

Douglas Neumar Menon

Efeitos de heparina e oxigenação hiperbárica na  
redução de necrose em modelo animal para  
deslucamentos.

Dissertação apresentada junto à Faculdade de  
Ciências da Saúde da Universidade Federal da  
Grande Dourados para a obtenção do título de  
Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Marcio Eduardo de Barros

Dourados

2015

Douglas Neumar Menon

Estudo comparativo entre heparina e oxigenação  
hiperbárica na redução de necrose em modelo  
animal para deslucamentos.

Dissertação apresentada junto à Faculdade de  
Ciências da Saúde da Universidade Federal da  
Grande Dourados para a obtenção do título de  
Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Marcio Eduardo de Barros

Dourados

2015

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

M547e	Menon, Douglas Neumar. Efeitos de heparina e oxigenação hiperbárica na redução de necrose em modelo animal para deslucamentos. / Douglas Neumar Menon. – Dourados, MS : UFGD, 2015. 53f.  Orientador: Prof. Dr. Marcio Eduardo de Barros. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal da Grande Dourados.  1. Cirurgia plástica. 2. Ferimentos e lesões. 3. Deslucamentos. 4. Oxigenação hiperbárica. 5. Hepariana. I. Título.  CDD – 617.95
-------	---

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.**

**©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.**

Dedico este trabalho á minha família, em especial  
minhas filhas Milena e Poliana, pelas horas em que  
deixei de estar com vocês.

Agradeço ao professor Dr. Marcio Eduardo de Barros pela orientação e colaboração neste trabalho.

Agradeço à professora Dra. Cândida Kassuya pelos preciosos esclarecimentos.

Agradeço à Leticia Teixeira e à Natalha Paurosi, pela sua imensa contribuição na condução da pesquisa.

Agradeço também à Analia Gomes da Cruz, que em sua simplicidade carrega grande contribuição à produção científica em Dourados.

## SUMÁRIO

Lista de gráficos

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO:.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
DEFINIÇÃO.....	3
ETIOLOGIA.....	3
CLASSIFICAÇÃO.....	4
TRATAMENTO.....	5
MÉTODOS ALTERNATIVOS.....	7
HEPARINA.....	8
OXIGENAÇÃO HIPERBÁRICA.....	9
3. OBJETIVOS GERAIS:.....	13
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS: .....	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS: .....	14
ANEXO 1 - ARTIGO CIENTÍFICO:.....	25
ANEXO 2: Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais - UFGD.....	42
ANEXO 3: Tabelas de dados individualizados .....	43
ANEXO 4: Normas para publicação do J Plast Reconstr Aesthet Surg: .....	45

LISTA DE FIGURAS:

Figura 1: Foto da marcação da área de descolamento do retalho	38
Figura 2: Foto do sítio cirúrgico no 7º dia pós operatório.	38
Figura 3 Foto da demarcação da área necrótica do retalho	39
Figura 4 Fotos comparando exemplos de cicatrização: A - animal tratado com oxigenação hiperbárica; B – animal do grupo controle.	39

LISTA DE TABELAS:

Tabela 1: Comparação entre as áreas total e de necrose e da porcentagem de necrose.	41
Tabela 2: Áreas totais e necróticas dos retalhos, com porcentagem de necrose individuais dos animais do grupo controle	43
Tabela 3: Áreas totais e necróticas dos retalhos, com porcentagem de necrose individuais dos animais do grupo do alopurinol	43
Tabela 4: Áreas totais e necróticas dos retalhos, com porcentagem de necrose individuais dos animais do grupo da heparina.	44
Tabela 5: Áreas totais e necróticas dos retalhos, com porcentagem de necrose individuais dos animais do grupo da oxigenação hiperbárica.	44

## RESUMO:

**INTRODUÇÃO:** Os deslucamentos são uma categoria específica de ferimentos, onde ocorre grande desvascularização dos tecidos, que ficam por sua vez sujeitos a lesão isquêmica, incorrendo em grandes índices de morbimortalidade. **OBJETIVOS:** Avaliar o efeito do tratamento com heparina tópica e oxigenação hiperbárica em modelo animal de deslucamentos. **MÉTODOS:** Foram utilizados ratos adultos machos *Wistar*, que foram submetidos a indução de deslucamento do membro inferior direito, estendendo-se desde a raiz da coxa até a articulação do tornozelo, sob anestesia geral com cetamina + xilazina. Os animais foram distribuídos em quatro grupos: Controle; Heparina - heparina spray tópica diariamente sobre a área de lesão; Oxigenação Hiperbárica - sessões diárias de 30 minutos em câmara com O<sub>2</sub> a 100 % e 2 ATA de pressão; e Controle Positivo - 45 mg/kg intraperitoneal de alopurinol, dose única. Todos os animais receberam antibioticoprofilaxia com penicilina benzatina IM 40.000 UI/kg e analgesia com dipirona adicionada à água do bebedouro (2mg/mL). No sétimo dia de pós operatório os animais foram submetidos a eutanásia e os retalhos cutâneos foram retirados e realizadas medidas das áreas total e necrótica, bem como o cálculo da porcentagem da área de necrose. **RESULTADOS:** A média da porcentagem de necrose do grupo controle foi de 56,03 %; no grupo controle positivo 51,36 % ( $p=0,2$ ); no grupo da heparina 42,10 % ( $p\leq 0,05$ ); e no grupo da oxigenação hiperbárica 31,58% ( $p\leq 0,01$ ). **DISCUSSÃO:** Houve redução significativa da porcentagem de necrose nos animais tratados com oxigenação hiperbárica e também nos animais do grupo da heparina. O modelo utilizado neste estudo deve ser entendido também como um modelo de retalhos

cutâneos de vascularização duvidosa ou deficiente, sugerindo a possibilidade de novos estudos dessas modalidades terapêuticas em diversas situações da Cirurgia Plástica, e outros tipos de patologias que envolvam isquemia tecidual, como infarto agudo do miocárdio e isquemia coronariana, acidente vascular encefálico e insuficiência vascular de membros.

**CONCLUSÃO:** A oxigenação hiperbárica, assim como a aplicação tópica de heparina mostraram-se eficazes na redução do percentual de área de necrose no modelo estudado.

**Palavras-chave:** Cirurgia Plástica; ferimentos e lesões; deslucamentos; oxigenação hiperbárica; heparina.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Degloving injuries are an specific category of wound, when occurs devascularization of tissue and ischemic injury, with high levels of morbidity and mortality. **OBJECTIVES:** To evaluate the efficacy of hyperbaric oxygen therapy and use of topic and intralesional heparin in a experimental model of degloving injuries. **METHODS:** There was used adult male *Wistar* rats, submitted to degloving injury of right lower limb, from the base of the thigh to the ankle articulation, under general anesthesia with ketamine plus xylazine. Animals was divided into four groups: Control; Heparin – topic spray heparin daily over the injury site; Hyperbaric Oxigenation – daily 30 minutes sessions in chamber with 100% O<sub>2</sub> and 2 ATA pressure and Positive Control – 45 mg/kg intraperitoneal alopurinol, single dose. All the animals received prophylactic antibiotic with benzathine penicillin 40.000 UI/kg and analgesia with dipyrone added to the water (2 mg/mL). On the seventh postoperative day, animals were submitted to euthanasia and skin flaps was taken out and total area and necrotic area was measured and necrotic percentage was calculated. **RESULTS:** Necrotic percentage average in control group was 56.03%; in positive control group was 51.36%,  $p=0.2$ ; in heparin group 42.10%  $p\leq 0.05$ ; and in hyperbaric oxygen group 31.58%  $p\leq 0.01$ . **DISCUSSION:** There was significant reduction of necrosis percentage in animals treated with hyperbaric oxygenation and also in the animals of heparin group. The model used on this study must be understood as also a model of doubt or debil vascularization skin flaps suggesting possibility of new studies of this therapeutic modalities in other situations of Plastic Surgery and other kind of diseases involving

tissue ischemia, as heart attack, coronarian ischemia, stroke and limbs vascular insufficiency. CONCLUSION: Both heparin topic administration and hyperbaric oxygenation shows efficacy in reduction of necrotic area percentage in this model.

Keywords: Plastic Surgery, wounds and injuries, degloving, hyperbaric oxygenation, heparin.

## 1. INTRODUÇÃO:

Os deslucamentos são uma categoria específica de traumatismos de partes moles, ocasionados normalmente por mecanismo de prensão e rotação<sup>1,2</sup>, por exemplo, no caso de atropelamentos, em que um membro, superior ou inferior pode ficar prensado sob uma roda do veículo, o movimento de rotação causa um descolamento da pele e do tecido celular subcutâneo, habitualmente no plano fascial. Por este motivo, este tipo de lesão é também, frequentemente mencionado como ferimento descolante<sup>2</sup>.

Os deslucamentos normalmente originam retalhos de vascularização incerta, situação que gera uma dúvida terapêutica entre preservar ou não o segmento de pele descolada, tornando o tratamento complexo e de difícil de padronização. Dessa forma, a utilização de terapia que melhore a vascularização ou a perfusão nestes tecidos é interessante, ao passo que pode proporcionar melhores resultados, associados à redução das sequelas<sup>3</sup>. A literatura científica apresenta vários trabalhos com evidências de melhora na cicatrização de feridas<sup>4,5</sup>, porém os estudos relacionando estas modalidades terapêuticas com melhoras em deslucamentos são escassos. Além disso, os dados atuais são insuficientes para encorajar estudos com humanos, tornando imperativos os experimentos com modelos animais.

A heparina possui, além do seu efeito anticoagulante, efeitos antiinflamatório e vasodilatador e a oxigenação hiperbárica melhora a perfusão tecidual e a pressão parcial de oxigênio nos tecidos, tornando assim ambas as modalidades promissoras no tratamento dos deslucamentos. Terapias que melhorem a irrigação sanguínea ou a

perfusão de tecidos periféricos podem ter aplicação ampla em Cirurgia Plástica, além dos casos específicos de deslucamentos, podendo ser considerada a sua utilização em quaisquer situações em que seja desejável uma melhora na vascularização dos tecidos envolvidos, como em casos de retalhos cutâneos ao acaso, enxertos cutâneos, feridas crônicas, úlceras venosas ou isquêmicas e úlceras de pressão<sup>6</sup>. Podemos, ainda, extrapolar as possibilidades teóricas dessas modalidades para outras áreas da Medicina, em situações de isquemia de tecidos, como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico e insuficiência vascular de membros<sup>7</sup>. Assim, propomos avaliar o efeito de heparina e oxigenação hiperbárica em modelo animal de deslucamentos, afim da busca de novas formas de tratamento para esse tipo de lesão.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA:**

### **DEFINIÇÃO:**

Os deslucamentos são lesões em que há desprendimento do tegumento dos tecidos subjacentes. O plano de clivagem mais comum é entre a fáscia e o tecido celular subcutâneo, porém pode haver descolamento nos planos muscular, periostal, subperiostal ou descolamentos em múltiplos planos, sendo esses últimos casos normalmente de alta complexidade e morbimortalidade<sup>3</sup>. O sítio mais comum dos deslucamentos são os membros, especialmente os inferiores, porém podem ocorrer em outras regiões do corpo, como tronco<sup>8,9</sup> e região cefálica<sup>10</sup>. Não há estatísticas precisas sobre este tipo de ferimentos no Brasil, porém dados do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde do ano de 2012, referentes a internações por lesões de membros inferiores decorrentes de acidentes de trânsito revelam um número de 179.329 internações, com gasto aproximado de 230 milhões de reais<sup>11</sup>.

Os deslucamentos dos membros habitualmente são acompanhados de trauma musculoesquelético e não raramente são também associados a politraumatismos de outros segmentos do corpo, como traumatismo crânio-encefálico, trauma abdominal e trauma torácico<sup>8</sup>.

### **ETIOLOGIA**

Existem várias causas relatadas na literatura para os deslucamentos, sendo os acidentes de trânsito os mais frequentes<sup>2,12-17</sup>, porém outras causas são também descritas, como acidentes industriais<sup>13,18-22</sup> e acidentes com máquinas agrícolas<sup>2,8,16,23</sup>. Alguns casos aberrantes também são descritos, como o de uma paciente que caiu enquanto embarcava em um trem e teve um grande deslucamento da perna e pé esquerdos<sup>24</sup> e outro, vítima de um acidente com rotor de helicóptero<sup>25</sup>.

### CLASSIFICAÇÃO

Alguns autores propuseram sistemas de classificação para os deslucamentos: Hidalgo<sup>26</sup> classificou estas feridas em três grupos, sendo o primeiro grupo, das lesões típicas, com solução de continuidade da pele associada ao ferimento descolante. O segundo grupo é constituído pelas lesões descolantes fechadas, enquanto que o terceiro grupo são as avulsões cutâneas, ou feridas com perda de substância.

Outro sistema de classificação foi proposto por Arnez em seu trabalho<sup>2</sup> em que considerou quatro padrões de deslucamentos, a saber: padrão 1 – deslucamento limitado com abrasão ou avulsão. Neste padrão encaixam-se as lesões decorrentes de forças de abrasão, com pequeno descolamento da pele. O padrão 2 refere-se aos deslucamentos não circunferenciais, onde normalmente, a pele descolada está preservada, ou houve pouca perda de substância. Normalmente essas lesões têm um plano de clivagem bem determinado, usualmente entre a fáscia profunda e o tecido celular subcutâneo. O padrão 3 inclui os deslucamentos circunferenciais em plano único que, assim como as lesões do tipo 2 têm seu plano de clivagem usualmente entre a fáscia profunda e o tecido celular subcutâneo, podendo haver lesões abertas ou fechadas (com ou sem

solução de continuidade cutânea). O padrão 4 diz respeito aos deslucamentos circunferenciais em múltiplos planos, casos em que ocorre, além do deslucamento cutâneo, descolamentos entre as estruturas musculares ou no plano músculo-periosteal. Evidentemente esse último padrão representa os traumatismos com maior quantidade de energia aplicada.

Existe uma categoria específica de deslucamentos fechados, em que a pele é descolada da fáscia devido a coleções líquidas, como hematomas, seromas ou material de esteatonecrose<sup>27</sup> e recebe o epônimo de Síndrome ou Lesão de Morel-Lavallée<sup>28</sup>. Geralmente a Síndrome de Morel-Lavallée decorre de um trauma tangencial de alta energia, sobre tecidos ricamente vascularizados<sup>29-31</sup>, mas também pode ser devida a lesões à distância com extravasamento seroso e/ou sanguíneo levando ao descolamento dos tecidos<sup>32-34</sup>.

## TRATAMENTO

Várias modalidades de tratamento são citadas<sup>35</sup>, como por exemplo, fechamento primário<sup>12</sup>, retirada da pele descolada e utilização da mesma como enxerto cutâneo<sup>15</sup>, utilização de matrizes dérmicas<sup>20,24,36</sup>, curativos a vácuo<sup>21,37</sup>, confecção de retalhos locais<sup>38</sup> ou à distância<sup>39</sup>, retalhos microcirúrgicos e até tratamento conservador, indicado principalmente em casos de deslucamentos fechados<sup>33</sup>. No entanto, o tratamento mais comumente realizado para este tipo de lesão é a remoção imediata da pele descolada, seguida da retirada do tecido celular subcutâneo e reposicionamento da pele tratada, como um enxerto cutâneo<sup>40,41</sup>. Também pode ser realizada a criopreservação desta pele

para utilização posteriormente ao trauma, após melhor estabilização do quadro clínico do paciente<sup>42-44</sup>.

A grande dúvida na condução desses casos recai sobre a decisão de retirar ou preservar a pele descolada. Nos casos onde é possível realizar um tratamento mais conservador, realizando apenas a sutura primária, obtém-se uma cobertura cutânea mais eficiente, tanto do ponto de vista estético quanto funcional, porém, a manutenção de um retalho isquêmico irá ocasionar necrose da pele e conseqüentemente a perda de uma importante área doadora de enxerto, gerando a necessidade de captação de pele em outras áreas, adicionando morbidade a um paciente já gravemente comprometido. Por outro lado, uma abordagem agressiva, com desbridamento precoce, quando mal indicada impõe uma seqüela desnecessária ao paciente<sup>3</sup>. Somando-se isso ao fato de que é muito difícil definir com precisão quais áreas estão desvascularizadas e quais estão viáveis, podemos concluir que o tratamento ideal dificilmente é alcançado<sup>45, 46</sup>.

A maioria dos trabalhos com deslucamentos em humanos constitui-se de estudos transversais descritivos<sup>35, 41, 42, 47-49</sup> ou mesmo relatos de casos<sup>9, 15, 21, 33, 50-52</sup>. A limitação à realização de estudos mais elaborados sobre o tema provavelmente reside na diversidade de apresentação deste tipo de lesão, ocasionando dificuldade na padronização das condutas. Dessa maneira, Milcheski e colaboradores, desenvolveram um modelo experimental com ratos para estudos com esse tipo de lesão<sup>53</sup>. Neste estudo, os autores promoveram um ferimento descolante de todo o membro inferior direito dos ratos, originando um retalho de fluxo distal, suscetível a isquemia sendo, portanto, útil na avaliação de medidas para tratamento dos deslucamentos. Ainda neste estudo os autores testaram o efeito protetivo da pentoxifilina e do alopurinol nestes ferimentos. O

emprego de pentoxifilina justificou-se devido ao seu efeito hemorreológico, aumentando a plasticidade da membrana eritrocitária e conseqüentemente melhorando a perfusão por capilares possivelmente danificados, enquanto que o alopurinol foi empregado com finalidade antioxidante. Após a indução do ferimento, os ratos receberam uma dose única por via intraperitoneal destes medicamentos e a área de necrose em relação à área total do retalho foi comparada com o grupo controle no sétimo dia pós operatório. Ambos os agentes evidenciaram diminuição relativa da área de necrose, demonstrando efeito protetivo, com melhor desempenho para o alopurinol. Outro modelo experimental é apresentado no trabalho de Oztuna e colaboradores, onde também foi atestado o efeito protetivo da pentoxifilina, neste estudo, os autores criaram um ferimento descolante circunferencial na cauda de ratos adultos, um dos grupos recebeu pentoxifilina por via intraperitoneal por dez dias, outro grupo recebeu apenas solução fisiológica pela mesma via, enquanto o grupo controle não recebeu administração de qualquer agente, os resultados deste estudo foram ainda mais contundentes em favor da pentoxifilina, mostrando ausência de necrose cutânea nesse grupo, a análise histológica evidenciou epiderme de espessura normal e ausência de inflamação no grupo da pentoxifilina, enquanto nos demais grupos foi observada perda da epiderme e da derme superficial, além de proliferação capilar<sup>54</sup>.

## MÉTODOS ALTERNATIVOS

A utilização de algum agente com propriedades angiogênicas como terapia ou adjuvante no tratamento dos deslucamentos parece ser uma alternativa promissora, visto que várias substâncias já demonstraram atividade angiogênica em outras situações, como por exemplo, no tratamento de feridas crônicas<sup>55-57</sup>. A atividade angiogênica *in*

*vitro* da *Aloe vera* foi demonstrada por Myoung-Jin e colaboradores, que observaram proliferação de células endoteliais de artéria pulmonar de bezerros, bem como tubulização das mesmas através da matriz colágena utilizada no estudo<sup>55</sup>. Esse mesmo tipo de efeito foi observado por Eun-Joung em estudo de um composto purificado do extrato de *Aloe vera*, o  $\beta$ -sitosterol, que demonstrou atividade angiogênica na membrana corioalantóide de embriões de galinha e em outros modelos animais<sup>56</sup>.

### **Heparina:**

A heparina vem sendo utilizada clinicamente em Cirurgia Plástica no tratamento de queimaduras de espessura parcial, através de aplicação tópica. Além disso, devido ao seu possível efeito anti-inflamatório também é utilizada para tratamento de cicatrizes patológicas, especialmente aquelas com distúrbios fibroproliferativos, como os quelóides e cicatrizes hipertróficas<sup>58</sup>. Estudos também demonstraram efeito angiogênico com o uso de heparina tópica aplicada em retalhos randômicos em ratos<sup>59</sup> e melhora na cicatrização de úlceras venosas crônicas<sup>60</sup>. A associação destas propriedades angiogênicas, anti-inflamatórias e cicatrizantes faz da heparina um composto potencialmente útil em deslucamentos.

Cebesoy e colaboradores realizaram um estudo com o uso de heparina intraperitoneal em modelo de deslucamentos em caudas de ratos, analisando a profundidade da necrose cutânea, de acordo com o índice NPUAP (*National Pressure Ulcer Advisory Panel*), demonstrando redução da espessura de necrose da pele com o uso, tanto de heparina não fracionada quanto de heparina de baixo peso molecular em comparação ao uso de solução salina. Os autores atribuíram esta melhora à prevenção

de formação de microtrombos durante o processo de neovascularização dos retalhos, no entanto essa hipótese não foi objetivamente estudada<sup>61</sup>.

Estudo semelhante analisou os efeitos de enoxaparina subcutânea e rivaroxaban, um agente antitrombótico de uso oral, comparados à aplicação subcutânea de solução salina, utilizando o mesmo modelo animal. Ambos os agentes apresentaram melhora clínica da cicatrização, diminuição da área de necrose e diminuição do estágio histopatológico de necrose<sup>62</sup>.

A eficácia da heparina no tratamento de outros tipos de lesão também vem sendo testada, como no estudo de Say e colaboradores que avaliaram o efeito de diferentes compostos derivados de heparina na melhora da resolução de fraturas em ratos, sendo testadas enoxaparina, nadroparina, dalteparina e fondaparinux, todos administrados por via intraperitoneal. Os autores constataram melhora da consolidação das fraturas com o uso de fondaparinux, efeito não observado com os outros agentes<sup>63</sup>.

### **Oxigenação hiperbárica:**

Outra modalidade terapêutica normalmente aplicada no tratamento de feridas complicadas é a oxigenação hiperbárica<sup>64</sup> que consiste na exposição do paciente a um ambiente com concentração de oxigênio de 100% sob pressão de 2 ATA (atmosfera absoluta)<sup>64</sup>. Na prática clínica a oxigenação hiperbárica é normalmente utilizada no manejo de feridas crônicas e/ou feridas complicadas por infecção ou necrose<sup>65</sup>, embora pesquisas tenham estudado a aplicação desta modalidade terapêutica em outras situações em que seja desejável um aumento da concentração tecidual de oxigênio, como em trauma muscular<sup>66</sup>, fraturas<sup>67</sup>, lesões nervosas<sup>68</sup>, anemia<sup>69</sup> e trauma

raquimedular<sup>70</sup>. O efeito da oxigenação hiperbárica em modelos animais de deslucamento (em caudas de ratos) foi testado por Demirtas e colaboradores, com resultados positivos<sup>71</sup> e existem descrições de modelos de câmaras hiperbáricas para uso específico em pesquisa com animais<sup>72</sup>.

Um artigo de revisão, produzido por Berner e colaboradores cita diversos efeitos positivos da oxigenação hiperbárica no tratamento de feridas crônicas e agudas, como neoangiogênese, aumento da síntese de colágeno, aumento da migração de células tronco e melhora da resposta imunológica local, além de melhora global da cicatrização<sup>73</sup>.

Há relatos também de uso da terapia hiperbárica em patologias ortopédicas, como no estudo conduzido por Koren e colaboradores onde relataram uma melhora de 88% dos casos de pacientes com necrose da cabeça do fêmur em estágios I e II<sup>74</sup>. Também há citação da oxigenação hiperbárica para tratamento de lesões musculares de graus mais avançados no artigo produzido por Tiidus, onde coloca-se este tipo de terapia como opção promissora para o tratamento deste tipo de lesão<sup>75</sup>.

Rasmussen e colaboradores realizaram um estudo para avaliação dos efeitos da oxigenação hiperbárica no sistema nervoso central. Para tanto, avaliaram pacientes com queimaduras de primeiro grau em tratamento com oxigênio a 100% sob pressão de 2,4 ATA, comparando os mesmos pacientes quando expostos às condições ambientes de oxigênio (21% e 1 ATA de pressão). Os autores observaram que quando os pacientes estavam expostos à terapia hiperbárica, estes apresentavam diminuição das áreas de hiperalgesia secundárias, grandes responsáveis pelo estímulo doloroso nestes pacientes.

No entanto esse efeito somente foi observado nos pacientes que foram submetidos inicialmente às condições ambientais de oxigênio e posteriormente à oxigenação hiperbárica, não tendo havido melhora nos pacientes que realizaram terapia hiperbárica previamente<sup>76</sup>.

Outro exemplo de ação da oxigenação hiperbárica no sistema nervoso central foi relatado no estudo realizado por Geng e colaboradores, onde a terapia foi testada em lesões raquimedulares induzidas em ratos. Os autores observaram modificações do padrão inflamatório, com aumento de interleucinas 4 e 13 e diminuição de fator de necrose tumoral alfa e intérferon gama, além de mudança do padrão dos macrófagos, fatores que parecem ser benéficos na reparação de lesões do sistema nervoso central<sup>77</sup>.

Algumas ressalvas merecem ser feitas à utilização da oxigenação hiperbárica. Braks e colaboradores realizaram estudo para avaliar os efeitos da terapia hiperbárica em carcinomas de células escamosas induzidos em ratos, observando que houve aceleração do crescimento dos tumores, embora houve aumento da sobrevivência dos animais<sup>78</sup>. Outro estudo, conduzido por Plafki, enumera vários efeitos colaterais possivelmente imputáveis à terapia hiperbárica: barotrauma de orelha, seios da face, dentes e pulmões; toxicidade do oxigênio nos pulmões e sistema nervoso central e complicações oftalmológicas. No entanto em sua observação foram constatados poucos desses efeitos colaterais, sendo dor auricular o mais comum. Além disso não foram observadas sequelas permanentes. O autor conclui enaltecendo a importância da avaliação prévia do paciente para se excluir fatores de risco que possam provocar complicações com a oxigenação hiperbárica<sup>79</sup>.

Yan e colaboradores realizaram uma revisão, publicada em 2015, sobre diversos aspectos da oxigenação hiperbárica. Os autores citam 12 condições patológicas como indicações emergenciais, além de outras 48 indicações não emergenciais. Além disso, enumeram as contra indicações absolutas: pneumotórax e pneumomediastino não tratados, bolhas pulmonares, hemorragia ativa e tuberculose ativa com formações de cavernas ou hemoptise. As contra indicações relativas incluem: infecção grave das vias aéreas superiores, enfisema pulmonar severo, bronquiectasias, sinusite, bloqueios atrioventriculares, hipertensão arterial, bradicardia, tumores malignos não tratados, descolamentos de retina e gestantes no primeiro trimestre. Os autores ainda pormenorizam os diversos efeitos deste tipo de terapia, como: aumento da concentração e da pressão parcial de oxigênio sanguíneo, melhora da dispersão de oxigênio no sangue e da sua difusão nos tecidos, formação de circulação colateral, redução da apoptose celular, diminuição da inflamação, balanço dos radicais livres de oxigênio e ativação de células tronco<sup>80</sup>.

### **3. OBJETIVOS GERAIS:**

Pesquisar métodos alternativos eficientes na redução do percentual de necrose nos deslucamentos de membros inferiores

#### **3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

Averiguar a eficácia da utilização de heparina tópica e da oxigenação hiperbárica na redução do percentual de necrose dos retalhos em modelo animal de deslucamentos.

Realizar estudo morfológico dos retalhos cutâneos oriundos de deslucamentos induzidos em ratos após tratamento com heparina tópica e oxigenação hiperbárica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Zagrocki L, Ross A, Hicks A. Management of degloving injuries of the lower extremity: a case report of a forklift injury. *Foot Ankle Spec.* 2013;6(2):150-153.
2. Arnez ZM, Khan U, Tyler MP. Classification of soft-tissue degloving in limb trauma. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63(11):1865-1874.
3. Hierner R, Nast-Kolb D, Stoel AM, et al. Degloving injuries of the lower limb]. *Unfallchirurg.* 2009;112(1):55-62.
4. Parente LM, Lino Junior Rde S, Tresvenzol LM, et al. Wound Healing and Anti-Inflammatory Effect in Animal Models of *Calendula officinalis* L. Growing in Brazil. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012:1-7.
5. Yue PY, Wong DY, Ha WY, et al. Elucidation of the mechanisms underlying the angiogenic effects of ginsenoside Rg(1) in vivo and in vitro. *Angiogenesis.* 2005;8(3):205-221.
6. Cao Minh T, Xuan Hai D, Thi Ngoc P. Effects of intense pulsed light on tissue vascularity and wound healing: a study with mouse island skin flap model. *Plast Surg Int.* 2015:1-6.
7. Nishijima Y, Akamatsu Y, Weinstein PR, et al. Collaterals: Implications in cerebral ischemic diseases and therapeutic interventions. *Brain Res.* 2015 Special Issue.
8. Sekizawa A, Yanagawa Y, Nishi K, et al. A case of thoracic degloving injury with flail chest. *Am J Emerg Med.* 2011;29(7):84-843.
9. Jensen LT, Robertsen K, Landsfeldt US. Degloving injury of the thorax and abdomen. *Ugeskr Laeger.* 2007;169(10):928-937.
10. Khandelwal S, Wall J, Kaide C, et al. Case report: successful use of hyperbaric oxygen therapy for a complete scalp degloving injury. *Undersea Hyperb Med.* 2008;35(6):441-446.
11. DATASUS. Ministério da Saúde. Departamento de Informática do SUS; 2013 [cited 2013 27/09/2013].
12. de Korte N, Dwars BJ, van der Werff JF. Degloving injury of an extremity. Is primary closure obsolete? *J Trauma.* 2009; 67(3):E60-61.

13. Lin CT, Chen SG, Chen TM, et al. Free fasciocutaneous flaps for reconstruction of complete circumferential degloving injury of digits. *Microsurgery*. 2013; 33(3): 191-198.
14. Bragg S. Grade III degloving injury of the right leg. *J Emerg Nurs*. 2006; 32(2): 175.
15. Huemer GM, Schoeller T, Dunst KM, et al. Management of a traumatically avulsed skin-flap on the dorsum of the foot. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2004; 124(8): 559-621.
16. Wojcicki P, Wojtkiewicz W, Drozdowski P. Severe lower extremities degloving injuries--medical problems and treatment results. *Pol Przegl Chir*. 2011; 83(5): 276-358.
17. Milcheski DA, Ferreira MC, Nakamoto HA, et al. Degloving injuries of lower extremity--proposal of a treatment protocol. *Rev Col Bras Cir*. 2010; 37(3): 199-203.
18. Krishnamoorthy R, Karthikeyan G. Degloving injuries of the hand. *Indian J Plast Surg*. 2011; 44(2): 227-263.
19. Slattery P, Leung M, Slattery D. Microsurgical arterialization of degloving injuries of the upper limb. *J Hand Surg Am*. 2012; 37(4):825-856.
20. Azzena B, Amabile A, Tiengo C. Use of acellular dermal regeneration template in a complete finger degloving injury: case report. *J Hand Surg Am*. 2010; 35(12): 2057-317.
21. DeFranzo AJ, Marks MW, Argenta LC, et al. Vacuum-assisted closure for the treatment of degloving injuries. *Plast Reconstr Surg*. 1999; 104(7): 2145-2153.
22. 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(4): 363-368.
23. Cigna E, Maruccia M, Sorvillo V, et al. The use of negative pressure therapy and hyaluronic acid for the management of post-traumatic lower limb injury. *Int Wound J*. 2013; 10 (5): 534-542.
24. Greig A, Angel J, Jones N, et al. The use of Integra with a sensate fasciocutaneous pedicled flap for the salvage reconstruction of a below knee amputation after pedestrian vs train multi-planar degloving injury. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2010; 63(1): 38-40.

25. Nelson JM, Sawyer MA. Degloving injury from a helicopter rotor strike. *Mil Med.* 1995; 160 (12): 644-649.
26. Hidalgo DA. Lower extremity avulsion injuries. *Clin Plast Surg.* 1986; 13(4) :701-711.
27. Tran W, Foran J, Wang M, et al. Postsurgical bleeding following treatment of a chronic Morel-Lavallee lesion. *Orthopedics.* 2008; 31(8): 814.
28. Anakwenze OA, Trivedi V, Goodman AM, et al. Concealed degloving injury (the Morel-Lavallee lesion) in childhood sports: a case report. *J Bone Joint Surg Am.* 2011; 93(24): 148.
29. Matava MJ, Ellis E, Shah NR, et al. Morel-lavallee lesion in a professional american football player. *Am J Orthop (Belle Mead NJ).* 2010; 39(3): 144-151.
30. Archier E, Grillo JC, Fourcade S, et al. Morel-Lavallee syndrome of the lower leg. *Ann Dermatol Venereol.* 2012; 139(3):216-236.
31. Molnar SL, Recarte A, Villafane O, et al. Morel-Lavallee syndrome of the tibia. *BMJ Case Rep.* 2011; Aug 4.
32. Hudson DA, Knottenbelt JD, Krige JE. Closed degloving injuries: results following conservative surgery. *Plast Reconstr Surg.* 1992; 89(5): 853-85.
33. Lin HL, Lee WC, Kuo LC, et al. Closed internal degloving injury with conservative treatment. *Am J Emerg Med.* 2008; 26(2): 254-260.
34. Morris M, Schreiber MA, Ham B. Novel management of closed degloving injuries. *J Trauma.* 2009; 67(4): 121-124.
35. Adani R, Castagnetti C, Landi A. Degloving injuries of the hand and fingers. *Clin Orthop Relat Res.* 1995; (314): 19-25.
36. Herlin C, Louhaem D, Bigorre M, et al. Use of Integra in a paediatric upper extremity degloving injury. *J Hand Surg Eur Vol.* 2007;32(2): 179-263.
37. Barendse-Hofmann MG, van Doorn L, Steenvoorde P. Circumferential application of VAC on a large degloving injury on the lower extremity. *J Wound Care.* 2009; 18(2): 79-82.

38. Chen C, Zhang X, Shao X, et al. Treatment of thumb tip degloving injury using the modified first dorsal metacarpal artery flap. *J Hand Surg Am.* 2010; 35(10): 1663-1733.
39. Chen X, Fang T, Kang S. Ilio-inguinal-hypogastric vascular network skin flap with common pedicle in the treatment of degloving injury of multiple fingers. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 1999; 13(1): 11-14.
40. Meara JG, Guo L, Smith JD, et al. Vacuum-assisted closure in the treatment of degloving injuries. *Ann Plast Surg.* 1999; 42(6): 589-683.
41. Minten L, Hovius SE, Gilbert PM. Degloving injuries. A retrospective study at the University Hospital Rotterdam. *Acta Chir Belg.* 1992; 92(4): 209-221.
42. Dini M, Quercioli F, Mori A, et al. Vacuum-assisted closure, dermal regeneration template and degloved cryopreserved skin as useful tools in subtotal degloving of the lower limb. *Injury.* 2012; 43(6):957-966.
43. Hoogeboom JE, Polley JW, Hunstad JP, et al. In vitro preservation of traumatic human skin autografts in a massive degloving injury. *J Am Osteopath Assoc.* 1989; 8: 1066-1074.
44. Nogueira A, Martinez MJ, Arriaga MJ, et al. Delayed full-thickness autografting of cryopreserved avulsed skin in degloving injuries of the extremities. *Plast Reconstr Surg.* 2001; 107(4): 1009-1022.
45. Latifi R, El-Hennawy H, El-Menyar A, et al. The therapeutic challenges of degloving soft-tissue injuries. *J Emerg Trauma Shock.* 2014; 7(3): 228-260.
46. Lo S, Lin YT, Lin CH, Wei FC. A new classification to aid the selection of revascularization techniques in major Degloving injuries of the upper limb. *Injury.* 2013;44 (3): 331-336.
47. Letts RM. Degloving injuries in children. *J Pediatr Orthop.* 1986; 6(2): 193-200.
48. Hixson ML, Moore MM. Degloving injuries of the hand. *J Ark Med Soc.* 1987; 84(2): 85-92.
49. Zhang K, Tian XY, Gao JM. Management of extensive closed internal degloving injury. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2002; 16(3): 183-187.

50. Green H, Silvani SH, Scurran BL, et al. Degloving injuries of the foot. Case presentation and review of the literature. *J Am Podiatr Med Assoc.* 1988; 78(7): 372-377.
51. Sukop A, Tvrdek M, Duskova M, et al. Degloving injury - the use of a combination of free fasciocutaneous sensitive flap and pedicle flaps for reconstruction. *Acta Chir Plast.* 2005; 47(4): 107-118.
52. Williams EW, Chand V, Singh P, et al. Closed degloving injury of the thigh. *West Indian Med J.* 2009; 58(5): 493-497.
53. Milcheski DA, Nakamoto HA, Tuma P, ET al. Experimental model of degloving injury in rats: effect of allopurinol and pentoxifylline in improving viability of avulsed flaps. *Ann Plast Surg.* 2013; 70(3): 366-375.
54. Oztuna V, Eskandari MM, Unal S, et al. The effect of pentoxifylline in treatment of skin degloving injuries: an experimental study. *Injury.* 2006; 37(7): 638-679.
55. Lee MJ, Lee OH, Yoon SH, et al. In vitro angiogenic activity of Aloe vera gel on calf pulmonary artery endothelial (CPAE) cells. *Arch Pharm Res.* 1998; 21(3): 260-265.
56. Moon EJ, Lee YM, Lee OH, et al. A novel angiogenic factor derived from Aloe vera gel: beta-sitosterol, a plant sterol. *Angiogenesis.* 1999;3(2):117-140.
57. Choi DY, Huh JE, Lee JD, et al. *Uncaria rhynchophylla* induces angiogenesis in vitro and in vivo. *Biol Pharm Bull.* 2005; 28(12): 2248-2300.
58. Willital GH, Simon J. Efficacy of early initiation of a gel containing extractum cepae, heparin, and allantoin for scar treatment: an observational, noninterventional study of daily practice. *J Drugs Dermatol.* 2013; 12(1): 38-42.
59. Park HJ, Lee S, Kang KH, et al. Enhanced random skin flap survival by sustained delivery of fibroblast growth factor 2 in rats. *ANZ J Surg.* 2013; 83(5): 354-362.
60. Serra R, Buffone G, Molinari V, et al. Low molecular weight heparin improves healing of chronic venous ulcers especially in the elderly. *Int Wound J.* 2015; 12(2): 150-153.
61. Cebesoy O, Isik M, Erzincan T, et al. Analysis of the effects of heparin and enoxaparin on degloving injuries. *Bratisl Lek Listy.* 2014; 115(9): 550-553.

62. Azboy I, Demirtas A, Bulut M, et al. Effects of enoxaparin and rivaroxaban on tissue survival in skin degloving injury: an experimental study. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2014; 48(2): 212-218.
63. Say F, Iltar S, Alemdaroglu KB, et al. The effect of various types low molecular weight heparins on fracture healing. *Thromb Res.* 2013; 131(3): 114-123.
64. Dauwe PB, Pulikkottil BJ, Lavery L, et al. Does hyperbaric oxygen therapy work in facilitating acute wound healing: a systematic review. *Plast Reconstr Surg.* 2014; 133(2): 208-223.
65. Bishop AJ, Mudge E. Diabetic foot ulcers treated with hyperbaric oxygen therapy: a review of the literature. *Int Wound J.* 2014; 11(1) :28-34.
66. Cervaens Costa Maia M, Camacho OF, Pinto Marques AF, et al. Hyperbaric oxygen therapy treatment for the recovery of muscle injury induced in rats. *Diving Hyperb Med.* 2013; 43(4): 222-227.
67. Neves PC, Abib Sde C, Neves RF, et al. Effect of hyperbaric oxygen therapy combined with autologous platelet concentrate applied in rabbit fibula fraction healing. *Clinics (Sao Paulo).* 2013; 68(9): 1239-1285.
68. Toros SZ, Karaca CT, Gunes P, et al. Hyperbaric oxygen versus steroid in facial nerve injury: an experimental animal study. *Am J Otolaryngol.* 2013; 34(5): 530-536.
69. Van Meter KW. The effect of hyperbaric oxygen on severe anemia. *Undersea Hyperb Med.* 2012; 39(5): 937-979.
70. Yaman O, Yaman B, Aydin F, et al. Hyperbaric oxygen treatment in the experimental spinal cord injury model. *Spine J.* 2014; 14(9): 2184-2278.
71. Demirtas A, Azboy I, Bulut M, et al. Effect of hyperbaric oxygen therapy on healing in an experimental model of degloving injury in tails of nicotine-treated rats. *J Hand Surg Eur Vol.* 2013; 38(4): 405-416.
72. Bertolotto PR, Fagundes DJ, Simoes Mde J, et al. Effects of hyperbaric oxygen therapy on the rat intestinal mucosa apoptosis caused by ischemia-reperfusion injury. *Microsurgery.* 2007; 27(4): 224-231.
73. Berner JE, Vidal P, Will P, et al. Use of hyperbaric oxygenation for wound management. *Rev Med Chil.* 2014; 142(12): 1575-1658.

74. Koren L, Ginesin E, Melamed Y, et al. Hyperbaric Oxygen for Stage I and II Femoral Head Osteonecrosis. *Orthopedics*. 2015; 38(3): 200-205.
75. Tiidus PM. Alternative treatments for muscle injury: massage, cryotherapy, and hyperbaric oxygen. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2015; 8(2): 162-169.
76. Rasmussen VM, Borgen AE, Jansen EC, et al. Hyperbaric oxygen therapy attenuates central sensitization induced by a thermal injury in humans. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2015; 59(6): 749-811.
77. Geng CK, Cao HH, Ying X, et al. The effects of hyperbaric oxygen on macrophage polarization after rat spinal cord injury. *Brain Res*. 2015; 1606: 68-76.
78. Braks JA, Spiegelberg L, Koljenovic S, et al. Optical Imaging of Tumor Response to Hyperbaric Oxygen Treatment and Irradiation in an Orthotopic Mouse Model of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Mol Imaging Biol*. 2015 Feb 28.
79. Plafki C, Peters P, Almeling M, et al. Complications and side effects of hyperbaric oxygen therapy. *Aviat Space Environ Med*. 2000; 71(2): 119-143.
80. Yan L, Liang T, Cheng O. Hyperbaric oxygen therapy in China. *Med Gas Res*. 2015; 5: 3.

# Efeitos de heparina e oxigenação hiperbárica na redução de necrose em modelo animal para deslucamentos.

Menon, DN; Teixeira, L; Paurosi, NB; Barros, ME.

Douglas Neumar Menon<sup>1</sup>; Letícia Teixeira<sup>2</sup>; Natalha Bristot Paurosi<sup>2</sup>; Marcio Eduardo de Barros<sup>3</sup>.

1 – Cirurgião Plástico, Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

2 – Acadêmica de Medicina, Universidade Federal da Grande Dourados

3 – Professor adjunto de fisiologia, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados.

Faculdade de Ciências da Saúde – Universidade Federal da Grande Dourados

Rodovia Dourados-Itahum KM 12, Caixa Postal 322 CEP 7980-000

Corresponding author.

Marcio Eduardo De Barros

Faculdade de Ciências da Saúde

Rodovia Dourados – Itahum, Km 12, Cidade Universitária

Dourados – MS

CEP: 79800-000

(marciobarros@ufgd.edu.br)

## RESUMO:

**INTRODUÇÃO:** Os deslucamentos são uma categoria específica de ferimentos, onde ocorre grande desvascularização dos tecidos, que ficam por sua vez sujeitos a lesão isquêmica, incorrendo em grandes índices de morbimortalidade. **OBJETIVOS:** Avaliar o efeito do tratamento com heparina tópica ou oxigenação hiperbárica em modelo animal de deslucamentos. **MÉTODOS:** Foram utilizados ratos adultos machos *Wistar*, que foram submetidos a indução de deslucamento do membro inferior direito, estendendo-se desde a raiz da coxa até a articulação do tornozelo, sob anestesia geral com cetamina + xilazina. Os animais foram divididos em quatro grupos: Controle; Heparina - heparina spray tópica diariamente sobre a área de lesão; Oxigenação Hiperbárica - sessões diárias de 30 minutos em câmara com O<sub>2</sub> a 100 % e 2 ATA de pressão; e Controle Positivo - 45 mg/kg intraperitoneal de alopurinol, dose única. Todos os animais receberam antibioticoprofilaxia com penicilina benzatina IM 40.000 UI/kg e analgesia com dipirona adicionada à água do bebedouro (2mg/mL). No sétimo dia de pós operatório os animais foram submetidos a eutanásia e os retalhos cutâneos foram retirados e realizadas medidas das áreas total e necrótica, bem como o cálculo da porcentagem da área de necrose. **RESULTADOS:** A média da porcentagem de necrose do grupo controle foi de 56,03 %; no grupo controle positivo 51,36 % ( $p=0,2$ ); no grupo da heparina 42,10 % ( $p\leq 0,05$ ); e no grupo da oxigenação hiperbárica 31,58% ( $p\leq 0,01$ ). **DISCUSSÃO:** Houve redução significativa da porcentagem de necrose nos animais tratados com oxigenação hiperbárica e também nos animais do grupo da heparina. O modelo utilizado neste estudo deve ser entendido também como um modelo de retalhos

cutâneos de vascularização duvidosa ou deficiente, sugerindo a possibilidade de novos estudos dessas modalidades terapêuticas em diversas situações da Cirurgia Plástica, e outros tipos de patologias que envolvam isquemia tecidual, como infarto agudo do miocárdio e isquemia coronariana, acidente vascular encefálico e insuficiência vascular de membros.

**CONCLUSÃO:** A oxigenação hiperbárica, assim como a aplicação tópica de heparina mostraram-se eficazes na redução do percentual de área de necrose no modelo estudado.

**Palavras-chave:** Cirurgia Plástica; ferimentos e lesões; deslucamentos; oxigenação hiperbárica; heparina.

## **1. INTRODUÇÃO:**

Os deslucamentos são uma categoria específica de traumatismos de partes moles, ocasionados normalmente por mecanismo de prensão e rotação<sup>1,2</sup>, por exemplo, no caso de atropelamentos, em que um membro, superior ou inferior pode ficar prensado sob uma roda do veículo, o movimento de rotação causa um descolamento da pele e do tecido celular subcutâneo, habitualmente no plano fascial. Por este motivo, este tipo de lesão é também, frequentemente mencionado como ferimento descolante<sup>2</sup>.

Os deslucamentos normalmente originam retalhos de vascularização incerta, situação que gera uma dúvida terapêutica entre preservar ou não o segmento de pele descolada, tornando o tratamento complexo e de difícil de padronização. Dessa forma, a utilização de terapia que melhore a vascularização ou a perfusão nestes tecidos é

interessante ao passo que pode proporcionar melhores resultados, associados à redução das sequelas<sup>3</sup>. A literatura científica atual apresenta vários trabalhos com evidências de melhora na cicatrização de feridas<sup>4,5</sup>, porém os estudos relacionando estas modalidades terapêuticas com melhoras em deslucamentos são escassos. Além disso, os dados atuais são insuficientes para encorajar estudos com humanos, tornando imperativos os experimentos com modelos animais.

A heparina possui, além do seu efeito anticoagulante, efeitos antiinflamatório e vasodilatador e a oxigenação hiperbárica melhora a perfusão tecidual e a pressão parcial de oxigênio nos tecidos, tornando assim ambas as modalidades promissoras no tratamento dos deslucamentos. Terapias que melhorem a irrigação sanguínea ou a perfusão de tecidos periféricos podem ter aplicação ampla em Cirurgia Plástica, além dos casos específicos de deslucamentos, podendo ser considerada a sua utilização em quaisquer situações em que seja desejável uma melhora na vascularização dos tecidos envolvidos, como em casos de retalhos cutâneos ao acaso, enxertos cutâneos, feridas crônicas, úlceras venosas ou isquêmicas e úlceras de pressão<sup>6</sup>. Podemos, ainda, extrapolar as possibilidades teóricas dessas modalidades para outras áreas da Medicina, em situações de isquemia de tecidos, como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular encefálico e insuficiência vascular de membros<sup>7</sup>. Assim, propomos avaliar o efeito de heparina e oxigenação hiperbárica em modelo animal de deslucamentos, afim da busca de novas formas de tratamento para esse tipo de lesão.

#### 4. MÉTODOS:

##### CONSIDERAÇÕES ÉTICAS:

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética com Uso de Animais da UFGD sob o protocolo de número 025/2014.

##### MODELO ANIMAL:

Foram utilizados ratos adultos provenientes do biotério da UFGD, acondicionados antes dos procedimentos em gaiolas apropriadas, em grupos de seis animais, com ração e água *ad libitum*, mantidos até o dia da cirurgia. Os animais foram divididos nos seguintes grupos: Grupo 1- Controle, formado pelos animais submetidos à cirurgia isoladamente, sem tratamento adicional; Grupo 2 – Heparina, formado pelos animais tratados com spray de heparina tópica e intralesional; Grupo 3 – Oxigenação Hiperbárica; e Grupo 4 – Controle Positivo, grupo submetido a tratamento com injeção intraperitoneal de alopurinol, em dose única de 45mg/Kg<sup>8</sup>. O Grupo 1 – controle foi composto por 12 animais, enquanto os demais grupos foram compostos por 6 animais cada

##### PROCEDIMENTO CIRÚRGICO:

Os animais foram submetidos a anestesia geral utilizando cetamina, na dose de 60 mg/kg associada a xilazina, na dose de 10 mg/kg, aplicados por via intramuscular, aplicada na coxa direita do animal, iniciando-se o procedimento cirúrgico após confirmação do plano anestésico, através da ausência do reflexo córneo palpebral. Após realização de tricotomia na base do membro inferior esquerdo, foi realizada a indução

do deslucamento, através de incisão circular na raiz da coxa esquerda e dissecação da pele no plano subcutâneo, por tração no sentido crânio-caudal com pinças de Backhaus pela extremidade do retalho, desde a raiz da coxa até a articulação do tornozelo<sup>8</sup> (figura 1), com posterior reposicionamento do retalho e sutura da pele na área da incisão com mononylon 5-0 contínua (figura 2).

Todos os animais receberam antibioticoterapia profilática através da aplicação intramuscular de penicilina benzatina na dose de 40.000 UI/kg, no membro inferior contra lateral à cirurgia, além de analgesia pela adição de dipirona à água dos bebedouros na dose de 2 mg/mL. Após as cirurgias os animais foram acondicionados em gaiolas individuais, no intuito de evitar agressões ou autofagia.

#### TRATAMENTOS:

Os animais do Grupo heparina, receberam aplicação tópica da medicação (Alimax<sup>®</sup>, Cristália), através de borrifador spray próprio, sendo aplicados dois jatos, um anterior e outro posterior, antes do reposicionamento e sutura do ferimento. Esta preparação equivale à concentração de 10.000 UI/mL. Nos sete dias de observação pós operatória também foi realizada diariamente a aplicação tópica, sobre o retalho, da mesma dose de heparina em spray (um jato anterior e um jato posterior) até o dia da eutanásia (sétimo dia pós operatório).

Os animais do grupo da oxigenação hiperbárica foram submetidos a sessões diárias de 30 minutos em câmara hiperbárica específica para uso animal do Laboratório de Técnica Cirúrgica da UFGD, com oxigênio a 100% sob pressão de 2 ATA, iniciadas imediatamente após as cirurgias<sup>9</sup> até a eutanásia, no sétimo dia pós operatório. Durante

cada sessão, os animais foram acomodados em caixas individuais e alocados no interior da câmara, sendo realizado um *flush* por cinco minutos com oxigênio na intenção de retirar todo o ar presente no interior da câmara, mantendo a concentração de oxigênio em 100%.

Os animais do grupo de controle positivo receberam, após o procedimento cirúrgico padronizado como nos outros grupos, dose única de 45 mg/kg de alopurinol (Sigma-Aldrich) intraperitoneal.

Os animais foram acompanhados diariamente para observar alterações que pudessem interferir com o estudo, bem como aplicação das medicações nos grupos pertinentes. Após sete dias de pós operatório todos os animais foram submetidos a eutanásia através da administração intramuscular de cetamina 100 mg/kg associada a xilazina 10 mg/kg, seguida de exsanguinação por punção cardíaca.

Fora então, realizada a retirada total dos retalhos cutâneos, sendo estes devidamente identificados de acordo com o animal e grupo (controle ou intervenção) e fotografados. As imagens foram analisadas através do software gráfico ImageJ® (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA 1997) sendo realizadas as mensurações, respectivamente, da área total e da área necrótica do retalho e então calculada a percentagem de área necrótica em cada espécime e a média da percentagem de área necrótica em cada grupo (figura 3).

#### ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Foi realizada análise de variância – ANOVA, para comparação entre os grupos, seguida de teste T para comparação de cada grupo com o controle, os valores estão

representados com média±EP. Também foi aplicado o teste T entre os grupos, para comparação do alopurinol com heparina, do alopurinol com oxigenação hiperbárica e da heparina com a oxigenação hiperbárica. Os resultados estão apresentados com média ± erro padrão. Foram admitidos como significantes valores de  $p \leq 0,05$ .

## 5. RESULTADOS:

Foi observada necrose cutânea em todos os animais, de todos os grupos. No grupo controle, a porcentagem de área necrótica variou de 18,07 a 81,08 %, com média de 56,04 % ( $\pm 5,42$ ) com a ocorrência de um óbito nesse grupo, devido a complicações anestésicas. A média da área total dos retalhos foi de 5,22 cm<sup>2</sup> ( $\pm 0,65$ ) e a média da área de necrose foi de 2,77 cm<sup>2</sup> ( $\pm 0,37$ ).

O grupo do alopurinol, utilizado como controle positivo sofreu necrose em média de 51,36 % ( $\pm 1,99$ ) da área dos retalhos ( $p=0,22$ ), variando de 44,69 a 57,37 %, sendo a média da área total de 5,50 cm<sup>2</sup> ( $\pm 0,26$ ) e a média da área necrótica de 2,85 cm<sup>2</sup> ( $\pm 0,22$ ).

No grupo dos animais tratados com heparina tópica e intralesional ocorreu necrose que variou de 32,41 a 49,95 %, com média de 42,10 % ( $\pm 3,56$ ) ( $p \leq 0,05$ ). A média da área total dos retalhos foi 6,25 cm<sup>2</sup> ( $\pm 0,12$ ), enquanto a média da área necrótica foi de 2,60 cm<sup>2</sup> ( $\pm 0,24$ ). Neste grupo ocorreram dois óbitos devidos a complicações anestésicas e foi observada, embora não mensurada, a ocorrência de hemorragia nas feridas de todos os animais desse grupo após a aplicação da heparina. Também foi observada a formação de hematoma em um dos espécimes deste grupo.

No grupo da oxigenação hiperbárica houve necrose nos retalhos, que variou de 8,25 a 47,21 %, com média de 31,58 % ( $\pm 5,49$ ) ( $p \leq 0,01$ ), com média de área total de 5,15 cm<sup>2</sup> ( $\pm 0,29$ ) e média de área necrótica de 1,88 cm<sup>2</sup> ( $\pm 0,45$ ). Observamos também, empiricamente, melhora da cicatrização nos animais submetidos a oxigenação hiperbárica, com melhora tanto do aspecto da cicatriz quanto da adesão do retalho ao leito em comparação com animais do grupo controle (figura 4). A tabela 1 e a figura 5 representam as médias das áreas necróticas nos quatro grupos.

Ao comparar os grupos estudados com o grupo de controle positivo (alopurinol) ambos os grupos evidenciaram melhora estatisticamente significante, com  $p \leq 0,01$  para a oxigenação hiperbárica e  $p \leq 0,05$  para o grupo da heparina. Ao comparar entre si os grupos de oxigenação hiperbárica e heparina não houve significância estatística ( $p=0,09$ ).

A ocorrência de óbito em dois animais do grupo da heparina, assim como em um animal do grupo controle foram atribuídas a complicações anestésicas, sendo então excluídos da análise, uma vez que não houve relação do óbito com o método aplicado.

## 6. DISCUSSÃO:

Optamos por utilizar este modelo devido ao fato de assemelhar-se mais aos deslucamentos em humanos em comparação aos modelos de deslucamentos em cauda de ratos. O modelo mostrou-se eficiente para estudos de isquemia de tecidos, pois houve necrose em todos os espécimes.

Com relação ao grupo controle, nossos resultados foram similares aos encontrados na literatura, com 63,34 %<sup>8</sup> de área de necrose, enquanto em nosso estudo esta taxa ficou em 56,04 %. No entanto o grupo escolhido como controle positivo (alopurinol) apresentou resultados discordantes da literatura pesquisada, que concluiu 34,85% de necrose, com importante redução da isquemia<sup>8</sup>, enquanto nossos resultados ficaram em 51,36%, apresentando uma melhora muito mais modesta, apesar da utilização da mesma diluição, dosagem e via de administração. Esta divergência dos resultados pode ser devida a algumas diferenças metodológicas utilizadas na nossa pesquisa, onde utilizamos antibioticoprofilaxia com penicilina benzatina e também administração de dipirona aos animais com finalidade analgésica, procedimentos não adotados pelos autores que descreveram o modelo<sup>8</sup>.

Observamos diminuição do percentual da área de necrose nos outros dois grupos testados, sendo os resultados encontrados de 42,10 % para o grupo da heparina ( $p \leq 0,05$ ) e de 31,58 % para a oxigenação hiperbárica ( $p \leq 0,01$ ).

No grupo da heparina, a melhora na diminuição da área de necrose é supostamente devida à redução da inflamação e à vasodilatação ocasionadas pela

heparina, efeitos já conhecidos e benéficos no tratamento de queimaduras superficiais, especialmente de face, utilização habitual desse tipo de produto<sup>9</sup>. Em todos os animais tratados com esse método houve aumento visível do sangramento no pós operatório imediato, embora essa observação não tenha sido mensurada, sendo que em um dos animais houve a formação de hematoma, observado durante a retirada do retalho, após eutanásia do animal. Estas complicações podem estar relacionadas com a dosagem e a concentração utilizadas, de 10.000 UI/mL e novos estudos utilizando concentrações menores de heparina podem ser úteis.

A melhora constatada nos animais tratados com câmara hiperbárica deve-se provavelmente ao aumento da pressão parcial de oxigênio nos tecidos acometidos, melhorando a perfusão e possivelmente diminuindo a inflamação local<sup>10</sup>, como observou Berner em seu estudo<sup>11</sup>. Estudos futuros, envolvendo a inflamação local e migração de células inflamatórias seriam interessantes. Observamos também, empiricamente que a qualidade da cicatriz nos animais tratados com oxigenação hiperbárica, tanto na linha de sutura, quanto na adesão do retalho aos tecidos profundos se mostrou aparentemente melhor (Figura 4). A melhora da cicatrização foi observada objetivamente em estudo conduzido por Zhang e colaboradores, no qual testaram os efeitos da terapia hiperbárica em um modelo animal de cicatrização. Os autores evidenciaram redução do tempo de cicatrização e diminuição da incidência de cicatrizes hipertróficas<sup>12</sup>, corroborando nossa observação.

Atualmente o tratamento clinicamente mais aceito para o tratamento dos deslucamentos é a utilização da pele deslucada como um enxerto. Isto se faz retirando toda a gordura da pele descolada e reposicionando sobre o leito receptor<sup>13</sup>. Este tipo de

conduta tem algumas limitações, relacionadas, principalmente à integração dos enxertos, visto que frequentemente não há integração completa e algumas áreas podem necessitar de nova abordagem cirúrgica, determinando novas áreas doadoras de enxerto, que podem levar a sequelas que vão desde discromias até distúrbios fibroproliferativos da cicatrização<sup>14</sup>. Acreditamos que a reperfusão completa do retalho nos casos de grandes deslucamentos dificilmente será alcançada com métodos não cirúrgicos, uma vez que normalmente há grande comprometimento da vascularização, no entanto o desenvolvimento de algum esquema terapêutico que aumente a perfusão pode melhorar os resultados tanto do ponto de vista estético quanto funcional, mesmo nos casos tratados com os métodos tradicionais de enxertia cutânea.

Estudos envolvendo seres humanos compreendem grande dificuldade de condução, visto que em grandes deslucamentos o tratamento não deve ser protelado, sob risco de sequelas importantes, tanto da área acometida, quanto de possíveis áreas doadoras de tecidos para a reconstrução, visto que mesmo nas melhores hipóteses ainda ocorrem grandes áreas de necrose. No entanto as modalidades estudadas neste trabalho constituem boas opções para estudos de lesões menores com menos possibilidades de sequelas limitantes. O modelo utilizado neste estudo deve ser entendido, não apenas como um modelo de deslucamento, mas sim como um modelo de retalhos cutâneos de vascularização duvidosa ou deficiente, sugerindo a possibilidade de novos estudos dessas modalidades terapêuticas em diversas situações da Cirurgia Plástica, como retalhos ao acaso, grandes retalhos cutâneos<sup>15</sup>, retalhos a distância, reconstrução mamária<sup>16</sup> e até cirurgia estética<sup>17,18</sup>.

Por tratarem-se de mecanismos de ação distintos acreditamos que seria interessante a condução de estudo com a associação dos métodos terapêuticos testados neste trabalho para avaliar possível sinergismo dos benefícios.

## **7. CONCLUSÃO:**

O modelo proposto foi reproduzido com sucesso, visto que as porcentagens de área necrótica foram semelhantes ao da literatura, com algumas divergências que podem ser atribuídas a diferenças metodológicas.

Houve redução do percentual de área necrótica dos retalhos com nível de significância estatística nos dois grupos estudados, heparina e oxigenação hiperbárica. Os resultados positivos são atribuídos aos efeitos antiinflamatórios, neoangiogênicos e melhora da pressão parcial de oxigênio relacionados a essas modalidades terapêuticas.

Os resultados obtidos neste estudo são insuficientes para encorajar estudos com humanos com grandes deslucamentos, sendo a melhor opção o estudo de pequenas lesões de vascularização duvidosa ou retalhos cutâneos ao acaso, situações que não oferecem grandes riscos de sequelas incapacitantes. O uso da heparina em preparação tópica diretamente sobre o leito da ferida deve ser visto com ressalvas, pela possibilidade de complicações como sangramentos e hematomas. Acreditamos que novos estudos, mensurando a atividade inflamatória, pressão parcial de oxigênio nos tecidos, alterações histológicas, força tênsil na linha de sutura e no plano de clivagem do retalho são alternativas interessantes à sequência deste trabalho.

## **8. DECLARAÇÃO DE CONFLITOS DE INTERESSE:**

Não há conflitos de interesse no presente estudo.

## 9. AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem o apoio financeiro realizado pelas Instituições:

- Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES);
  - Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul e **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico** (FUNDECT / CNPq No. 05/2011 - PPP);
  - Hospital Univeritário da Universidade Federal da Grande Dourados
-

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Zagrocki L, Ross A, Hicks A. Management of degloving injuries of the lower extremity: a case report of a forklift injury. *Foot Ankle Spec.* 2013;6(2):150-3.
2. Arnez ZM, Khan U, Tyler MP. Classification of soft-tissue degloving in limb trauma. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63(11):1865-1874.
3. Hierner R, Nast-Kolb D, Stoel AM, et al. Degloving injuries of the lower limb. *Unfallchirurg.* 2009 ;112(1):55-62.
4. Parente LM, Lino Junior Rde S, Tresvenzol LM, et al. Wound Healing and Anti-Inflammatory Effect in Animal Models of *Calendula officinalis* L. Growing in Brazil. *Evid Based Complement Alternat Med.*2012:1-7.
5. Yue PY, Wong DY, Ha WY, et al. Elucidation of the mechanisms underlying the angiogenic effects of ginsenoside Rg(1) in vivo and in vitro. *Angiogenesis.* 2005;8(3):205-16.
6. Cao Minh T, Xuan Hai D, Thi Ngoc P. Effects of intense pulsed light on tissue vascularity and wound healing: a study with mouse island skin flap model. *Plast Surg Int.* 2015;1-6.
7. Nishijima Y, Akamatsu Y, Weinstein PR, et al. Collaterals: Implications in cerebral ischemic diseases and therapeutic interventions. *Brain Res.* 2015;11.
8. Milcheski DA, Nakamoto HA, Tuma P, Jr., et al. Experimental model of degloving injury in rats: effect of allopurinol and pentoxifylline in improving viability of avulsed flaps. *Ann Plast Surg.* 2013;70(3):366-375.
9. Bertolotto PR, Fagundes DJ, Simoes Mde J, et al. Effects of hyperbaric oxygen therapy on the rat intestinal mucosa apoptosis caused by ischemia-reperfusion injury. *Microsurgery.* 2007;27(4):224-231.
10. Berner JE, Vidal P, Will P, et al. Use of hyperbaric oxygenation for wound management. *Rev Med Chil.* 2014;142(12):1575-1658.
11. Zhang Q, Shao JS, Yue YG, et al. Effect of hyperbaric oxygen on the scar formation at the rabbit ears at an early stage. *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi.* 2013;29(1):55-63.
12. Venkatachalapathy TS. A comparative study of paediatric thermal burns treated with topical heparin and without heparin. *Indian J Surg.* 2014;76(4):282-289.
13. Minten L, Hovius SE, Gilbert PM. Degloving injuries. A retrospective study at the University Hospital Rotterdam. *Acta Chir Belg.* 1992; 92(4): 209-221.

14. Ding X, Shi L, Liu C, Sun B. A randomized comparison of Aquacel Ag and Alginate Silver as skin graft donor site dressing. *Burns*. 2013;39(8):1547-50.
15. Zhou YY, Liu W, Yang YJ, et al. Use of hyperbaric oxygen on flaps and grafts in China: analysis of studies in the past 20 years. *Undersea Hyperb Med*. 2014;41(3):209-225.
16. Fredman R, Wise I, Friedman T, et al Skin-sparing mastectomy flap ischemia salvage using urgent hyperbaric chamber oxygen therapy: a case report. *Undersea Hyperb Med*. 2014;41(2):145-152.
17. Asadamongkol B, Zhang JH. The development of hyperbaric oxygen therapy for skin rejuvenation and treatment of photoaging. *Med Gas Res*. 2014;4(1):1-7.
18. Nishijima Y, Akamatsu Y, Weinstein PR, et al. Collaterals: Implications in cerebral ischemic diseases and therapeutic interventions. *Brain Res*. 2015 Special Issue.

**11. FIGURAS:**



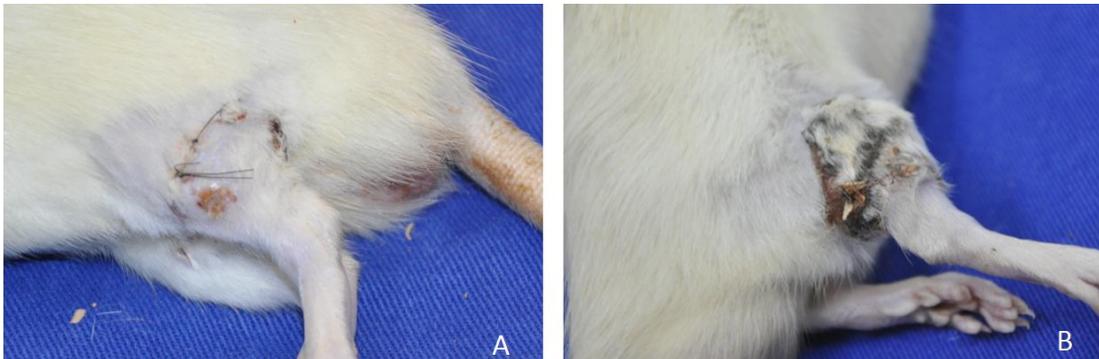
**Figura 1: Foto da marcação da área de descolamento do retalho**



**Figura 2: Foto do sítio cirúrgico no 7º dia pós operatório.**



**Figura 3** Foto da demarcação da área necrótica do retalho



**Figura 4** Fotos comparando exemplos de cicatrização: A - animal tratado com oxigenação hiperbárica; B - animal do grupo controle.

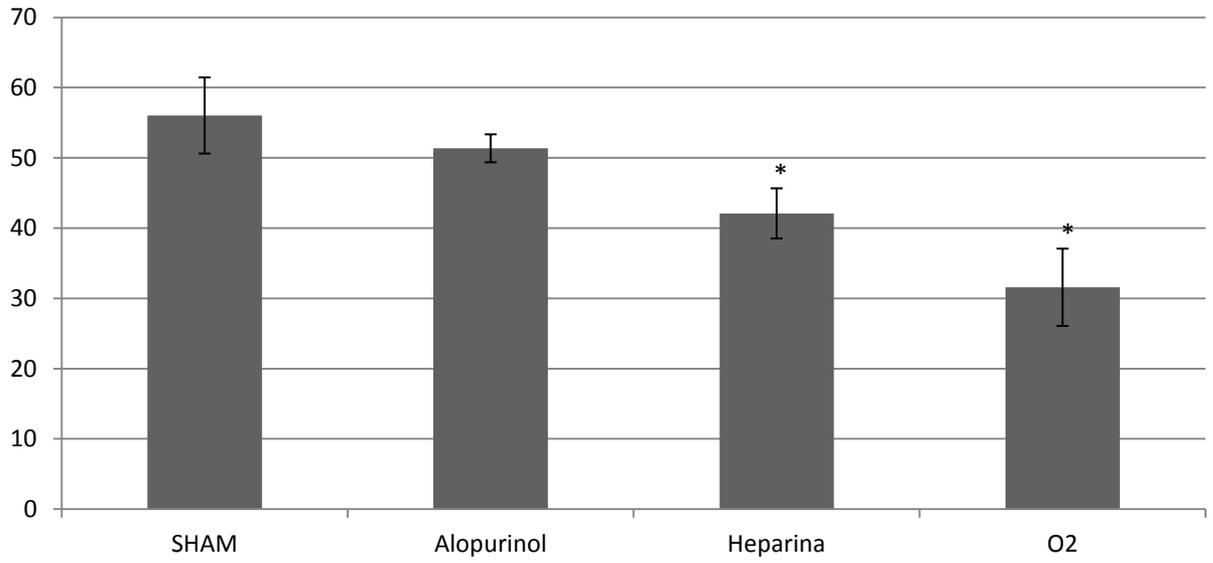


Figura 5: Comparação entre as médias da porcentagem de necrose nos grupos. \*  $p \leq 0,05$ .

**12. TABELA:**

Grupo	Área total (cm <sup>2</sup> )	Área de necrose (cm <sup>2</sup> )	Média da porcentagem de necrose (%)
Controle	5,22 ± (0,65)	2,77 ± (0,37)	56,04 ± (5,42)
Alopurinol	5,50 ± (0,26)	2,85 ± (0,22)	51,36 ± (1,99)
Heparina	6,25 ± (0,12)	2,60 ± (0,24)	42,10 ± (3,56)*
Oxigenação hiperbárica	5,15 ± (0,29)	1,88 ± (0,45)	31,58 ± (5,49)*

**Tabela 1: Comparação entre as áreas total e de necrose e da porcentagem de necrose. Médias ± EP \* $p \leq 0,05$**

### 13. ANEXO 2:

Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais - UFGD:



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

#### COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Dourados-MS, 27 de maio de 2015.

Senhor Pesquisador:

**Márcio Eduardo de Barros**

O Projeto de sua responsabilidade – Protocolo nº. **025/2014** – CEUA/UFGD - intitulado "Avaliação de possíveis opções terapêuticas em modelo animal de ferimentos descolantes" foi integralmente **APROVADO** e poderá ser conduzido.

Ressaltamos que é de responsabilidade do (a) pesquisador (a) envio de notificação à CEUA sobre o término do projeto.

---

Melissa Negrão Sepulveda  
Coordenadora CEUA

## 14. ANEXO 3:

### Tabelas

Espécime	Área total (cm <sup>2</sup> )	Área necrótica (cm <sup>2</sup> )	Porcentagem de necrose (%)
1	7.458	4.703	63,05
2	5.140	2.721	52,93
3	9.323	1.685	18,07
4	8.255	5.438	65,87
5	Óbito	-----	-----
6	6.472	3.399	52,51
7	3.182	2.533	79,60
8	3.298	1.018	30,86
9	3.458	2.804	81,08
10	3.766	1.835	48,72
11	4.170	2.509	60,16
12	2.925	1.860	63,58
<b>Média</b>	<b>5.222 ± (0,65)</b>	<b>2.773 ± (0,37)</b>	<b>56,04 ± (5,42)</b>

Tabela 2: Áreas totais e necróticas dos retalhos, com porcentagem de necrose individuais dos animais do grupo controle

Espécime	Área total (cm <sup>2</sup> )	Área necrótica (cm <sup>2</sup> )	Porcentagem de necrose (%)
1	6.016	3.001	49,88
2	5.016	2.316	46,17
3	4.349	1.944	44,69
4	5.824	3.102	53,26
5	6.229	3.574	57,37
6	5.622	3.193	56,79
<b>Média</b>	<b>5.509 ±(0,26)</b>	<b>2.855 ± (0,22)</b>	<b>51,36 ± (1,99)</b>

Tabela 3: Áreas totais e necróticas dos retalhos, com porcentagem de necrose individuais dos animais do grupo do alopurinol

<b>Espécime</b>	<b>Área total (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Área necrótica (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Porcentagem de necrose (%)</b>
<b>1</b>	6.579	3.125	49,95
<b>2</b>	6.167	1.999	32,41
<b>3</b>	Óbito	-----	-----
<b>4</b>	5.922	2.262	38,19
<b>5</b>	Óbito	-----	-----
<b>6</b>	6.343	3.035	47,84
<b>Média</b>	<b>6.253 ± (0,12)</b>	<b>2.605 ± (0,24)</b>	<b>42,10 ± (3,56)</b>

Tabela 4: Áreas totais e necróticas dos retalhos, com porcentagem de necrose individuais dos animais do grupo da heparina.

<b>Espécime</b>	<b>Área total (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Área necrótica (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Porcentagem de necrose (%)</b>
<b>1</b>	5.220	2.348	44,98
<b>2</b>	3.936	1.451	36,86
<b>3</b>	5.339	0.441	8,25
<b>4</b>	5.812	1.751	30,12
<b>5</b>	4.548	1.004	22,07
<b>6</b>	6.064	2.863	47,21
<b>Média</b>	<b>5.153 ± (0,29)</b>	<b>1.883 ± (0,45)</b>	<b>31,58 ± (5,49)</b>

Tabela 5: Áreas totais e necróticas dos retalhos, com porcentagem de necrose individuais dos animais do grupo da oxigenação hiperbárica.

## 15. ANEXO 4

### Normas para publicação do *Annals of Plastic Surgery*:

#### Ethical/Legal Considerations

A submitted manuscript must be an original contribution not previously published (except as an abstract or preliminary report), must not be under consideration for publication elsewhere, and must, if accepted, not be published elsewhere in similar form, in any language, without the consent of Lippincott Williams & Wilkins. Each person listed as an author is expected to have participated in the study to a significant extent. Although the editors and referees make every effort to ensure the validity of published manuscripts, the final responsibility rests with the authors, not with the Journal, its editors, or the publisher. The editorial office will acknowledge receipt of your manuscript and will give you a manuscript number for reference. Address all inquiries regarding manuscripts not yet accepted or published to the Journal's editorial office. All manuscripts must be submitted online through the journal's website at <http://sap.edmgr.com>. See submission instructions under "Online manuscript submission."

#### Patient anonymity and informed consent

It is the author's responsibility to ensure that a patient's anonymity be carefully protected and to verify that any experimental investigation with human subjects reported in the manuscript was performed with informed consent and following all the guidelines for experimental investigation with human subjects required by the institution(s) with which all the authors are affiliated. The protocol of the study must be approved by the Institutional Review Board (IRB) or the equivalent (eg, Research Ethics Board) where the study is conducted. Written releases from patients must accompany photographs in which the identity of the patient can be recognized. In the absence of such a release, an image must be cropped or partially obscured to the extent that the patient cannot be identified. Covering the eyes in a full-face photograph is not sufficient.

#### Conflicts of Interest and Copyright Transfer

Authors must state all possible conflicts of interest in the manuscript, including financial, consultative, institutional, and other relationships that might lead to bias or conflict of interest. If there is no conflict of interest, this should also be explicitly stated as "none declared." All sources of funding should be acknowledged in the manuscript. All relevant conflicts of interest and sources of funding should be included on the title page of the manuscript under the heading, "Conflicts of Interest and Source of Funding." For example:

Conflicts of Interest and Source of Funding: A has received honoraria from Company Z. B is currently receiving a grant (#12345) from Organization Y, and is on the speakers' bureau for Organization X – the CME organizers for Company A. For the remaining authors none were declared.

In addition, each author must complete and submit the journal's copyright transfer agreement, which includes a section on the disclosure of potential conflicts of interest based on the recommendations of the International Committee of Medical Journal Editors, "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" ([www.icmje.org/update.html](http://www.icmje.org/update.html)).

A copy of the form is made available to the submitting author within the Editorial Manager submission process. Co-authors will automatically receive an Email with instructions on completing the form upon submission.

#### Compliance with NIH and Other Research Funding Agency Accessibility Requirements

A number of research funding agencies now require or request authors to submit the post-print (the article after peer review and acceptance but not the final published article) to a repository that is accessible online by all without charge. As a service to our authors, LWW will identify to the National Library of Medicine (NLM) articles that require deposit and will transmit the post-print of an article based on research funded in whole or in part by the National Institutes of Health, Wellcome Trust, Howard Hughes Medical Institute, or other funding agencies to PubMed Central. The revised Copyright Transfer Agreement provides the mechanism.

#### Permissions

Authors must submit written permission from the copyright owner (usually the publisher) to use direct quotations, tables, or illustrations that have appeared in copyrighted form elsewhere, along with complete details about the source. Any permissions fees that might be required by the copyright owner are the responsibility of the authors requesting use of the borrowed material, not the responsibility of Lippincott Williams & Wilkins.

#### Clinical Trials

Manuscripts based on a prospective clinical trial should document the registration of the clinical trial. If the trial is not registered, the authors should provide reasons for this omission. The final decision of the relevance of trial registration to any manuscript will be made by the editor.

#### Manuscript Submission

##### Online manuscript submission

All manuscripts must be submitted on-line through the new Web site: <http://sap.edmgr.com>. First-time users: Please click the Register button from the menu and enter the requested information. On successful registration, you will be sent an e-mail indicating your user name and password. Print a copy of this information for future reference. Note: If you have received an e-mail from us with an assigned user ID and password, or if you are a repeat user, do not register again; simply log in. Once you have an assigned ID and password, you do not have to re-register, even if your status changes (that is, author, reviewer, or editor). Authors: Please click the log-in button from the menu at the top of the page and log into the system as an Author. Submit your manuscript according to the author instructions. You will be able to track the progress of your manuscript through the system. If you experience any problems, please contact: Jane Wood, Managing Editor, Annals of Plastic Surgery, e-mail: [willhermyone@aol.com](mailto:willhermyone@aol.com), or William C. Lineaweaver, MD, FACS, Editor-in-Chief, Annals of Plastic Surgery, e-mail: [william.lineaweaver@jmsburncenters.com](mailto:william.lineaweaver@jmsburncenters.com)

## Preparation of Manuscript

Manuscripts that do not adhere to the following instructions will be returned to the corresponding author for technical revision before undergoing peer review.

Articles submitted to the journal must be written with a solid basis of English language. If you need assistance in this area, listed below are a few companies who provide language and copyediting services. Use of an editorial service is at the discretion and cost of the authors, and will not guarantee acceptance for publication in the journal.

Please note: Appearance in the list of vendors does not represent endorsement by the publisher. Authors are encouraged to investigate each service on their own, as well as seek out additional vendors offering similar services.

American Journal Experts (Discount Available for LWW Journal Authors)

The Medical Editor

Text Check

Bio Science Writers

Boston BioEdit

ScienceDocs

In addition, Annals of Plastic Surgery adheres to the SAMPL guidelines for statistical information. A link to the SAMPL guidelines may be found at <http://www.equator-network.org/wp-content/uploads/2013/03/SAMPL-Guidelines-3-13-13.pdf>

Each of the following should be submitted as a separate document within the submission file

Cover letter: The cover letter should state the authors' intent to submit the article to Annals of Plastic Surgery, state the title of the article and authors' names, and contain any other information pertinent to the submission of the manuscript.

Title page: Include on the title page (a) complete manuscript title and a brief title for use as a running head; (b) authors' full names, highest academic degrees, and affiliations (limit of two); (c) name and address for correspondence, including fax number, telephone number, and e-mail address; (d) address for reprints if different from that of corresponding author; and (e) sources of support that require acknowledgment.

The title page must also include disclosure of funding received for this work from any of the following organizations: National Institutes of Health (NIH); Wellcome Trust; Howard Hughes Medical Institute (HHMI); and other(s).

Structured or unstructured abstract and key words: Limit the abstract to 350 words. It must be factual and comprehensive. Limit the use of abbreviations and acronyms, and avoid general statements (eg, "the significance of the results is discussed"). The abstract should summarize the problem presented, studies undertaken, results, and conclusions; it replaces a summary at the end of the article.

Text: Provide succinct internal headings to clarify the paper's organization. Cite all tables and illustrations in the text. Define abbreviations at first mention in text and in each table and figure. If a brand name is cited, supply the manufacturer's name and address (city and state/country). Acknowledge all forms of support, including pharmaceutical and industry support, in an Acknowledgments paragraph.

Abbreviations: For a list of standard abbreviations, consult the Council of Biology Editors Style Guide (available from the Council of Science Editors, 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814) or other standard sources. Write out the full term for each abbreviation at its first use unless it is a standard unit of measure.

References: The authors are responsible for the accuracy of the references. Key the references (double-spaced) at the end of the manuscript. Cite the references in text in the order of appearance. Cite unpublished data, such as papers submitted but not yet accepted for publication or personal communications, in parentheses in the text. If there are more than three authors, name only the first three authors and then use et al. Refer to the List of Journals Indexed in Index Medicus for abbreviations of journal names, or access the list at <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>. Sample references are given below:

#### Journal article

1. Lin S-D, Tsai C-C, Lai C-S, et al. Endoscope-assisted parotidectomy for benign parotid tumors. *Ann Plast Surg* 2000;45:269-273

#### Book chapter

2. Todd VR. Visual information analysis: frame of reference for visual perception. In: Kramer P, Hinojosa J., eds. *Frames of Reference for Pediatric Occupational Therapy*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999:205-256

#### Entire book

3. Kellman RM, Marentette LJ. *Atlas of Craniomaxillofacial Fixation*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999

## Software

4. Epi Info [computer program]. Version 6. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention; 1994

## Online journals

5. Friedman SA. Preeclampsia: a review of the role of prostaglandins. *Obstet Gynecol* [serial online]. January 1988;71:22-37. Available from: BRS Information Technologies, McLean, VA. Accessed December 15, 1990

## Database

6. CANCERNET-PDQ [database online]. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 1996. Updated March 29, 1996

## World Wide Web

7. Gostin LO. Drug use and HIV/AIDS [JAMA HIV/AIDS web site]. June 1, 1996. Available at: <http://www.ama-assn.org/special/hiv/ethics>. Accessed June 26, 1997

## Supplemental Digital Content

Supplemental Digital Content (SDC): Authors may submit SDC via Editorial Manager to LWW journals that enhance their article's text to be considered for online posting. SDC may include standard media such as text documents, graphs, audio, video, etc. On the Attach Files page of the submission process, please select Supplemental Audio, Video, or Data for your uploaded file as the Submission Item. If an article with SDC is accepted, our production staff will create a URL with the SDC file. The URL will be placed in the call-out within the article. SDC files are not copy-edited by LWW staff, they will be presented digitally as submitted. For a list of all available file types and detailed instructions, please visit <http://links.lww.com/A142>.

SDC Call-outs: Supplemental Digital Content must be cited consecutively in the text of the submitted manuscript. Citations should include the type of material submitted (Audio, Figure, Table, etc.), be clearly labeled as "Supplemental Digital Content," include the sequential list number, and provide a description of the supplemental content. All descriptive text should be included in the call-out as it will not appear elsewhere in the article.

Example:

We performed many tests on the degrees of flexibility in the elbow (see Video, Supplemental Digital Content 1, which demonstrates elbow flexibility) and found our results inconclusive.

List of Supplemental Digital Content: A listing of Supplemental Digital Content must be submitted at the end of the manuscript file. Include the SDC number and file type of the Supplemental Digital Content. This text will be removed by our production staff and not be published.

Example:

Supplemental Digital Content 1. wmv

SDC File Requirements: All acceptable file types are permissible up to 10 MBs. For audio or video files greater than 10 MBs, authors should first query the journal office for approval. For a list of all available file types and detailed instructions, please visit <http://links.lww.com/A142>.

Digital figures:

A) Creating Digital Artwork

Learn about the publication requirements for Digital Artwork: <http://links.lww.com/ES/A42>

Create, Scan and Save your artwork and compare your final figure to the Digital Artwork Guideline Checklist (below).

Upload each figure to Editorial Manager in conjunction with your manuscript text and tables.

B) Digital Artwork Guideline Checklist

Here are the basics to have in place before submitting your digital artwork:

Artwork should be saved as TIFF, EPS, or MS Office (DOC, PPT, XLS) files. High resolution PDF files are also acceptable.

Crop out any white or black space surrounding the image.

Diagrams, drawings, graphs, and other line art must be vector or saved at a resolution of at least 1200 dpi. If created in an MS Office program, send the native (DOC, PPT, XLS) file.

Photographs, radiographs and other halftone images must be saved at a resolution of at least 300 dpi.

Photographs and radiographs with text must be saved as postscript or at a resolution of at least 600 dpi.

Each figure must be saved and submitted as a separate file. Figures should not be embedded in the manuscript text file.

Remember:

Cite figures consecutively in your manuscript.

Number figures in the figure legend in the order in which they are discussed.

Upload figures consecutively to the Editorial Manager web site and enter figure numbers consecutively in the Description field when uploading the files.

Figure legends: Legends must be submitted for all figures. They should be brief and specific, and they should appear on a separate manuscript page after the references. Use scale markers in the image for electron micrographs, and indicate the type of stain used.

Color figures: The journal accepts for publication color figures that will enhance an article. Authors who submit color figures will receive an estimate of the cost for color reproduction. If they decide not to pay for color reproduction, they can request that the figures be converted to black and white at no charge.

Tables: Cite tables consecutively in the text, and number them in that order. Key each on a separate sheet, and include the table title, appropriate column heads, and explanatory legends (including definitions of any abbreviations used). Do not embed tables within the body of the manuscript. They should be self-explanatory and should supplement, rather than duplicate, the material in the text.

Style: Pattern manuscript style after the American Medical Association Manual of Style (10th edition), Stedman's Medical Dictionary (27th edition) and Merriam Webster's Collegiate Dictionary (11th edition) should be used as standard references. Refer to drugs and therapeutic agents by their accepted generic or chemical names, and do not abbreviate them. Use code numbers only when a generic name is not yet available. In that case, supply the chemical name and a figure giving the chemical structure of the drug. Capitalize the trade names of drugs and place them in parentheses after the generic names. To comply with trademark law, include the name and location (city and state in USA; city and country outside USA) of the manufacturer of any drug, supply, or equipment mentioned in the manuscript. Use the metric system to express units of measure and degrees Celsius to express temperatures, and use SI units rather than conventional units.

After Acceptance

Open access

LWW's hybrid open access option is offered to authors whose articles have been accepted for publication. With this choice, articles are made freely available online immediately upon publication. Authors may take advantage of the open access option at the point of acceptance to ensure that this choice has no influence on the peer review and acceptance process. These articles are subject to the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

Authors of accepted peer-reviewed articles have the choice to pay a fee to allow perpetual unrestricted online access to their published article to readers globally, immediately upon publication. The article processing charge for Annals of Plastic Surgery is \$2,500. The article processing charge for authors funded by the Research Councils UK (RCUK) is \$3,175. The publication fee is charged on acceptance of

the article and should be paid within 30 days by credit card by the author, funding agency or institution. Payment must be received in full for the article to be published open access.

#### Authors retain copyright

Authors retain their copyright for all articles they opt to publish open access. Authors grant LWW a license to publish the article and identify itself as the original publisher.

#### Creative Commons license

Articles opting for open access will be freely available to read, download and share from the time of publication. Articles are published under the terms of the Creative Commons License Attribution-NonCommercial No Derivative 3.0 which allows readers to disseminate and reuse the article, as well as share and reuse of the scientific material. It does not permit commercial exploitation or the creation of derivative works without specific permission. To view a copy of this license visit: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0>.

#### Compliance with NIH, RCUK and other research funding agency accessibility requirements

A number of research funding agencies now require or request authors to submit the post-print (the article after peer review and acceptance but not the final published article) to a repository that is accessible online by all without charge. As a service to our authors, LWW identifies to the National Library of Medicine (NLM) articles that require deposit and transmits the post-print of an article based on research funded in whole or in part by the National Institutes of Health, Howard Hughes Medical Institute, or other funding agencies to PubMed Central. The revised Copyright Transfer Agreement provides the mechanism. LWW ensures that authors can fully comply with the public access requirements of major funding bodies worldwide. Additionally, all authors who choose the open access option will have their final published article deposited into PubMed Central.

RCUK funded authors can choose to publish their paper as open access with the payment of an article process charge, or opt for their accepted manuscript to be deposited (green route) into PMC with an embargo.

With both the gold and green open access options, the author will continue to sign the Copyright Transfer Agreement (CTA) as it provides the mechanism for LWW to ensure that the author is fully compliant with the requirements. After signature of the CTA, the author will then sign a License to Publish where they will then own the copyright.

It is the responsibility of the author to inform the Editorial Office and/or LWW that they have RCUK funding. LWW will not be held responsible for retroactive deposits to PMC if the author has not completed the proper forms.

#### FAQ for open access

<http://links.lww.com/LWW-ES/A48>

Page proofs and corrections: Corresponding authors will receive electronic page proofs to check the copyedited and typeset article before publication. Portable document format (PDF) files of the typeset pages and support documents (eg, reprint order form) will be sent to the corresponding author by e-mail. Complete instructions will be provided with the e-mail for downloading and printing the files and for faxing the corrected page proofs to the publisher. Those authors without an e-mail address will receive traditional page proofs. It is the author's responsibility to ensure that there are no errors in the proofs. Changes that have been made to conform to journal style will stand if they do not alter the authors' meaning. Only the most critical changes to the accuracy of the content will be made. Changes that are stylistic or are a reworking of previously accepted material will be disallowed. The publisher reserves the right to deny any changes that do not affect the accuracy of the content. Authors may be charged for alterations to the proofs beyond those required to correct errors or to answer queries. Proofs must be checked carefully and corrections faxed within 24 to 48 hours of receipt, as requested in the cover letter accompanying the page proofs.

Reprints: Authors will receive a reprint order form and a price list with the page proofs. Reprint requests should be faxed with the corrected proofs, if possible. Reprints are normally shipped 6 to 8 weeks after publication of the issue in which the item appears. Contact the Reprint Department, Lippincott Williams & Wilkins, 351 W. Camden Street, Baltimore, MD 21201, fax: 410-528-4434, e-mail: [reprints@wolterskluwer.com](mailto:reprints@wolterskluwer.com) with any questions.

Publisher's contact: Fax corrected page proofs, reprint order form, and any other related materials to the Production Editor, at 877-705-1375