

BIBLIOTECA - EMESCAM

ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE
VITÓRIA – EMESCAM

MARCUS ALEXANDRE NOVO BRAZOLINO

THIAGO CARDOSO MAIA

**EFEITOS DA CARBOXITERAPIA NA VIABILIDADE DO RETALHO
CUTÂNEO RANDÔMICO EM RATOS**

VITÓRIA

2009

- MARCUS ALEXANDRE NOVO BRAZOLINO
- THIAGO CARDOSO MAIA

**EFEITOS DA CARBOXITERAPIA NA VIABILIDADE DO RETALHO
CUTÂNEO RANDÔMICO EM RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a
Escola Superior de Ciências da Santa Casa de
Misericórdia de Vitória - EMESCAM, como
requisito parcial para obtenção do grau de Médico.
Orientador: Danilo Nagib Salomão Paulo
Co-orientador: Alexandro Kenji Kimura
Co-orientador: José Marcelo Corassa

VITÓRIA
2009

MARCUS ALEXANDRE NOVO BRAZOLINO
THIAGO CARDOSO MAIA

**EFEITOS DA CARBOXITERAPIA NA VIABILIDADE DO RETALHO
CUTÂNEO RANDÔMICO EM RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória – EMESCAM, como requisito parcial para obtenção do grau de Médico.

Aprovada em 05 de Dezembro de 2009.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Danilo Nagib Salomão Paulo
Doutor em Cirurgia pela Universidade Federal de Minas Gerais e Professor Titular da Disciplina de Fundamentos da Cirurgia da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória – EMESCAM.
Orientador

Prof^a. Isabel Cristina Andreatta Lemos Paulo
Doutora em Cirurgia pela Universidade Federal de Minas Gerais e Professora adjunta do Departamento de Cirurgia da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória – EMESCAM.

Prof. Alexandro Kenji Kimura
Cirurgião Plástico da Santa Casa de Misericórdia de Vitória

Marcela Souza Lima Paulo
Supervisora de Reprodução Animal do Centro de Pesquisa da EMESCAM

DEDICATÓRIA

Aos pais e amigos

Por compreenderem nossos momentos de
ausência, e de vibrarem com nossas
vitórias.

Sempre em momentos de desânimo nos
proporcionar uma palavra de carinho para
que sigamos em frente.

AGRADECIMENTO

A Deus por ter nos amparado durante toda a caminhada.

Ao Professor Danilo pela dedicação, atenção, confiança e disponibilidade em nos ensinar. A cada dia foi um novo de aprendizado. Obrigado pela oportunidade.

A Professora Isabel, um exemplo de superação. Pessoa fundamental para que o projeto se tornasse realidade. Sem ela esse trabalho seria apenas uma idéia no papel. Por sempre disponibilizar aos estudantes oportunidade, os caminhos e a confiança nos projetos que lhe são apresentados.

A Marcela pela dedicação e esforço evidenciado em todo período do trabalho. Sempre estando disposta em contribuir no que era necessário para concretização dessa obra.

Ao Dr Corassa por está sempre disposto a contribuir e nos ensinar os meandros da técnica da carboxiterapia.

Ao Dr Kimura por compartilhar seu conhecimento e nos ensinar alguns princípios de cirurgia plástica necessário para aplicação no trabalho.

Aos funcionários do Centro de Pesquisa, os técnicos Luis e Sidney, Janaína e Luciana, que a todo o momento demonstraram interesse e preocupação como nosso projeto, estando sempre ao nosso lado. Muitas vezes trocando o conforto da família para estar conosco.

Ao Ramos por nos disponibilizado a máquina de carboxiterapia e pela presteza em contribuir com seus conhecimentos de engenharia.

RESUMO

Introdução: Retalhos cutâneos são segmentos de pele, subcutâneo e, às vezes de músculos, de uma área doadora, que ficam conectados a um pedículo e transferidos a uma área receptora. A insuficiência arterial do retalho é complicação proveniente da secção de vasos cutâneos, de terminações nervosas ou de falhas técnicas. Várias técnicas objetivam aumentar a viabilidade dos retalhos cutâneos. A carboxiterapia poderia ser uma alternativa pelo baixo custo, fácil aplicação e por seus efeitos benéficos na vasodilatação local, aumento da pO_2 , redução da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio local. Entretanto, são necessários estudos que corroborem com seus efeitos teóricos. **Objetivo:** Avaliar os efeitos da carboxiterapia na viabilidade do retalho cutâneo randômico no dorso de ratos. **Metodologia:** Foram analisados 10 ratos da linhagem Wistar distribuídos em 02 grupos de 05 animais cada. Em todos, foi realizado retalho cutâneo randômico de base cranial com dimensões de 10 X 04 cm e interposto uma barreira plástica entre a área cruenta e o retalho. No grupo A foi simulada aplicação de CO_2 por punção na base e no centro do retalho, sendo realizadas 02 sessões durante os 03 primeiros dias e, 01 sessão durante os 07 dias de pós-operatório. No grupo B foi aplicada a técnica de carboxiterapia com infusão de 10 ml em cada ponto por sessão, nos mesmos locais e período do grupo A. No 11º dia de pós-operatório as áreas totais e viáveis do retalho foram mensuradas pelo método do gabarito de papel e pelo programa ImageJ. Os valores encontrados foram utilizados para cálculo da Porcentagem de Sobrevivência. **Resultados:** pela análise da variável peso o grupo A apresentou média de viabilidade de 163,6mg e o grupo B de 159,8mg. Enquanto as médias das Porcentagens de Sobrevivência destes grupos para esta variável foram, respectivamente, 65,27% e 62,39%. Pela análise da variável área o grupo A apresentou média de viabilidade de $31,3cm^2$ e o grupo B de $29,71cm^2$. Enquanto as médias das Porcentagens de Sobrevivência destes grupos para esta variável foram, respectivamente, 66,87% e 63,16%. **Conclusão:** a carboxiterapia não influenciou no aumento da viabilidade dos retalhos cutâneos randômicos de ratos.

Palavras-chave: retalho cutâneo randômico, carboxiterapia, viabilidade.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	08
2 REVISÃO DE LITERATURA	09
2.1 CARBOXITERAPIA.....	09
2.2 RETALHO CUTÂNEO.....	09
3 PROPOSIÇÃO	11
4 METODOLOGIA	12
4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	12
4.2 TÉCNICA.....	12
4.2.1 Da realização do retalho.....	12
4.2.2 Da carboxiterapia.....	15
4.3 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA.....	16
4.4 AVALIAÇÃO DA ÁREA VIÁVEL.....	17
4.4.1 Preparação do molde.....	17
4.4.2 Do gabarito de papel.....	17
4.4.3 Do programa ImageJ.....	18
4.5 TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	18
5 RESULTADOS	20

5.1 DA AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DOS RETALHOS	20
5.2 DO PESO DOS RATOS	20
5.3 DO TEMPO OPERATÓRIO	21
5.4 DA ÁREA VIÁVEL.....	22
5.4.1 De acordo com o peso dos moldes das áreas dos retalhos.....	22
5.4.2 De acordo com a área calculado pelo programa ImageJ.....	24
6 DISCUSSÃO.....	27
7 CONCLUSÃO	29
8 REFERÊNCIAS	30
APÊNDICES	33
APÊNDICE A.....	34
ANEXOS.....	35
ANEXO A.....	36

1 INTRODUÇÃO

Os retalhos cutâneos são amplamente utilizados em cirurgia reparadoras,¹ sendo imprescindível nas reconstruções funcionais e estéticas de falhas congênitas, traumáticas ou provocadas pela exérese de lesões neoplásicas. O comprometimento distal do retalho cutâneo está intimamente relacionado a insuficiência do fluxo sanguíneo, o que determina a complicação mais temida do pós-operatório: a necrose do retalho.^{2,3,4}

Esta complicação se deve a fatores extrínsecos e intrínsecos. Os fatores extrínsecos podem ser sistêmicos (infecção, inflamação, arteriosclerose, hipotensão e má-nutrição), e locais (compressão, tensão, trombos ou torção no pedículo). O único fator intrínseco é a insuficiência arterial do retalho. Esta complicação seria explicada pela secção de vasos cutâneos e de terminais nervosos simpáticos e a elevação do retalho, que provocariam a diminuição do fluxo sanguíneo ao longo do mesmo.⁵

Considerando que o retalho cutâneo pode apresentar complicações, sendo a necrose por isquemia a principal delas, impõe-se a necessidade de métodos mais eficazes que garantam maior vascularização e disponibilidade de oxigênio à área submetida ao procedimento cirúrgico. A carboxiterapia (CT) apresenta esses efeitos benéficos, além de apresentar baixo custo e praticidade no transporte do seu equipamento o que possibilita ampla aplicação aos pacientes hospitalizados ou não.

O tratamento promove a vasodilatação local, com conseqüente aumento do fluxo vascular e da pressão parcial de oxigênio (pO_2), bem como, redução da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, o que resulta em maior disponibilidade deste gás para o tecido. Desta forma, melhora a micro-circulação e a oxigenação dos tecidos (potencialização do efeito Bohr).^{6,7,8}

No entanto, há necessidade de trabalhos experimentais que corroborem, na prática, seus efeitos teóricos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARBOXITERAPIA

O termo CT é habitualmente utilizado para denominar a terapêutica subcutânea (hipodérmica) do Anidro Carbônico – CO₂ – Gás Carbônico. Desenvolvida na França nos anos 30 (Águas Termiais de Royat) e liderada pelo Dr. Jean Baptiste Romuef através de um estudo de aproximadamente 20 anos. Desde então, vem sendo amplamente utilizada em várias áreas da medicina.⁶ A técnica consiste na aplicação de gás carbônico na hipoderme com uma agulha de fino calibre (agulha para aplicação de insulina).^{9,10}

Atualmente é sabido que a aplicação de CO₂ abaixo da pele produz eritema e hiperemia reacional nesse tecido. Banhos do gás tem sido usado como tratamento de doença vascular periférica. Entretanto, não há conhecimento sobre o efeito do CO₂ na viabilidade dos retalhos cutâneos, particularmente em modelos animais.

2.2 RETALHO CUTÂNEO

Segundo Ferreira,¹ retalhos cutâneos são segmentos de pele deslocados de uma área doadora e transferidos a uma área receptora, mantendo conexão definitiva ou temporária com a doadora. Tem como característica o suprimento por vasos próprios provenientes de seus pedículos, sendo independentes da vascularização da área receptora para assegurar sua viabilidade, o que o torna diferente dos enxertos.

Os retalhos cutâneos são utilizados em diversas especialidades médicas: cirurgia geral, ortopedia e, principalmente, em cirurgia plástica. Podem ser classificados de várias formas:

- Quanto ao número de pedículos: monopediculado, bipediculado;
- Quanto a região de origem: peitoral, frontal, palmar, parede abdominal, do membro inferior;

- Quanto à sua vascularização: randômicos e axiais. Os primeiros não apresentam vasos dominantes em seu pedículo, sendo nutrido de forma aleatória a partir de vasos provenientes da área doadora. Os segundos apresentam um pedículo definido do qual recebe fluxo sanguíneo a partir de vasos dominantes como as artérias septocutâneas e cutâneas diretas.¹¹

Os retalhos cutâneos são utilizados para reconstrução de áreas com perda cutânea ou muscular que exijam cobertura ou preenchimento cavitário estável.¹²

Segundo Buncke et al e Lister^{13,14} existem alguns critérios que devem ser observados para que um retalho seja considerado ideal, tais como:

- Apresentar morbidade mínima;
- Apresentar pouca variação anatômica;
- Estar localizado no mesmo seguimento corpóreo da área lesada;
- Ter pedículo compatível com as técnicas microcirúrgicas;
- Ter pedículo de comprimento adequado;

Em 1965, Mc Farlane, DeYoung e Henry¹⁵ desenvolveram um modelo experimental para estudo e prevenção das complicações possíveis dos retalhos cutâneos randômicos. Para que sua realização foi adotado como limites o ângulo inferior das escápulas e as extremidades superiores dos ossos pélvicos. Suas dimensões foram de 04 cm de largura por 10 cm de comprimento, com percentual de necrose de 25% a 50%. Os retalhos eram elevados a partir da fáscia profunda e continha a fáscia superficial, panículo carnoso e pele.

Medidas terapêuticas, associadas ou não, têm sido utilizadas para evitar a necrose deste retalho cutâneo. Dentre estas destacam-se os fatores vasculares de crescimento endotelial,^{16,17,18,19} dexametasona,^{20,21} laserterapia de baixa intensidade,^{22,23} ionoforese,^{24,25} além da autonomização vascular.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar os efeitos da carboxiterapia na viabilidade do retalho cutâneo randômico no dorso de ratos.

4 METODOLOGIA

O presente trabalho foi realizado no Centro de Pesquisa da Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória-ES (EMESCAM), com a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da EMESCAM (CEUA), conforme protocolo nº 005/2009. (ANEXO A).

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os animais foram provenientes do Centro de Pesquisa da EMESCAM, alocados em gaiolas individuais. O fundo das gaiolas recebeu forração com maravalhas (HEMO-IN); o teto, grade de metal. Na ocasião, foram submetidos a exame clínico para descartar possíveis afecções, e alimentados com ração comercial granulada para animais de laboratório (NUVILAR CR-1 AUTOCLAVÁVEL®) e água à vontade.

Foram estudados 10 ratos, machos, Wistar, com peso entre 364-425g, média de 390g, analisados do 1º ao 11º dia de pós-operatório, sendo distribuídos em dois grupos:

- Grupo A (n=5) – controle;
- Grupo B (n=5) – experimento (carboxiterapia).

Os animais do grupo A foram denominados: A1, A2, A3, A4 e A5. Os do grupo B: B1, B2, B3, B4 e B5.

4.2 TÉCNICA

4.2.1 Da realização do retalho



Após 06 horas de jejum, os ratos foram submetidos ao ato cirúrgico obedecendo a seguinte sequência.²⁶

- Pesagem (balança Filizola® - sensibilidade 1g);
- Anestesia com 50mg/Kg de Cloridrato de Ketamina e 5,0 mg/Kg de Cloridrato de Xylazina intraperitoneal;
- Tricotomia ampla do dorso do animal (máquina BEST LINE BL-2070®);
- Colocação, sobre a região dorsal depilada, de um molde semi-flexível de forma retangular com as dimensões semelhantes as do retalho (10 cm de comprimento por 04 cm de largura, respeitando os limites entre o ângulo superior das escápulas e a extremidade superior dos ossos ilíacos);^{2,5,16,17,23,25}
- Demarcação das dimensões do retalho no dorso do animal, rente as bordas do molde, com azul de metileno;
- Marcação de um ponto na base do retalho e outro no centro do mesmo, distando 05 cm um do outro, com azul de metileno, para identificar os locais de aplicação da agulha de insulina (Figura 1, APÊNDICE A);
- Anti-sepsia com Polvidine Alcoólico e colocação de campo operatório no dorso do animal;
- Incisão sobre a linha demarcada com o azul de metileno, interessando a pele, tecido celular subcutâneo, panículo carnosos e fascia superficial;
- Descolamento do retalho da fascia profunda até o seu pedículo localizado cranialmente;
- Colocação de um plástico (80% de polietileno de alta densidade e 20% de polietileno de baixa densidade) entre o retalho e a superfície cruenta da área doadora (Figura 2);
- Sutura do retalho à área doadora, com pontos separados simples (Figura 3), mononylon 6-0.

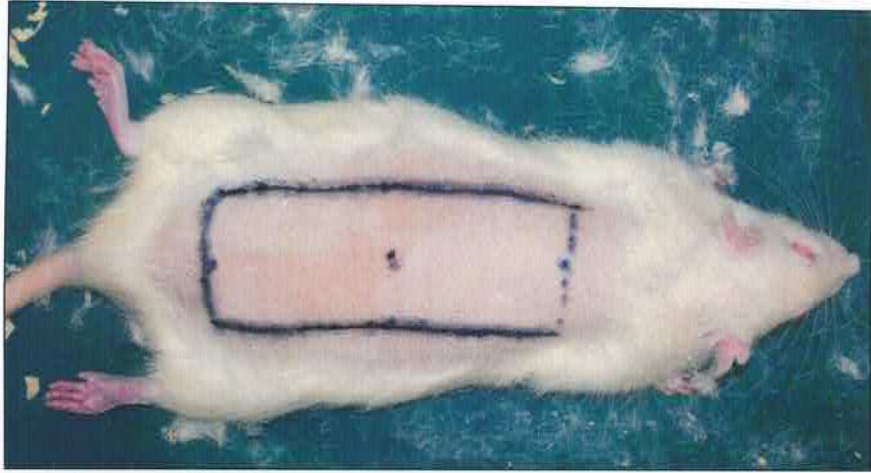


Figura 1 - Demarcação da área do retalho e marcação dos pontos de CT (base e centro).



Figura 2 - Retalho cutâneo randômico de pedículo cranial e colocação da barreira plástica.



Figura 3 - Rafia do retalho cutâneo com ponto simples separado.

4.2.2 Da carboxiterapia

A técnica consistiu em:

- Indução anestésica com vapores de éter;
- Punção com agulha de insulina nos locais previamente marcados (Figura 4);
- Conexão do sistema de injeção de CO₂ à agulha de insulina;²⁷
- Injeção de 10 ml de CO₂ no subcutâneo, em cada ponto previamente definido, com fluxo de 20 mL por minuto, por 30 segundos, num total de 20 ml por sessão.

- Fazer alteração no conteúdo de ética.

Durante os três primeiros dias foram realizadas duas sessões distantes uma da outra de 6 horas, e nos sete dias seguintes apenas uma sessão, na parte da manhã, de acordo com o protocolo preconizado por Paulo et al²⁸ para uso da oxigenioterapia hiperbárica. Durante o procedimento eram avaliadas modificações cutâneas como sinais de hiperemia, distensão, enfisema subcutâneo.

Os animais foram alocados em gaiolas individuais onde havia Dipirona em gotas (500mg/ml) diluída no bebedouro (06 gotas/100 ml de água), dieta livre e água *ad libitum*.²⁶ Nos três primeiros dias pós-operatórios foi administrado 0,1 ml de Nubaim (01mg/ml) via subcutânea.



Figura 4 – Técnica de infusão do CO₂ no centro do retalho.

4.3 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

A partir do 5º dia de pós-operatório a área de necrose e a área viável do retalho começaram a se definir. No 11º dia os animais foram sacrificados com dose letal de cloreto de potássio, intra-cardíaco, após indução com Thiopental sódio, intraperitoneal. Foi realizada exérese do retalho para serem fotografados (Sony DSC-H20®) (Figura 5) e transcritas suas dimensões, bem como sua área viável para análise.

nao se use



Figura 5 - Área de necrose do retalho observada após necrópsia do animal no 11^o dia pós-operatório.

4.4 AVALIAÇÃO DA ÁREA VIÁVEL

4.4.1 Preparação do molde

A exérese do retalho da área doadora foi realizada por meio da retirada dos fios de sutura, secção das cicatrizes das suturas e secção do pedículo do retalho. Sobre o retalho foram determinadas suas dimensões através da delimitação com papel vegetal, de onde se discriminou a área viável da área necrosada. Após esta etapa, foram realizadas 02 fotocópias do papel vegetal para confecção do molde do retalho, em folha A4 (210x297mm, 75g/m²), com objetivo de se realizar a análise do gabarito de papel e do programa ImageJ.

4.4.2 Do gabarito de papel

Em uma das cópias, foi recortado o molde, sendo este, pesado em balança de precisão (Filizola® - erro de 0,001g). Deste mesmo fragmento, recortou-se a região correspondente à área viável do retalho e, também submetida a pesagem. A seguir,

aplicou-se a fórmula para cálculo do percentual de viabilidade, conforme descrito a seguir (Figura 6):

Figura 6 - Fórmula para cálculo do percentual de viabilidade a partir da variável peso.

$$\text{Percentagem Viabilidade} = \frac{\text{Peso da área viável do molde}}{\text{Peso da área total do molde}} \times 100$$

4.4.3 Do programa ImageJ

A outra fotocópia teve sua área viável preenchida a lápis e digitalizada com definição de 96 dpi (HP 5030®). Através do Microsoft Office Picture Manager, delimitou-se a área em torno de cada molde, sendo este arquivo submetido ao crivo do programa ImageJ. Neste foram calculadas com precisão de 0,0001 cm² as áreas totais e viáveis de cada retalho.

A percentual de viabilidade, da mesma forma que as medidas de peso, foi calculada para análise das medidas de área, conforme fórmula descrita a seguir (Figura 7):

Figura 7 - Fórmula para cálculo do percentual de viabilidade a partir da variável área.

$$\text{Percentagem Viabilidade} = \frac{\text{Área viável do molde}}{\text{Área total do molde}} \times 100$$

4.5 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Foram utilizados os seguintes testes estatísticos:

a- Estatística descritiva para cálculo da média aritmética e desvio padrão das seguintes variáveis: peso dos ratos pré-operatório e pós-operatório, tempo operatório, área viável e percentual de viabilidade das variáveis peso (em miligramas) e área (em centímetros quadrados).

b- Teste-t para análise dos dois grupos independentes visando comparar a média e desvio padrão do percentual de viabilidade para as variáveis peso (em miligramas) e área (em centímetros quadrados), entre os grupos tratados e não tratados com gás carbônico.

5 RESULTADOS

5.1 DA MACROSCOPICA DOS RETALHOS

A partir do 5º dia de pós-operatório foi sendo delimitada a área de necrose do retalho bem como a área viável.

Em todos os animais houve drenagem de secreção serosanguinolenta de moderada intensidade, sem infecção local, sob o retalho quando este foi retirado.

O material plástico estava posicionado em toda a superfície cruenta da área doadora.

A necrose da extremidade dos retalhos foi observada em todos os animais, em diferentes proporções, sendo caracterizada por áreas escurecidas, rígidas e frias. Não foi observada necrose das bordas próximas às áreas viáveis de sutura (Figura 8).



Figura 8 - Necrose da extremidade do retalho cutâneo e viabilidade da sutura na área viável.

5.2 DO PESO DOS RATOS

LD

No grupo A três animais apresentaram redução do peso (B3, B4, B5) e dois apresentaram aumento do peso (B1 e B2) (Tabela 1).

No grupo B quatro animais (B1, B2, B3 e B5) apresentaram perda de peso, enquanto um apresentou ganho (B4) (Tabela 2).

Tabela 1 – Comparação dos pesos iniciais e finais, em gramas, dos animais do grupo A e o percentual de variação do peso de cada um destes.

Animais	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Percentual de Variação
A1	402	406	1,00%
A2	364	365	0,27%
A3	401	369	-7,98%
A4	377	356	-5,57%
A5	367	354	-3,54%
MÉDIA	382,20	370,00	-3,19%

Tabela 2 – Comparação dos pesos iniciais e finais, em gramas, dos animais do grupo B e a percentual de variação do peso de cada um destes.

Animais	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Percentual de Variação
B1	394	374	-5,08%
B2	425	383	-9,88%
B3	413	402	-2,66%
B4	386	406	5,18%
B5	371	351	-5,39%
MÉDIA	397,80	383,20	-3,67%

5.3 DO TEMPO OPERATÓRIO

Em ambos grupos a média de tempo operatório foi de 43 minutos. O grupo A apresentou menor variação (40-45 minutos) do tempo quando comparado com o grupo B (35-65 minutos) (Figura 9).

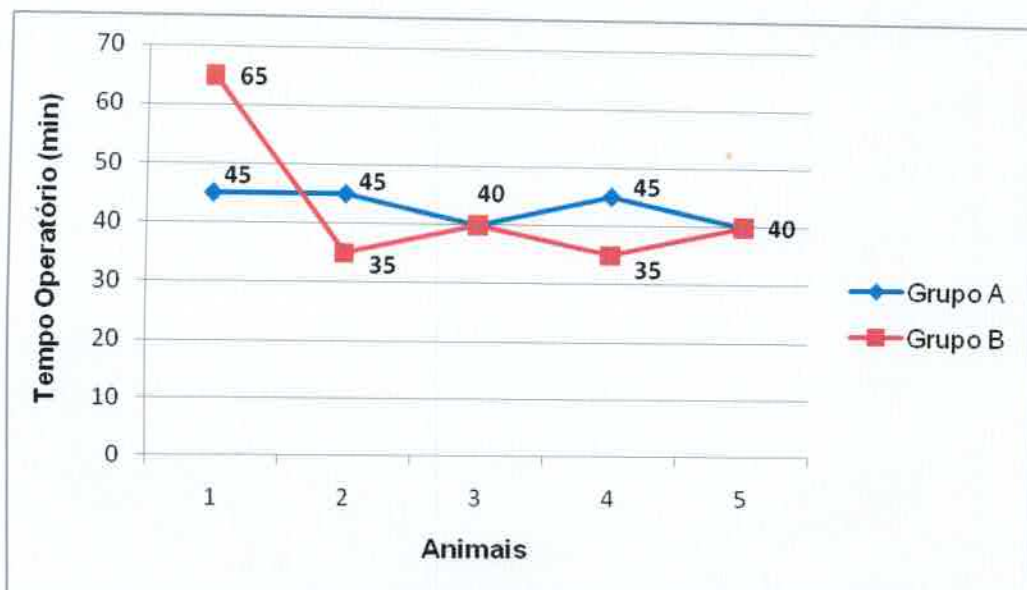


Figura 9 – Tempos operatórios dos animais dos grupos A e B, em minutos.

5.4 DA ÁREA VIÁVEL

5.4.1 De acordo com o peso dos moldes das áreas dos retalhos

De acordo com os valores dos pesos totais e viáveis dos moldes de cada animal (Figuras 10,11) a média da viabilidade do grupo A foi de 163,6mg e do grupo B de 159,8mg. A partir dos percentuais de viabilidade do retalho de cada animal dos dois grupos (Figura 12) obteve-se uma média de 65,27% no grupo A e de 62,39% no grupo B ($p=0,754$) (Tabela 3).

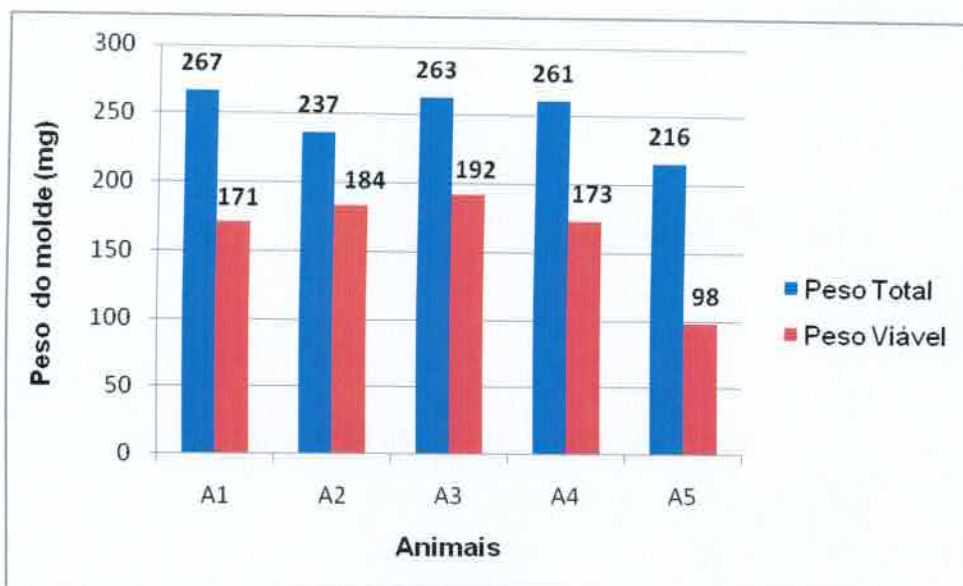


Figura 10 – Peso, em miligramas, dos moldes correspondentes às áreas totais e viáveis dos retalhos do grupo A.

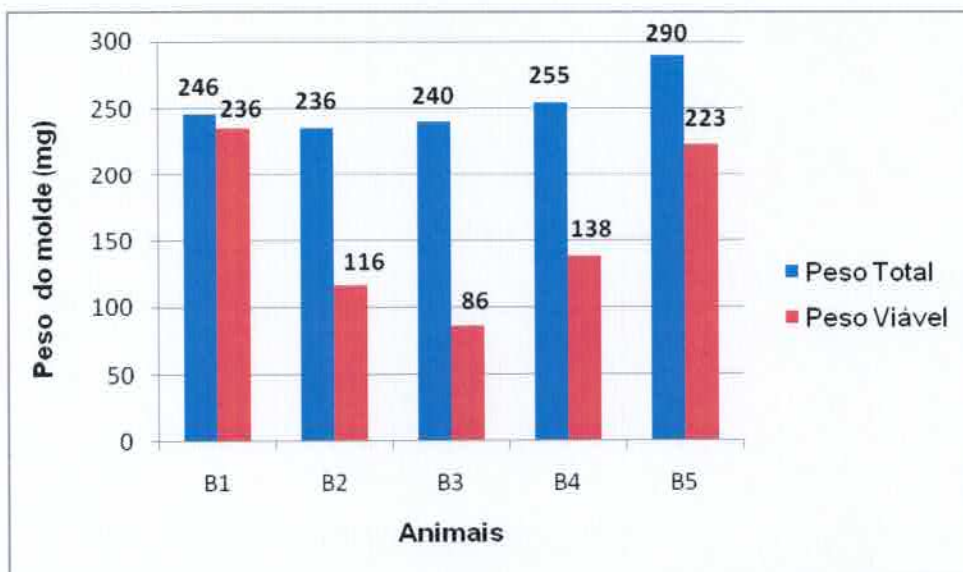


Figura 11 – Peso, em miligramas, dos moldes correspondentes às áreas totais e viáveis dos retalhos do grupo B.

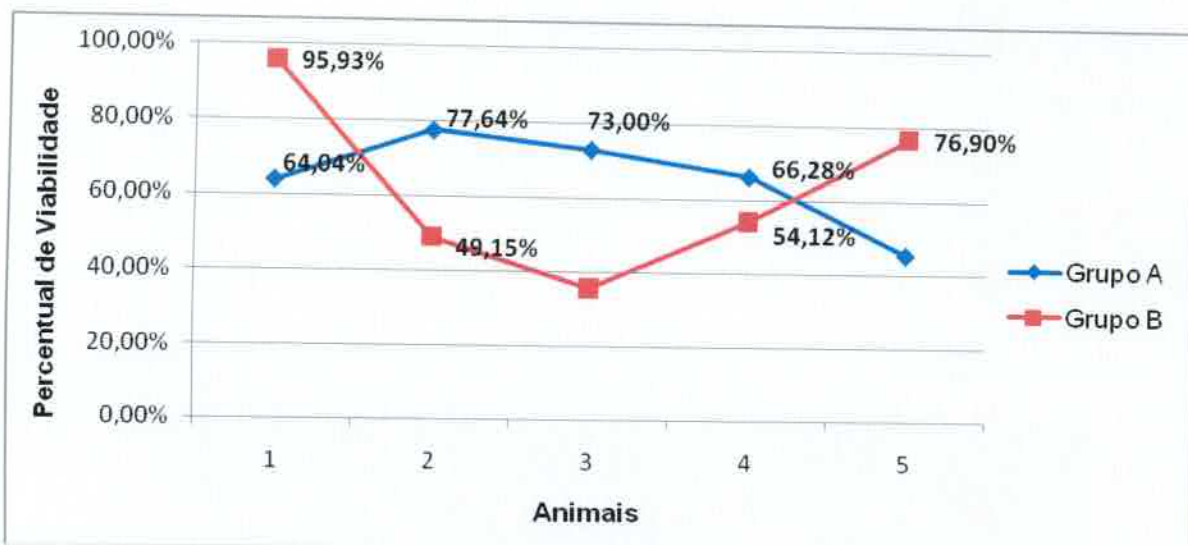


Figura 12 – Comparação dos percentuais de viabilidade dos retalhos dos grupos A e B, de acordo com a variável *peso do retalho*.

Tabela 3 – Dados descritivos do percentual de viabilidade dos retalhos nos grupos A e B, segundo a variável peso do molde.

Grupo	Percentual de Viabilidade (variável peso do molde)	
	Média	Desvio Padrão
A	65,27%	12,36
B	62,39%	23,90

Teste-T $p=0,754$

5.4.2 De acordo com a área calculada pelo programa ImageJ

De acordo com os valores das áreas totais e viáveis de cada animal (Figuras 13,14), a média da viabilidade do grupo A foi de $31,3\text{cm}^2$ e do grupo B foi de $29,71\text{cm}^2$. A partir dos percentuais de viabilidade do retalho de cada animal dos dois grupos (Figura 15) obteve-se uma média de 66,87% no grupo A e de 63,16% no grupo B ($p=0,754$) (Tabela 4).

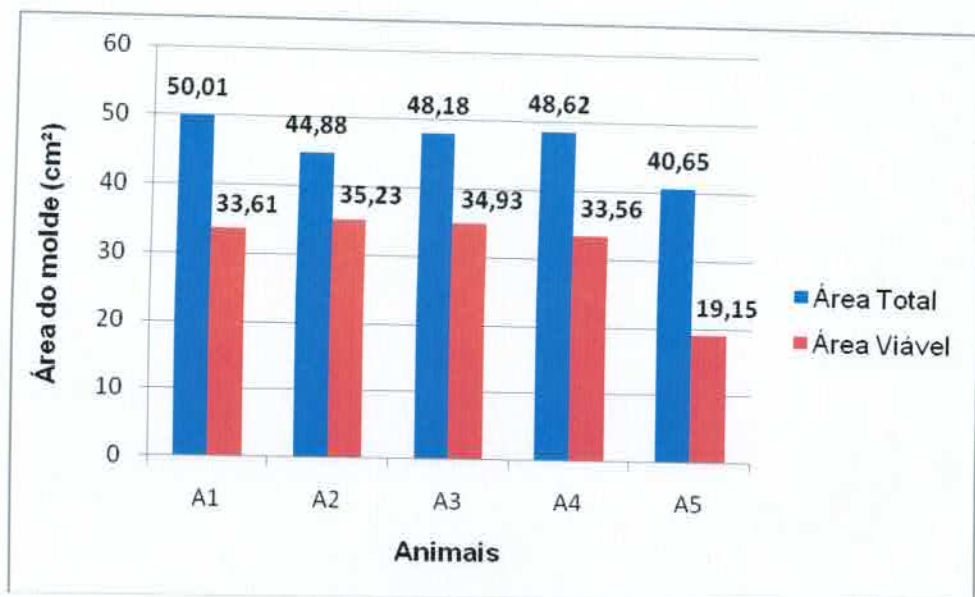


Figura 13 – Áreas totais e viáveis, em centímetros quadrados, dos moldes correspondentes aos retalhos do grupo A.

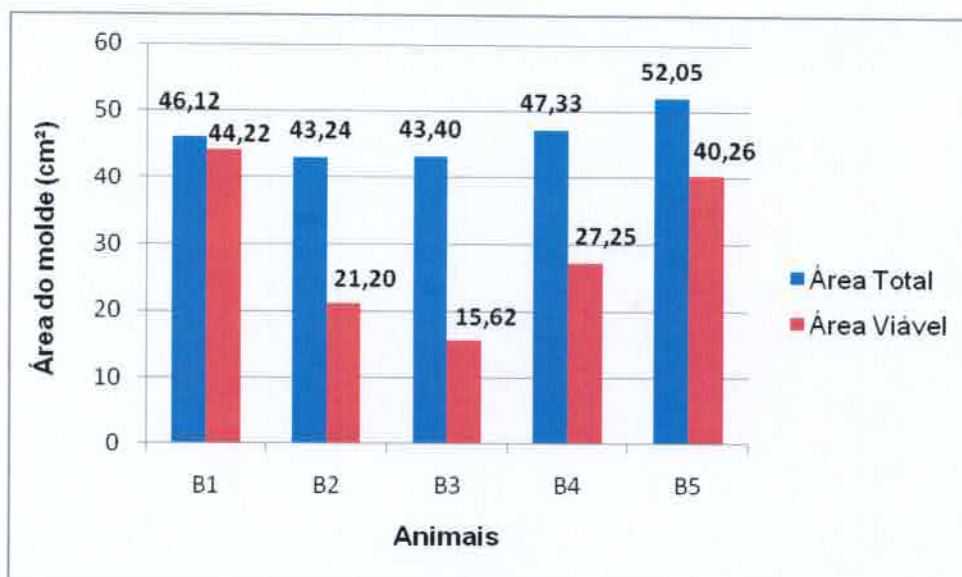


Figura 14 – Áreas totais e viáveis, em centímetros quadrados, dos moldes correspondentes aos retalhos do grupo B.

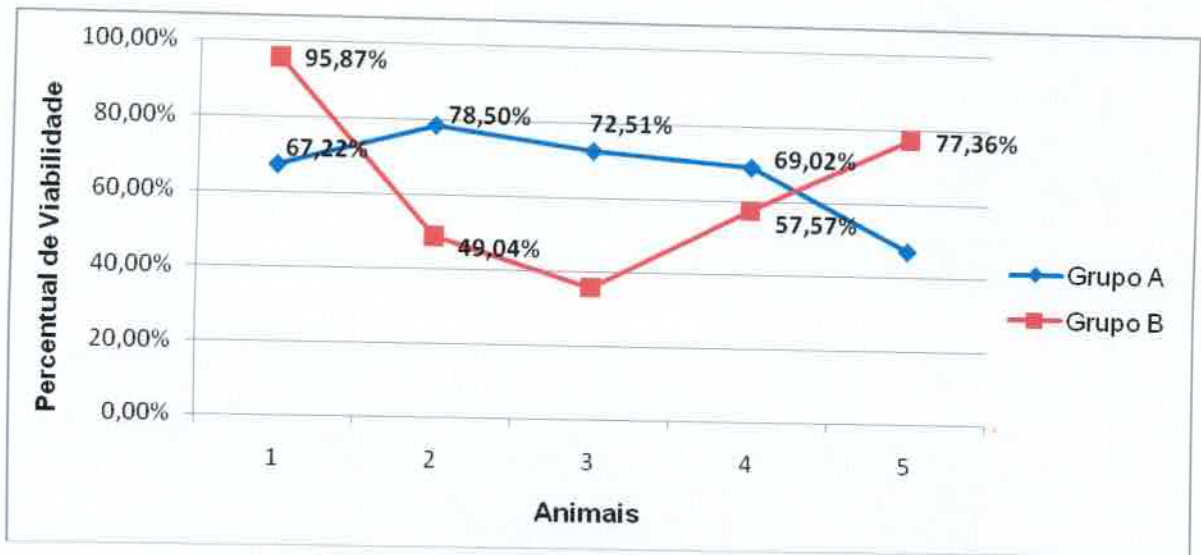


Figura 15 – Comparação dos percentuais de viabilidade dos retalhos dos grupos A e B, de acordo com a variável área.

Tabela 4 – Dados descritivos do percentual de viabilidade dos retalhos nos grupos A e B, segundo a variável área do molde.

Grupo	Percentual de Viabilidade (variável área do molde)	
	Média	Desvio Padrão
A	66,87%	11,86
B	63,16%	23,67

Teste-T p=0,754

6 DISCUSSÃO

No presente estudo foi utilizado o modelo experimental de McFarlane et al,¹⁵ que preconiza um retalho cutâneo randômico em ratos com 04 cm de largura por 10 cm de comprimento, sem vasos predominantes no retalho. Sobre a superfície cruenta, foi interposta uma barreira plástica para impedir a formação de neovasos provenientes do leito doador. Desse modo a irrigação arterial do retalho provém exclusivamente da região cranial da base do pedículo. Esse modelo experimental é amplamente utilizado para estudo de diferentes recursos terapêuticos. Alguns trabalhos relataram aumento da viabilidade do retalho cutâneo randômico com a aplicação de laserterapia de baixa frequência,¹² administração tópica do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina por ionoforese.²⁹ Outras pesquisas não evidenciaram o aumento da área de viabilidade deste retalho como, por exemplo, a administração tópica de cloridrato de hidralazina por ionoforese³⁰ e a indução de diabetes mellitus em ratos.³¹

A carboxiterapia provoca a vasodilatação local, aumento do fluxo vascular e da pressão parcial de oxigênio (pO_2), bem como, redução da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio. Desta forma, melhora a micro-circulação e a oxigenação dos tecidos (potencialização do efeito Bohr).^{6,7,8} Assim, esperava-se que a carboxiterapia pudesse melhorar a viabilidade do retalho cutâneo, o que não ocorreu neste trabalho.

Não foram encontrados na literatura trabalhos experimentais relacionados a aplicação da carboxiterapia. Dessa forma, foi utilizado parte do protocolo (número de sessões e intervalo entre estas) preconizado por Paulo et al²⁸ para a oxigenoterapia hiperbárica.

Outro aspecto a ser considerado é o tamanho da amostra, uma vez que neste estudo foram utilizados apenas 05 animais em cada grupo, o que dificulta a interpretação estatística dos resultados e sua real contribuição prática.

A determinação da área viável feita pelo gabarito de papel está amplamente difundida nos trabalhos que visam analisar a viabilidade do retalho cutâneo randômico,^{23,29,30,31} descrito inicialmente por Sasaki e Pang.³²

Em diversas publicações se adotou como período de análise o 7º dia de pós-operatório.^{23,29,30,31} De acordo com McFarlane,¹⁵ neste período já seria possível realizar a diferenciação entre a área com necrose e a área viável. A área viável seria representada pela região macia e quente e a área necrótica pela região rígida, escurecida e fria, conforme encontradas neste trabalho. Júnior et al³⁰ e Carvalho et al³¹ realizaram suas análises de acordo com McFarlane.¹⁵ A área de necrose do grupo controle relatada por Carvalho foi inferior a encontrada nesta pesquisa, enquanto que Júnior descreveu resultados semelhantes. Portanto, a técnica cirúrgica utilizada neste estudo não interferiu na viabilidade das áreas dos retalhos dos animais, quando comparada aos trabalhos anteriores.

A carboxiterapia não provocou hiperemia. O CO₂, que provocava a distensão do retalho dos animais, era rapidamente absorvido, incluindo os 03 primeiros dias de pós-operatório, quando foram feitas duas sessões.

Embora tenha sido detectada uma média de percentual de viabilidade pouco maior no grupo A (controle) em relação ao grupo B (carboxiterapia) não houve diferença estatística ($p=0,754$), através do uso do teste-T, tanto para a variável peso, quanto para a variável área. Portanto, a área viável final dos retalhos dos animais, independente do grupo, foi semelhante, o que mostra que o protocolo utilizado para carboxiterapia neste estudo não aumentou a área de viabilidade do retalho.

Outros estudos estão sendo planejados com a utilização de diferentes protocolos, incluindo os locais para punção e injeção de CO₂, bem com a época da carboxiterapia.

7 CONCLUSÃO

A carboxiterapia, conforme utilizada neste estudo, não aumentou a viabilidade dos retalhos cutâneos randômicos de ratos. Porém, não implicou no aumento da área de necrose final desses segmentos cutâneos.

Mais estudos devem ser realizados na tentativa de caracterizar a real atuação da carboxiterapia sobre a viabilidade dos retalhos cutâneos randômicos.

↑
Discussão

8 REFERÊNCIAS

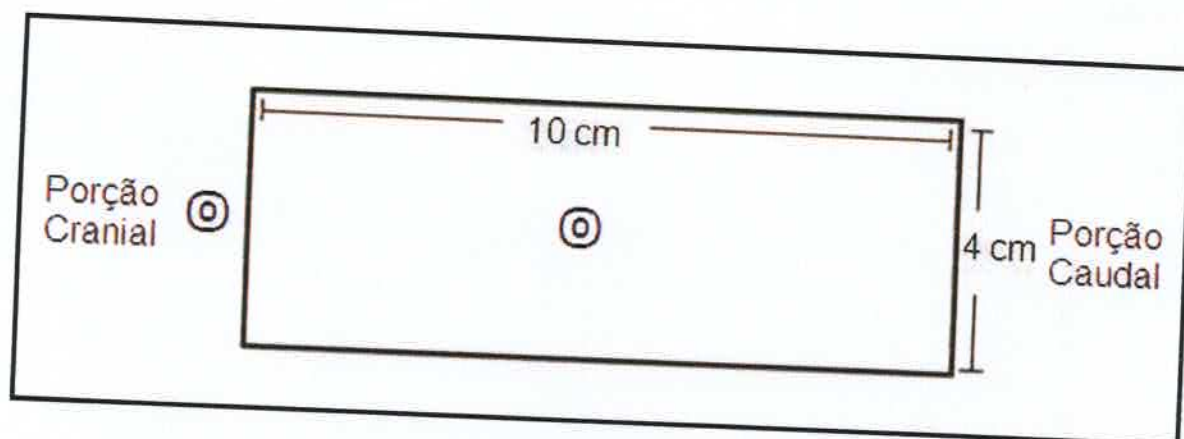
1. FERREIRA, L.M. **Retalhos Cutâneos**. In: FERREIRA LM. Manual de Cirurgia Plástica. 1. ed. São Paulo: Atheneu; 1995. p. 45-62.
2. KUBOTA, J. Effects of diode laser therapy on blood flow in axial pattern flaps in the rats model. **Lasers Med Sci**, v.17, p. 146-53, 2002.
3. KERRIGAN, C.L. Skin Flap Failure: Pathophysiology. **Plast Reconstr Surg**, v 72, p 766-77, 1983
4. LIEBANO, R.E.; FERREIRA, L.M.; NETO, M.S. The effect of trans-cutaneous electrical nerve stimulation on the viability of random skin flaps in rats. **Cand J Plast Surg**, v. 10, p. 151-4, 2002
5. KERRIGAN, C.L. Skin flap failure: pathophysiology. **Plast Reconstr Surg**. v. 72, p. 766-77.
6. MAKITA, S. et al. The Effects on Skin Blood Flow of Immersing the Ischemic Legs of Patients with Peripheral Arterial Disease into Artificially Carbonated Water. **Eur J Appl Physiol**. v 87, p. 337-42, 2002.
7. NISHIMURA, N. et al. Effects of repeated carbon dioxide-rich water bathing on core temperature, cutaneous blood flow and thermal sensation. **Springer-Verlag**. 2002.
8. ITO T, MOORE JI, KOSS MC. Topical Application of CO2 Increases Skin Blood Flow. **J. Invest Dermatol**. V. 93, p. 259-62, 1989.
9. BRANDI, C. et al. Carbon Dioxide Therapy in the Treatment of Localized Adiposities: Clinical Study and Histopathological Correlations. **Aesth Plast Surg**. v. 25, p. 170-74, 2001.
10. BROCKOW, T. et al. Clinical Evidence of Subcutaneous CO2 Insufflations: A Systematic Review. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**. v. 6, p. 391-403, 2000.
11. BOSSINI, P.S. **Laser de baixa intensidade (670nm) na viabilidade do retalho cutâneo randômico em ratos**. 2007. 44 f. Dissertação (Pós-Graduação interunidades em Bioengenharia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2007.
12. KUBOTA, J. Effects of diode laser therapy on blood flow in axial pattern flaps in the rat model. **Laser Med. Sci.**, v17, p. 146-53, 2002.
13. BUNCKE, H.J. et al. The contributions of microvascular surgery to emergency hand surgery. **World J. Surg**. v. 15, p. 418-28, 1991.
14. LISTER, G.D.; JONES, N.F. **Free skin and composite flaps**. In Green's operative hand surgery. 5th ed. Philadelphia Churchill Livingstone; 2005. p. 1715-56.

15. McFARLANE, R.M.; DeYOUNG, G.; HENRY, R.A. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. **Plast Reconstr Surg.** v. 35, p. 177-82, 1965.
16. ZHENG, Y. et al. Mesenchymal stem cells transduced by vascular endothelial growth factor gene for ischemic random skin flaps. **Plast Reconstr Surg.** v. 121, p. 59-69, 2008.
17. KHAN, A. et al. Acute local subcutaneous VEGF165 injection for augmentation of skin flap viability: efficacy and mechanism. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** p.1219-29, 2004.
18. MITTERMAYR, R. et al. Sustained (rh) VEGF (165) release from a sprayed fibrin biomatrix induces angiogenesis, up-regulation of endogenous VEGF-R2, and reduces ischemic flap necrosis. **Wound Repair Regen.** v. 16, p 542-50, 2008.
19. GIUNTA, R.E. et al. AdVEGF165 gene transfer increases survival in overdimensioned skin flaps. **J Gene Med.** v. 7, p. 297-306, 2005.
20. GRIBBE, O. et al. Dexamethasone increases survival and attenuates induction of inducible nitric oxide synthase in experimental skin flaps. **Ann Plast Surg.** v. 42, p. 180-84, 1999.
21. KARGI, E. et al. Dual synergistic effect: the effect of dexamethasone plus carnitine on skin flap survival. **Ann Plast Surg.** v. 53, p. 488-91, 2004.
22. HOLM, C. et al. Intraoperative evaluation of skin-flap viability using laser-induced fluorescence of indocyanine green. **Br J Plast Surg.** v. 55, p. 635-44, 2002.
23. PRADO, R.P. et al. Experimental model for low level laser therapy on ischemic random skin flap in rats. **Acta Cir Bras.** v. 21, 2006.
24. ASAI, S.; FUKUTA, K.; TORII, S. Topical administration of prostaglandin E1 with iontophoresis for skin flap viability. **Ann Plast Surg.** v. 38, p. 514-17, 1997.
25. JUNIOR, I.E. et al. Histamine iontophoresis on the viability of random skin flap in rats. **Acta Cir Bras.** V. 24, 2009.
26. Paulo ICAL. **Aspectos morfológicos e funcionais de auto-implantes esplênicos e do pólo inferior do baço de ratos. Efeito da Oxigenoterapia Hiperbárica.** 2008. Dissertação (Doutorado em Cirurgia) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2008. Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, 2008.
27. PENHA, M. R. Equipamento de carboxiterapia portátil para pesquisa em ratos.
28. PAULO, D.N.S. et al. Viabilidade do baço após a ligadura dos vasos esplênicos: efeito do tratamento com oxigênio hiperbárico. **Rev Assoc Med Bras.** v. 51, p. 46-50, 2005.
- 29 JUNIOR, I.E.; FERREIRA, L.M.; LIEBANO, R.E. Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina por iontoforese na viabilidade de retalho cutâneo randômico em rato. **Acta Cirúrgica Brasileira.** v. 19, p. 62, 2004.

30. JUNIOR, I.E. et al. Administração tópica de cloridrato de hidralazina na viabilidade de retalho cutâneo randômico em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 20, p.164, 2005.
31. CARVALHO, E.N. et al. Viability of a random pattern dorsal skin flap, in diabetic rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 20. P 225, 2005.
32. SASAKI, G.H.; PANG, C.Y. Hemodynamics and viability of acute neurovascular island skin flap in rats. **Plast Reconstruc Surg**. v. 65, p. 152-58, 1980.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Delimitação do retalho e pontos de aplicação da carboxiterapia



Esquema demonstrativo do comprimento (10 cm) e largura (04 cm) do retalho cutâneo. Porção cranial - pedículo do retalho. Porção caudal - porção do retalho que será seccionada e suturada no leito doador, bem como as margens laterais. Entre o retalho e o leito doador será interposto plástico para impedir a formação de vasos entre o retalho e a área cruenta. Símbolo em Alvo - os 02 locais do retalho onde serão realizadas as punções, distribuídos no centro e na porção cranial do retalho.

ANEXOS

ANEXO A PROTOCOLO DO COMITÊ DE ÉTICA

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 005/2009, relativo ao projeto intitulado "Efeitos da Carboxiterapia na Viabilidade do Retalho Cutâneo Randômico em Ratos", que tem responsabilidade de Danilo Nagib Salomão Paulo, está de acordo com os princípios Éticos da Experimentação Animal, Adotados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-EMESCAM), tendo sido aprovada na reunião ordinária de 18/06/2009. Este certificado expira-se em 18/06/2012.

We hereby certify that the Protocol nº 005/2009, related to the project entitled "Effect of the Carboxiterapia in the Viability of the Random Skin Flap in Rats", under the supervision of Danillo Nagib Salomão Paulo, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEUA-EMESCAM), and was approved in 18/06/2009


Isabel Cristina Andreatta Lemos Paulo
Coordenadora do CEUA-EMESCAM

