0,3387288
14	0,5729309	0,4141694	0,4409176	0,3866884
15	0,633378	0,3516876	0,3201163	0,3582354
16	0,4711755	0,2779177	0,4471267	0,2743022
17	0,6983845	0,1994815	0,4271985	0,3128639
18	-	0,2933738	0,4127318	0,453256

REFERÊNCIAS

1. Mandel M. The Management of Lower Extremity Degloving Injuries. *Ann Plast Surg.* 1981; 6: 1-5.
2. Milcheski DA. Análise crítica do tratamento de pacientes com ferimentos descolantes nos membros inferiores [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009.
3. Kudsk KA, Sheldon GF, Walton RL. Degloving Injuries of the Extremities and Torso. *J Trauma.* 1981; 21: 835-9.
4. Widgerow AD, Chait LA. Degloving Injuries and Flap Viability Assessment. *S Afr Med J.* 1993; 83: 97-9.
5. Farmer AW. Treatment of Avulsed Skin Flaps. *Ann Surg.* 1939; 110: 951-9.
6. Letts RM. Degloving Injuries in Children. *J Pediatr Orthop.* 1986; 6: 193-7.
7. Hidalgo DA. Lower extremity avulsion injuries. *Clin Plast Surg.* 1986; 13: 701-10.
8. Waikukul S. Revascularization of Degloving Injuries of the Limbs. *Injury.* 1997; 28: 271-4.
9. Huemer GM, Schoeller T, Dunst KM, Rainer C. Management of a Traumatically Avulsed Skin-flap on the Dorsum of the Foot. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2004; 124: 559-62.

10. Hidalgo DA, Shaw W. Reconstruction of Foot Injuries. *Clin Plast Surg.* 1986; 13: 663-79.
11. Hueston JT, Gunter GS. Primary cross-leg flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1967; 40: 58-62.
12. Cram AE, Domayer MA. Short-term preservation of human autografts. *J Trauma.* 1983; 23: 872-3.
13. Sheridan R, Mahe J, Walters P. Autologous skin banking. *Burns.* 1998; 24: 46-8.
14. Hoogeboom JE, Polley JW, Hunstad JP, Scholten DJ, Telman R. In vitro preservation of traumatic skin autografts in a massive degloving injury. *J Am Osteopath Assoc.* 1989; 89: 1066-8.
15. Nogueira A, Martínez MJ, Arriaga MJ, Pérez A. Delayed Full-Thickness Autografting of Cryopreserved Avulsed Skin in Degloving Injuries of the Extremities. *Plast Reconstr Surg.* 2001; 107: 1009-13.
16. Nakayama Y, Lino T, Soeda S. A New Method for the Dressing of Free Skin Grafts. *Plast Reconstr Surg.* 1990; 86: 1216-9.
17. Argenta LC, Morykwas MJ. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: clinical experience. *Ann Plast Surg.* 1997; 38: 563-76.
18. Meara JG, Guo L, Smith JD, Pribaz JJ, Breuing KH, Orgill DP. Vacuum-Assisted Closure in the treatment of Degloving Injuries. *Ann Plast Surg.* 1999; 42: 589-94.

19. DeFranzo AJ, Marks MW, Argenta LC, Genecov DG. Vacuum-Assisted Closure for the Treatment of Degloving Injuries. *Plast Reconstr Surg.* 1999; 104: 2145-8.
20. Josty IC, Ramaswamy R, Laing JH. Vacuum-assisted closure: an alternative strategy in the management of degloving injuries of the foot. *Br J Plast Surg.* 2001; 54: 363-5.
21. Jeng SF, Hsieh CH, Kuo YR, Wei FC. Technical Refinement in the Management of Circumferentially Avulsed Skin of the Leg. *Plast Reconstr Surg.* 2004; 114: 1225-7.
22. Blackburn JH, Boemi L, Hall WW, Jeffords K, Hauck RM, Banducci DR, Graham WP. Negative-pressure dressings as a bolster for skin grafts. *Ann Plast Surg.* 1998; 40: 453-7.
23. Schneider AM, Morykwas MJ, Argenta LC. A new and reliable method of securing skin grafts to the difficult recipient bed. *Plast Reconstr Surg.* 1998; 102: 1195-8.
24. Scherer LA, Stephen S, Chang M, Meredith JW, Owings JT. The Vacuum Assisted Closure Device: a Method of Securing Skin Grafts and Improving Graft Survival. *Arch Surg.* 2002; 137: 930-4.
25. Crowley DJ, Kanakaris NK, Giannoudis PV. Debridement and wound closure of open fractures: The impact of the time factor on infection rates. *Injury.* 2007; 38: 879-89.
26. Hovanessian HC. New-generation anticoagulants: the low-molecular weight heparins. *Ann Emerg Med.* 1999; 34: 768-79.

27. Turpie AG. Pharmacology of the low-molecular weight heparins. *Am Heart J.* 1998; 135: S329-35.
28. Buckley MM, Sorkin EM. Enoxaparin: a review of its pharmacology and clinical applications in the prevention and treatment of thromboembolic disorders. *Drugs.* 1992; 44: 465-97.
29. Ritter EF, Crosnan JC, Rudner AM, Serafin D, Klitzman B. Improved microsurgical anastomotic patency with low molecular weight heparin. *J Reconstr Microsurg.* 1998; 14: 331-6.
30. Armstrong M Jr, Kunar DR, Cummings CW. Effect of pentoxifylline on myocutaneous flap viability in pigs. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1993; 109: 668-75.
31. Fabia R, Travis DL, Levy MF, Huesberg BS, Goldstein RM, Klintmalm GB. Effect of pentoxifylline on hepatic ischemia and reperfusion injury, *Surgery.* 1997; 121: 520-5.
32. Coimbra R, Melbostad H, Hoyt DB. Effects of phosphodiesterase inhibition on the inflammatory response after shock: role of pentoxifylline. *J Trauma.* 2004; 56: 442-9.
33. Oztuna V, Eskandari MM, Unal S, Colak M, Karabacak T. The effect of pentoxifylline in treatment of skin degloving injuries: an experimental study. *Injury.* 2006; 37: 638-41.
34. Rees R, Smith D, Li TD, Cashmer B, Garner W, Punch J, Smith DJ Jr. The role of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase in skin ischemia. *J Surg Res.* 1994; 56:162-7.

35. Fontana C. Efeito da N2- mercaptopropioniglicina na sobrevivência de retalhos cutâneos submetidos à oclusão temporária do pedículo vascular – estudo experimental em ratos [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1992.
36. Manson PM, Anthenelli RM, Im MJ. The role of oxygen free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg.* 1983; 198: 87-90.
37. Kurata T, O'Brien BM, Black MJ. Microvascular surgery in degloving injuries: an experimental study. *Br J Plast Surg.* 1978; 31: 117-20.
38. Wang ZT, Guo SZ, Xiu ZF, Lu KH, Li QS. [A new model of skin avulsion injuries in rats]. [*Chin J Plast Surg*]. *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi.* 2008; 24: 212-5.
39. Milcheski DA, Ferreira MC, Nakamoto HA, Tuma Jr P. Modelo Experimental para Estudo de Desenlramento Cutâneo no Membro Inferior. *Rev Soc Bras Cir Plást.* 2010; *in press*.
40. Image J 1.42q for Macintosh. Versão 10.2. Wayne Resband National Institutes of Health, USA. Disponível em: <http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>.
41. Prism 4.0b for Macintosh. Graphpad Software, Inc, USA. 2004. Disponível em: <http://www.graphpad.com/Support/Prism4updates.cfm>.
42. Colégio Brasileiro de Cirurgiões. Projeto Trauma 2005-2025 – Sociedade, violência e trauma. Kowes I, Rodrigues JMS, Mir L, Musafir M, Steinman M, Pogetti R. Disponível em: http://www.cbc.org.br/upload/pdf/comissoes_trauma_projetotrauma.pdf.

43. Milcheski DA, Nakamoto HA, Tuma jr P, Gemperli R, Ferreira MC. Tratamento Cirúrgico de Ferimentos Descolantes nos Membros Inferiores – Proposta de Protocolo de Atendimento. *Rev Col Bras Cir.* 2010; 37: 199-203.
44. Ferreira MC, Wada A, Tuma Jr P. The vacuum assisted closure of complex wounds: report of 3 cases. *Clinics (São Paulo).* 2003; 58: 227-30.
45. Wada A, Ferreira MC, Tuma Jr P, Arrunátegui G. Experience with local negative pressure (vacuum method) in the treatment of complex wounds. *São Paulo Med J.* 2006; 124: 150-3.
46. Cunha MS, da Silva JC, Nakamoto HA, Ferreira MC. Study of warm ischemia followed by reperfusion on a lower limb model in rats: effect of allopurinol and streptokinase. *Clinics (São Paulo).* 2005; 60: 213-20.
47. Huang ZF, Wun TC, Broze GJ Jr. Kinetics of factor Xa inhibition by tissue factor pathway inhibitor. *J Biol Chem* 1993; 268: 26950-5.
48. Staico R, Vaz V, Cesar F, Feres F, Abizaid A, Mattos L, Maldonado G, Sousa A, Sousa JE. Heparina Não-Fracionada e de Baixo Peso Molecular: Equivalência ou Superioridade na Intervenção Coronária Percutânea? Artigo de revisão. *Rev Bras Cardiol Invasiva.* 2004; 12: 138-45.
49. Miyawaki T, Jackson IT, Elmazar H, Bier UC, Barakat K, Andrus L, Williams F. The Effect of Low-Molecular Weight Heparin in the Survival of a Rabbit Congested Skin Flap. *Plast Reconstr Surg.* 2002;

- 109: 1994-9.
50. Frampton JE, Brogden RN. Pentoxifylline (oxpentifylline). A review of its therapeutic efficacy in the management of peripheral vascular and cerebrovascular disorders. *Drugs Aging*. 1995; 7: 480-503.
51. Ward A, Clissold SP. Pentoxifylline. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy. *Drugs*. 1987; 34: 50-97.
52. Jull A, Arroll B, Parag V, Waters J. Pentoxifylline for treating venous leg ulcers. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007; 3: CD001733.
53. Isken T, Serdaroglu I, Ozgentas E. The effects of the pentoxifylline on survival of the skin flaps in streptozotocin-diabetic rats. *Ann Plast Surg*. 2009; 62: 446-50.
54. Mauad RJ Jr, Shimizu MH, Mauad T, de Tolosa EM. Buflomedil and pentoxifylline in the viability of dorsal cutaneous flaps of rats treated with nicotine. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2006; 59: 387-92.
55. Savas C, Dindar H, Bilgehan A, Ataoglu O, Yucesan S. Pentoxifylline attenuates reperfusion injury in testicular torsion. *Scand J Urol Nephrol*. 2002; 36: 65-70.
56. National Pressure Ulcer Advisory Panel. Pressure ulcers prevalence, cost and risk assessment: consensus development conference statement. *Decubitus*. 1989; 2: 24-8.
57. Tamir G, Yafee B, Pri-chen S, Hauben DJ, Tsur H. The effect of allopurinol on experimental island skin flap survival under prolonged periods of arterial ischemia. *Br J Plast Surg*. 1994; 47: 155-7.

58. Im MJ, Shen WH, Pak CJ. Effect of allopurinol on the survival of hyperemic island skin flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1984; 73: 276-8.
59. Ferrari RP, Battiston B, Brunelli G, Casella A, Caimi L. The role of allopurinol in preventing oxygen free radical injury to skeletal muscle and endothelial cells after ischemia-reperfusion. *J Reconstr Microsurg.* 1996; 12: 447-50.
60. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, Narayanan K, Basford RE, Futrell JW. Augmentation of skin flap survival with allopurinol. *Ann Plast Surg.* 1987; 18: 494-8.
61. Concannon MJ, Dooley TW, Puckett CL. Improved survival in a replantation model containing ischemic muscle. *Microsurgery.* 1991; 12: 18-22.