

**CRISTHIAN ENRIQUE ACEVEDO-BOGADO**

**EFEITO DA HIALURONIDASE SOBRE A VIABILIDADE  
DE RETALHOS CUTÂNEOS RANDOMIZADOS.  
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.**

**Dissertação apresentada à Universidade  
Federal de Santa Catarina para a obtenção  
do título de Mestre em Ciências Médicas.**

**FLORIANÓPOLIS**

**2001**


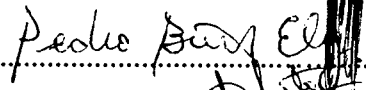

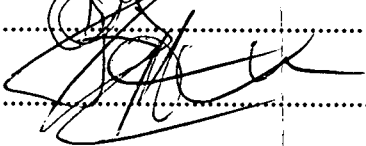


Universidade Federal de Santa Catarina  
 Centro de Ciências da Saúde  
 Mestrado em Ciências Médicas

**ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO**

**CANDIDATO: CRISTHIAN ENRIQUE ACEVEDO-BOGADO**

A partir das dezesseis horas do dia vinte e seis de setembro do ano dois mil e um, no Auditório do Laboratório de Técnica Operatória no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, a Comissão Examinadora, constituída pelos Professores Jorge Bins Ely, Pedro Bins Ely, José Mauro dos Santos, Zulmar Antônio Accioli Vasconcellos e Élcio Silva, como suplente, procedeu ao exame da Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno **CRISTHIAN ENRIQUE ACEVEDO-BOGADO**, intitulada **“EFEITO DA HIALURONIDASE NA SOBREVIDA DE RETALHOS CUTÂNEOS RANDOMIZADOS. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS”**. Após explanação feita pelo candidato, o mesmo foi argüido pela Comissão Examinadora, sendo aprovado com os seguintes conceitos, nos termos da Resolução 010/CUn/97 e Regimento Interno do Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas.

NOME:	ASSINATURA	CONCEITO
Prof. Dr. Jorge Bins Ely.....		A
Prof. Dr. Pedro Bins Ely .....		A
Prof. Dr. José Mauro dos Santos .....		A
Prof. Dr. Zulmar Antônio Accioli Vasconcelos.....		A

Florianópolis, 26 de setembro de 2001.

  
**Prof. Dr. Jorge Bins Ely**  
 Presidente da Comissão Examinadora



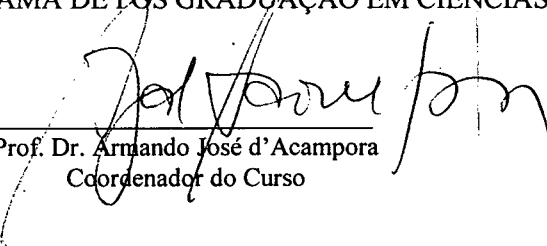


Universidade Federal de Santa Catarina  
Centro de Ciências da Saúde  
Mestrado em Ciências Médicas

  
CRISTHIAN ENRIQUE ACEVEDO-BOGADO

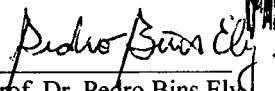
ESSA DISSERTAÇÃO FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE  
**MESTRE EM CIÊNCIAS MÉDICAS**


COM ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM **CLÍNICA CIRÚRGICA** E APROVADA EM SUA  
FORMA FINAL PELO PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

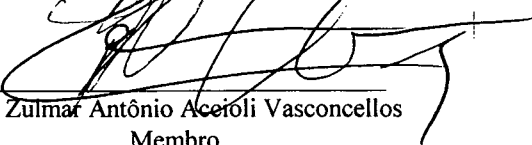
  
Prof. Dr. Armando José d'Acampora  
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Jorge Bins Ely  
Orientador

  
Prof. Dr. Pedro Bins Ely  
Membro

  
Prof. Dr. José Mauro dos Santos  
Membro

  
Prof. Zulmar Antônio Acefóli Vasconcellos  
Membro

Florianópolis, 26 de setembro de 2001.



**CRISTHIAN ENRIQUE ACEVEDO-BOGADO**

**EFEITO DA HIALURONIDASE SOBRE A VIABILIDADE  
DE RETALHOS CUTÂNEOS RANDOMIZADOS.  
ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.**

**Dissertação apresentada à Universidade  
Federal de Santa Catarina para a obtenção  
do título de Mestre em Ciências Médicas.**

**Coordenador do Curso: Prof. Armando José d'Acampora, M.D., Ph.D.**

**Orientador: Prof. Jorge Bins-Ely, M.D., Ph.D.**

**Co-orientador: Prof. Armando José d'Acampora, M.D., Ph.D.**

**FLORIANÓPOLIS**

**2001**

Acevedo-Bogado, Cristhian Enrique.

Efeito da hialuronidase sobre a viabilidade de retalhos cutâneos randomizados. Estudo experimental em ratos / Cristhian Enrique Acevedo-Bogado. - Florianópolis, 2001.

X, 63p.

Orientador: Jorge Bins-Ely.

Co-orientador: Armando José d'Acampora.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina -  
Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas.

1. retalhos cirúrgicos 2. hialuronoglucosaminidase 3. ratos wistar  
4. edema 5. necrose. I. Título.

*Ambyasygui nda ikatumo 'aveimaha aime pe nde apytépe,  
aropojai ko ñe 'ěpoty  
ahejáva ko kuatia tembiapópe.  
Sapy'a reintemo aha ha ndaikatuvéi a jevy jey,  
peikuaane ha upéi penemandu 'áne avei  
poguerekoha peěme ko che korasõ mbytépe.  
Aipotánte ko 'ága oĝuahě peěme  
ko che aguijé ipaha 'yva.*

Certo de não poder permanecer com vocês,  
aproveito para deixar estas palavras  
que ficarão grafadas neste trabalho.  
Se por acaso não voltar,  
então saberão e lembrarão  
que os tenho cravados no coração.  
Apenas quero neste momento  
que recebam meu eterno agradecimento.

Este trabalho é dedicado

À minha mãe **VICTÓRIA BLANCA BOGADO de ACEVEDO**

e meu pai **LAUTARO ACEVEDO CÁCERES,**

que me ensinaram o valor da vida

e cultivaram em mim o respeito ao ser humano,

por ter a paciência de me encaminhar na procura da verdade;

aos meus irmãos **MARIA ESTER** (*in memoriam*), **FELIPE ALBERTO,**

**EMILCE CARMEN, RAMÓN ARNALDO e LUÍS CÉSAR,**

pelo grande esforço demonstrado na minha formação acadêmica e intelectual

e o apoio constante recebido através da distância.

Ao **BRASIL** e seu maravilhoso povo, por ter me acolhido como um filho a mais, e  
dado a oportunidade de dividir experiências e momentos que jamais serão  
esquecidos.



## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

Ao professor **JORGE BINS-ELY – M.D., Ph.D.**, professor adjunto do Departamento de Clínica Cirúrgica e chefe da Disciplina Optativa de Cirurgia Plástica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), meu orientador, por ter acreditado em mim, mesmo nos momentos mais difíceis.

Ao professor **ARMANDO JOSÉ d'ACAMPORA – M.D., Ph.D.** Coordenador do Curso de Mestrado em Ciências Médicas da UFSC, professor adjunto do departamento de Clínica Cirúrgica e chefe da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental (TOCE) da UFSC, meu co-orientador, por ter viabilizado a infra-estrutura do laboratório da TOCE para a realização do presente trabalho.

Ao professor **RODRIGO d'EÇA NEVES – M.D.**, chefe do Núcleo de Cirurgia Plástica do Hospital Universitário, pela oportunidade da realização do Curso de Mestrado, e o empenho demonstrado na minha formação como cirurgião plástico.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos acadêmicos **JULIANA RIZZATTI**, **LUIS ANTÔNIO RIGO DE CARVALHO**, **MARK MAKOWIECKY** e **RODRIGO CAVALHEIRO** que colaboraram durante a fase experimental da pesquisa.

Aos senhores **LUIZ HENRIQUE PRAZERES**, **CHARLES VEIGA** e **JAIMAR GONÇALVES DA SILVA**, pela desinteressada ajuda prestada no laboratório da TOCE em meses de trabalho de pesquisa.

À secretaria do mestrado, em particular a Sra. **TÂNIA REGINA TAVARES FERNANDES** e Sr. **IVO DEDICÁCIO SOARES**, pela paciência e entrega demonstrada nestes dois anos de atividade acadêmica.

Aos funcionários do Biotério Central da UFSC, e em especial a sua diretora, **JOANÉSIA MARIA JUNKES ROTSTEIN**, pela colaboração no fornecimento dos animais para a pesquisa.

À professora **SILVIA MODESTO NASSAR** e professor **PAULO FONTOURA FREITAS**, pela avaliação estatística dos dados desta pesquisa.

Ao médico veterinário **GERALDO JORGE SEVERGNINI BERNARDES**, pela correção do trabalho no idioma português.

Ao professor **CARLOS ALBERTO JUSTO DA SILVA** diretor do Centro de Ciências da Saúde da UFSC, pelas didáticas aulas que reforçaram meu entusiasmo pelo ensino médico.

Aos doutores, professores **ERNESTO FRANCISCO DAMERAU, NEWTON MACUCO CAPELLA, WILMAR DE ATHAYDE GERENTE, FERNANDO OSNI MACHADO** e **ALVIN LAEMMEL**, do Hospital Universitário da UFSC, pela amizade e o carinho demonstrado durante a minha permanência no Brasil.

Ao professor **CARLOS ALBERTO DA SILVA JUNIOR**, que colaborou na coleta de material de referência bibliográfica.

Aos doutores **VILBERTO JOSÉ VIEIRA, STELLA CRESCENTI ABDALLA, PAULO ROBERTO DA SILVA MENDES, ZULMAR ANTÔNIO ACCIOLI DE VASCONCELOS, KÁTIA MELO MACHADO, LUCIANO VARGAS SCHUTZ, ROGÉRIO FLEISCHHAUER, ANDRE FERNANDO PRADI, CHRISTIAN FERRO MACEDO, JÚLIO CEZAR GOELZER, EDUARDO FERNANDES FRAGA, ANDRÉ DE MIRANDA GOMES**, do Núcleo de Cirurgia Plástica do Hospital Universitário da UFSC, que me acompanharam durante a minha formação em cirurgia plástica, e estimularam a realização do Curso de Mestrado.

Aos meus amigos e colegas, professor **ALEJANDRO BIBOLINI PECCI**, professor **VICENTE ZAPUTOVICH SARUBI**, doutor **JESÚS MARIA AMARILLA NUÑEZ**, doutor **GREGÓRIO MARTÍNEZ BENÍTEZ** e doutor **ATILIO ESTECHE**, que me incentivaram na procura de melhores horizontes para aprimorar a minha formação.

Aos meus professores da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nacional de Assunção e, em especial, aos professores **DELFOR BOGGINO VILLALONGA** (*in memoriam*), **RAUL ÁVILA**, **LORENZO RICCIARDI GILL**, **DAVID VANUNO SARAGUSTTI**, **JOAQUIM VILLALBA ACOSTA**, **RICARDO MORENO AZORERO**, pelo seu espírito empreendedor que inspirou a minha procura por uma formação acadêmica superior.

Aos meus colegas doutores **ALBERTO CARDOZO BASILI**, **CÉSAR PIMIENTA IRALA**, **ALBERTO JOU ONTANO**, **VICTOR GADEA**, **JUAN FERNANDO IBARRA ACOSTA**, **JUAN MANUEL FERNÁNDEZ**, **AGUSTÍN SALVIVAR**, **MARÍA ESTER ACEVEDO**, **JUAN FRANCISCO RECALDE**, **JAVIER ANÍBAL GÓMEZ SILVA**, **LAURA GUADALUPE ROLÓN GREGÓRIO**, **JORGE CÓRDOVA**, **ROGER GUSTAVO MEDINA CABRAL**, **MIRIAM AGUILAR** e **REINALDO CARDOZO VARGAS**, que sempre acompanharam meu entusiasmo na procura de conhecimentos científicos.

Às pessoas que, de algum modo, me incentivaram durante a minha permanência em Florianópolis, incluindo a **CARLOS JORGE FIGUEREDO CABALLERO, CARLOS MARIA DANCONA VIEIRA, SUSANA MELGAREJO DANCONA, RAFAEL ESPÍNOLA FLORENTÍN, CLAUDIA ESPÍNOLA, CÉSAR GODOY, VÍCTOR BOGADO, WENCESLAO GIMÉNEZ, RUBÉN DARÍO CARDOZO, BASÍLIO MORA, FELIPE AVELINO BERGMANN**, e em especial a **MARCIA CRISTINA AVELINO**, quem tem me apoiado e incentivado mesmo antes de ter sido aceito para a realização do Curso de Mestrado.

# ÍNDICE

<b>RESUMO</b>	<b>1</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>2</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>3</b>
<b>2. OBJETIVO</b>	<b>6</b>
<b>3. MÉTODO</b>	<b>7</b>
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>24</b>
<b>5. DISCUSSÃO</b>	<b>32</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b>	<b>42</b>
<b>7. REFERÊNCIAS</b>	<b>43</b>
<b>NORMAS ADOTADAS</b>	<b>47</b>
<b>APÊNDICE</b>	<b>48</b>
<b>ANEXO</b>	<b>59</b>

## RESUMO

**Introdução:** O insucesso de retalhos cutâneos devido à necrose total ou parcial não é um evento raro. O edema pode ser um fator importante na perda do retalho. A hialuronidase degrada o ácido hialurônico presente no tecido conjuntivo que está envolvido na homeostase da água na matriz extracelular, e pode ser importante no aumento da viabilidade de retalhos cutâneos.

**Objetivo:** Avaliar o efeito da hialuronidase sobre a viabilidade de retalhos cutâneos randomizados em ratos.

**Método:** 42 ratos *Wistar* distribuídos em quatro grupos foram incluídos na pesquisa. Praticou-se um retalho randomizado de 2 x 7 cm no dorso do animal. Três grupos receberam tratamento pós-operatório durante 4 dias. O Grupo A (n=11) recebeu 100 UI/dia de hialuronidase, o Grupo B (n=11) 50 UI/dia de hialuronidase e o Grupo C (n=10) água destilada. O Grupo D (n=10) não recebeu tratamento. Foi avaliada a área de necrose e submetido a análise estatística.

**Resultados:** As taxas de necrose no 7º PO foram: no Grupo A 38,69% ( $\pm$  9,26), Grupo B 38,20% ( $\pm$  15,05), Grupo C 51,97% ( $\pm$  8,37) e Grupo D 45,90% ( $\pm$  12,57). Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre os Grupos A e B quando comparados com o Grupo C. Não houve diferença estatisticamente significativa dos Grupos A e B em comparação com o Grupo D.

**Conclusão:** No modelo experimental do presente trabalho, a hialuronidase demonstra-se efetiva em aumentar a viabilidade de retalhos cutâneos randomizados em ratos, quando o fator edema encontra-se envolvido no processo, o que sugere um provável mecanismo de redução do componente edematoso.

## SUMMARY

**Introduction:** Skin flap failure related to total or partial necrosis is not a rare event. Edema could be an important factor on flap losing. Hyaluronidase breaks down the hyaluronic acid existing in the connective tissue, which is involved on water homeostasis of intercellular ground substance, and may be important on increasing flap survival.

**Objective:** To evaluate the effect of hyaluronidase on cutaneous flap survival in rats.

**Method:** 42 *Wistar* rats divided in four groups were included in this study. It was made a 2 x 7 cm random flap in the dorsal aspect of the animal. Three groups received post-operative treatment during four days. Group A (n=11) received 100 UI per day of hyaluronidase, Group B (n=11) 50 UI per day and Group C (n=10) received distilled water. Group D (n=10) was not treated. It was evaluated the necrosis area which were statistically analyzed.

**Results:** Necrosis rates on 7<sup>th</sup> day were 38,69% ( $\pm 9,26$ ) in the Group A, 38,20% ( $\pm 15,05$ ) in the Group B, 51,97% ( $\pm 8,37$ ) in the Group C and 45,90% ( $\pm 12,57$ ) in the group D. There was found difference with statistical significance ( $p < 0,05$ ) between Groups A and B when compared with the Group C. There was no statistical difference when compared Groups A and B with Group D.

**Conclusion:** In the rat model of this work, hyaluronidase was found effective on increasing random cutaneous flap survival when infiltration factor was involved, and this suggests a reduction of edema to be the provable mechanism.



# 1. INTRODUÇÃO

Na prática diária do cirurgião plástico são comuns situações que desafiam a argúcia do profissional na busca de soluções às queixas dos pacientes. Uma delas é o mau resultado com retalhos utilizados para reparação de áreas cruentas, em consequência às necroses totais ou parciais, que levam a situações desagradáveis para o paciente e provocam desânimo no cirurgião. Na busca de soluções que evitem este tipo de situação, tem-se realizado um número apreciável de pesquisas tanto experimentais quanto clínicas com resultados alentadores em alguns casos e desconcertantes em outros.

Uma das causas deste insucesso é atribuída à ocorrência de edema devido ao acúmulo de líquido no espaço extracelular, resultante da ação de dois fenômenos: (1) extravasamento anormal de líquido do plasma para os espaços intersticiais através das paredes dos capilares, e (2) falha dos linfáticos em reabsorver este líquido do interstício para a corrente circulatória. A causa mais comum deste acúmulo é o excesso de filtração de líquido nos capilares<sup>1</sup>.

Sabe-se que qualquer fator que aumente a pressão capilar (como o retorno venoso dificultado) e a permeabilidade capilar (como a isquemia prolongada), aumentará a filtração. Os dois fenômenos podem ocorrer em um retalho, principalmente, se a relação largura-comprimento estiver acentuada. Se os linfáticos, que também se encontram diminuídos, não conseguem absorver o líquido acumulado no interstício, haverá ainda mais edema. Em contrapartida, pode-se inferir que, diminuindo a pressão coloidosmótica do interstício, a filtração (e por consequência o edema) poderia ser atenuada.

No interstício se encontram dois tipos de estruturas sólidas: (1) os feixes de fibras colágenas e (2) filamentos de proteoglicanos, que são moléculas espiraladas, extremamente delgadas formadas por cerca de 98% de ácido hialurônico<sup>2</sup>.

O ácido hialurônico é um polissacarídeo de alto peso molecular encontrado na matriz extracelular, especialmente em tecidos conectivos como gelatina de WHARTON do cordão umbilical, pele, aorta, humor vítreo, cartilagem articular e núcleo pulposo; ao qual se atribui várias funções como o equilíbrio da água na matriz extracelular e no plasma<sup>3,4,5,6,7</sup>. É sintetizado por fibroblastos e outras células de tecidos conjuntivos especializados como condrócitos<sup>3</sup>. Possui um alto peso molecular (estimado em  $7 \times 10^6$  DALTON no líquido sinovial), contendo, em uma estrutura linear, resíduos alternantes de N-acetil D-glicosamina e ácido D-glucurônico unidos por ligações [beta] (1-4) e [beta] (1-3)<sup>6,7</sup>. Diferencia-se de outros glicosaminoglicanos, devido à sua estrutura primária, onde não existem peptídeos, e sua síntese, que se verifica na membrana plasmática e não no aparelho de GOLGI<sup>5</sup>.

As conseqüências das mudanças na concentração de ácido hialurônico, ou degradação de seus polímeros, foram demonstradas por DURAN-REYNALS<sup>8</sup> como um “fator de expansão” obtido de extrato de testículos que disseminava a tinta da Índia e outras tinturas e microorganismos na pele, mas foi apenas em 1940 reconhecido que esse fenômeno devia-se ao efeito enzimático da hialuronidase<sup>4,5</sup>.

A hialuronidase é uma enzima que degrada o ácido hialurônico<sup>3,4</sup>. Quimicamente, trata-se de uma “hidrolase” com peso molecular de 60.000 DALTON, encontrada especialmente nos extratos de testículos e no esperma, mas também no baço, olhos, pele, rins, fígado, musculatura esquelética, útero, placenta, ovários, secreção nasal, no líquido lacrimal e também na parte posterior da hipófise<sup>4</sup>. Foi encontrada no sangue, especialmente de pacientes portadores de tumores malignos<sup>4,9</sup>. Através da divisão do ácido hialurônico é reduzida a viscosidade da substância de ligação intercelular, a qual possui como componentes principais o ácido hialurônico e o ácido condroitino – sulfuroso, sem causar redução do colágeno<sup>4</sup>, embora GODEAU e ROBERT afirmem que a injeção intradérmica de hialuronidase em coelhos age sobre proteoglicanos que são degradados e as ligações de colágeno dissociados<sup>10</sup>.

O acúmulo do ácido hialurônico pode causar edema intersticial e disfunções em vários órgãos. Alguns estudos sugerem que o ácido hialurônico é de importância crítica na formação de edema após transplante renal e que a hialuronidase pode reduzir esta ocorrência melhorando a sobrevida dos órgãos transplantados<sup>11</sup>.

Tem-se observado mudanças morfológicas depois de injeções intradérmicas de hialuronidase, confirmando a habilidade desta enzima em influenciar a composição e estrutura da derme<sup>10</sup>. Demonstrou-se, clínica e experimentalmente, que a hialuronidase reduz os efeitos da isquemia tecidual em infarto de miocárdio e choque hemorrágico<sup>12,13,14</sup>, assim como em infartos cerebrais experimentais<sup>15</sup>. A proteção contra a necrose induzida pelo extravasamento de substância esclerosante foi testada em um experimento controlado, evidenciando-se a efetividade da hialuronidase e concluindo-se que a dose eficaz é de 75 UI, e que maiores doses não proporcionavam uma maior proteção<sup>16</sup>.

A hialuronidase tem sido utilizada em pesquisas clínicas em humanos combinada com anestésicos locais para melhorar a penetração e a duração da ação, especialmente em anestesia peribulbar<sup>17,18,19</sup>, assim como em cirurgias cutâneas<sup>20,21</sup>.

Diversos trabalhos envolvendo a hialuronidase em outros aspectos fisiopatológicos têm sido realizados, o que dá uma idéia da importância e versatilidade desta enzima<sup>22,23</sup>.

Sendo a hialuronidase uma droga de uso em humanos, com indicações em algumas disciplinas cirúrgicas, com estudos experimentais suportam a sua importância em retalhos cutâneos (quando que já passaram 18 anos desde estes estudos), chamou a atenção deste pesquisador a falta de estudos clínicos dando continuidade a estes trabalhos. Planejou-se esta pesquisa experimental no intuito de corroborar os achados destas pesquisas e sustentar, no futuro, trabalhos clínicos a fim de avaliar o efeito da hialuronidase sobre a viabilidade de retalhos cutâneos randomizados.

## **2. OBJETIVO**

Avaliar o efeito da hialuronidase sobre a viabilidade de retalhos cutâneos randomizados em ratos.

### 3. MÉTODO

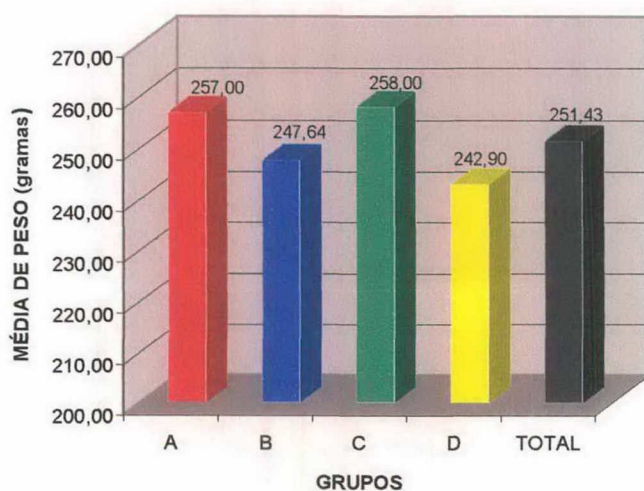
#### 3.1. AMOSTRA:

Foram utilizados 42 ratos da espécie *rattus norvegicus*, da linhagem *Wistar*, fêmeas, com idade média de 180 ( $\pm 30$ ) dias, com peso entre 182 e 294 gramas, média de 251,43 ( $\pm 20,89$ ) (Tabela 1), procedentes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

**Tabela 1.** Média e desvio padrão (DP) dos pesos nos diferentes grupos.

GRUPO	N	MÉDIA	DP
A (100 UI/dia HLD)	11	257,00	16,96
B (50 UI/dia HLD)	11	247,64	27,71
C (água destilada)	10	258,00	16,01
D (sem infiltração)	10	242,90	19,38
TOTAL	42	251,43	20,89

Na Figura 1 se representam os dados de pesos da Tabela 1.



**Figura 1.** Média de pesos dos diferentes grupos.

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental (TOCE) da UFSC e os animais permaneceram durante duas semanas, prévias ao procedimento operatório, expostos à temperatura ambiente, sob luz natural e em condições de ruído consideradas como satisfatórias. Foi fornecida ração própria para a espécie, com acesso livre à dieta e água durante o experimento e foram mantidos em gaiolas individuais de 16,5 x 33 x 40 cm.

### **3.2. PROCEDIMENTOS:**

Todos os animais foram catalogados e numerados. Foi realizado, em uma primeira fase, um experimento piloto com 10 ratos para testar o procedimento, o padrão e extensão da área de necrose e outros aspectos cirúrgicos relevantes para o desenvolvimento da pesquisa (dificuldades técnicas, tempo operatório, treinamento). Foi também testado o protocolo e o sistema de informática para a medição da área de necrose.

Durante o experimento piloto procurou-se definir um retalho com comprimento e largura que produzisse uma área de necrose entre 20 e 40% e que facilitasse a observação da evolução do mesmo. Assim, foram testados retalhos de diferentes dimensões, entre elas 1,5 x 7,5 cm e 1,5 x 6,5 cm, que resultaram estreitos demais e com grande tendência à necrose. Posteriormente um retalho de 2 x 6 cm pareceu resultar adequado, se não fosse por um caso em que não ocorreu nenhuma área de necrose. Finalmente, aumentou-se o comprimento e, entre retalhos de 2 x 8 cm, e 2 x 7 cm, foi escolhido este último, adequando-se às exigências da pesquisa.

No pós-operatório (PO) do experimento piloto evidenciou-se um grau variável de contração da área de necrose, pelo que decidiu-se utilizar a porção com menor variabilidade, que foi a área do retalho que não sofreu necrose, para realizar aferição quanto à superfície e porcentagem de área.

Na seguinte fase os 42 ratos foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos: Grupo A (n=11), Grupo B (n=11), Grupo C (n=10) e Grupo D (n=10).

Os grupos, assim definidos, tiveram o seguinte tratamento:

**GRUPO A:** Foram infiltrados 2 ml de hialuronidase 50 UI/ml (total de 100 UI/dia), no pós-operatório imediato e nas 24, 48 e 72 horas seguintes ao procedimento operatório.

**GRUPO B:** Foram infiltrados 2 ml de hialuronidase 25 UI/ml (total de 50 UI/dia), no pós-operatório imediato e nas 24, 48 e 72 horas seguintes ao procedimento operatório.

**GRUPO C:** Foram infiltrados 2 ml de água destilada por dia, no pós-operatório imediato e nas 24, 48 e 72 horas seguintes ao procedimento operatório.

**GRUPO D:** O Grupo *SHAM* não recebeu infiltração de nenhuma substância, apenas foi feita a elevação do retalho e sutura.

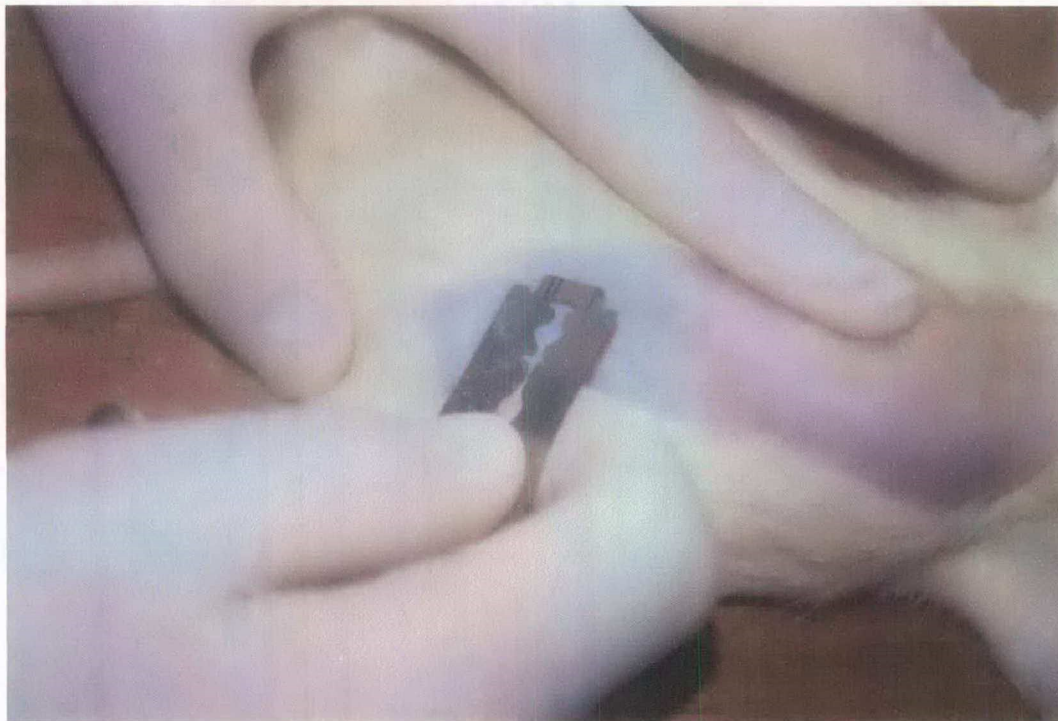
**Procedimento de Anestesia:** Os animais foram submetidos à inalação de Éter Etílico com efeito sedativo e, depois, anestesia geral com uma solução de Pentobarbital sódico 3% (HYPNOL<sup>®(a)</sup>) e cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6dihidro-4H-1,3 - tiazina (ROMPUN<sup>®(b)</sup>), nas doses de 30 mg/kg e 0,20 mg/kg respectivamente, administrada por via intraperitoneal.

---

<sup>(a)</sup> HYPNOL<sup>®</sup>: especialidade farmacêutica produzida pelo laboratório FONTOVETER.

<sup>(b)</sup> ROMPUN<sup>®</sup>: especialidade farmacêutica produzida pelo laboratório BAYER.

**Procedimento operatório do retalho cutâneo randomizado:** Após identificação e aferição de peso, os animais foram depilados ao nível do dorso direito. Este ato foi realizado com lâmina de barbear e não por arrancamento dos pêlos para evitar trauma prévio no retalho (Figura 2).



**Figura 2.** Procedimento de depilação realizado delicadamente com lâmina da barbear para deixar exposta a região dorsal direita do rato.



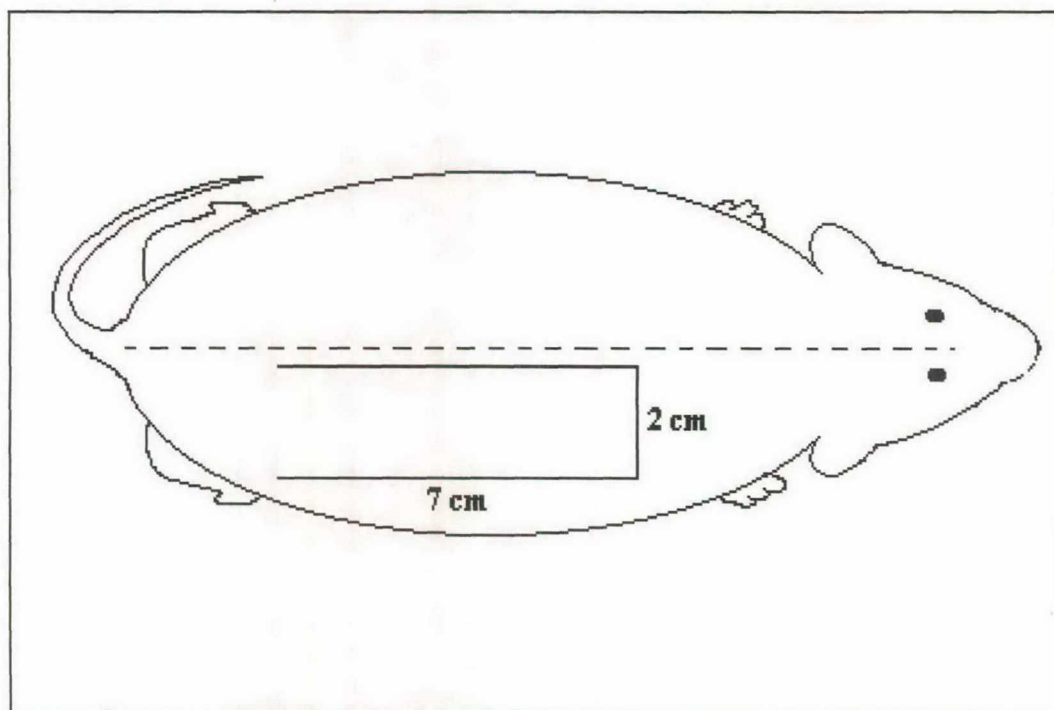
Com caneta dermográfica, foi desenhado um retalho cutâneo de 7 cm x 2 cm, na região dorsal direita do rato (Figura 3). Devido a que o animal apresenta um alto grau de elasticidade da pele, principalmente no sentido céfalo-caudal, para realizar a medição do retalho aguardou-se que ele estivesse bem relaxado e não se realizou nenhuma manobra de esticar a pele. Estas dificuldades foram sentidas ainda no experimento piloto, razão pela qual este procedimento foi realizado por uma única pessoa, para homogeneizar quaisquer erros de aferição.

O rato foi colocado em posição de decúbito ventral com os membros amarrados (Figura 4).

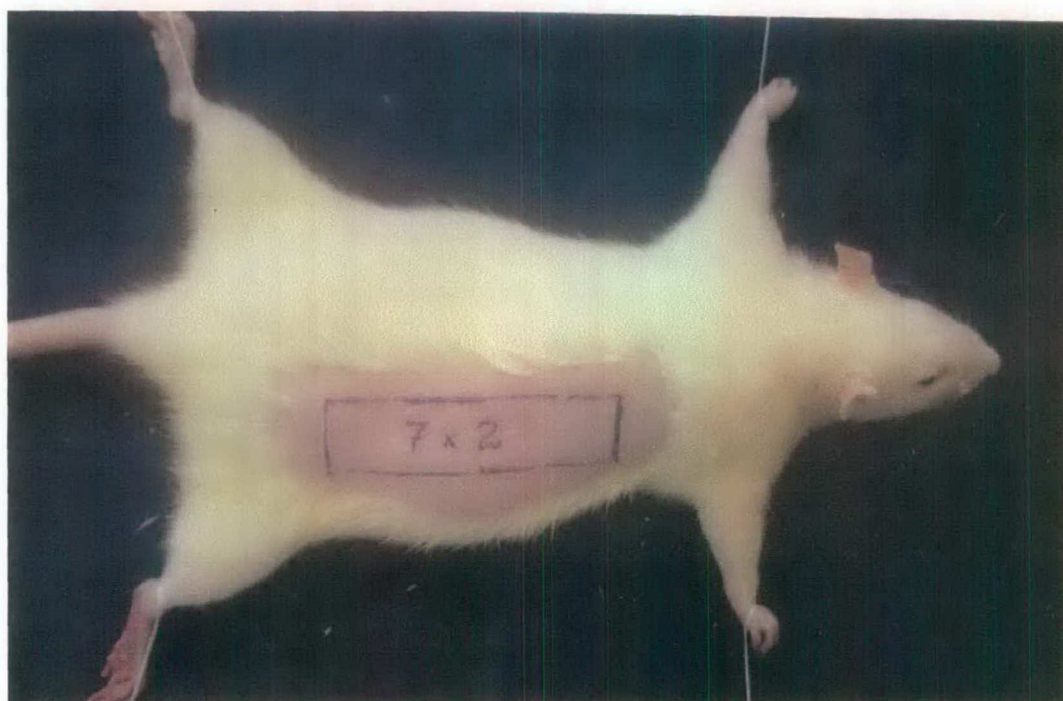
Foi realizada incisão da pele com lâmina de bisturi de numero 15, em toda sua espessura, e descolado do plano muscular profundo (Figura 5). A circulação do retalho ficou apenas mantida por um pedículo caudal cutâneo do tipo randomizado (Figura 6).

Não foi realizada hemostasia com eletrocoagulador, visando evitar qualquer tipo de dano vascular no retalho.

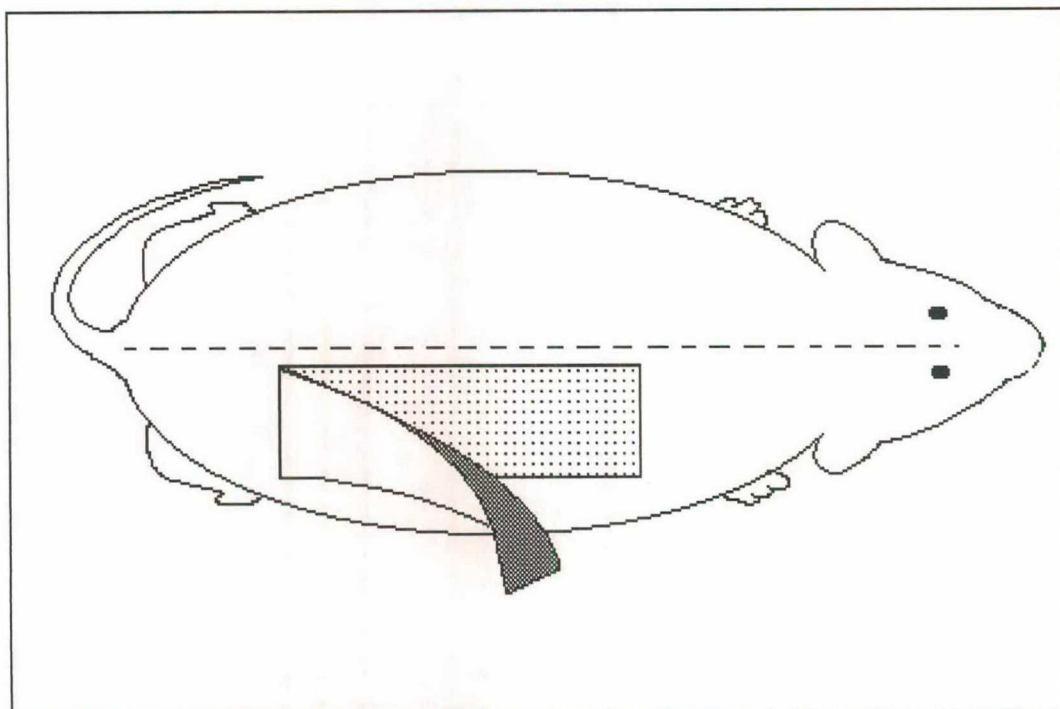
Para a síntese foram utilizados instrumentais delicados, como pinça de Adson com dentes. Assim o retalho foi reposicionado no seu leito original, acomodado e fixado com pontos de reparo e finalmente suturado com pontos contínuos com fio náilon 6-0 (Figuras 7 e 8).



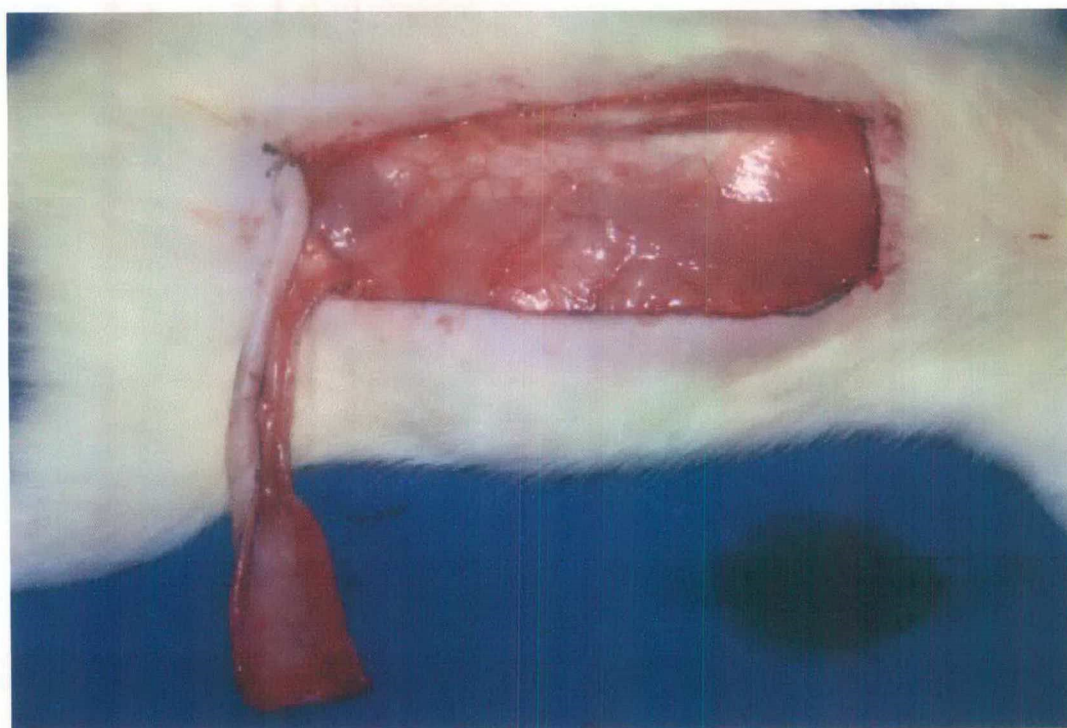
**Figura 3.** Desenho esquemático do retalho cutâneo com suas dimensões. O retalho foi localizado no lado direito sem ultrapassar a linha média.



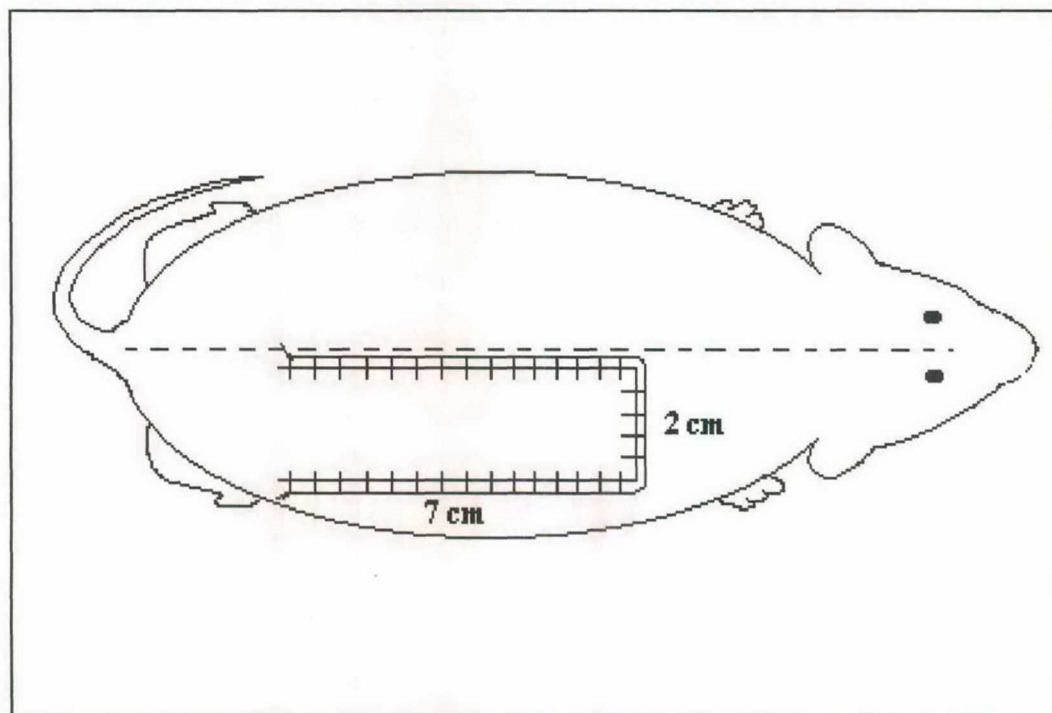
**Figura 4.** Rato em posição de decúbito ventral com o dorso depilado e as patas amarradas. O retalho foi desenhado com caneta dermatográfica.



**Figura 5.** Desenho esquemático do retalho cutâneo incisado e descolado do plano muscular profundo com pedículo caudal.



**Figura 6.** Rato em posição de decúbito ventral com retalho elevado. Um pedículo localizado caudalmente e do tipo randomizado mantém a vascularização do retalho.

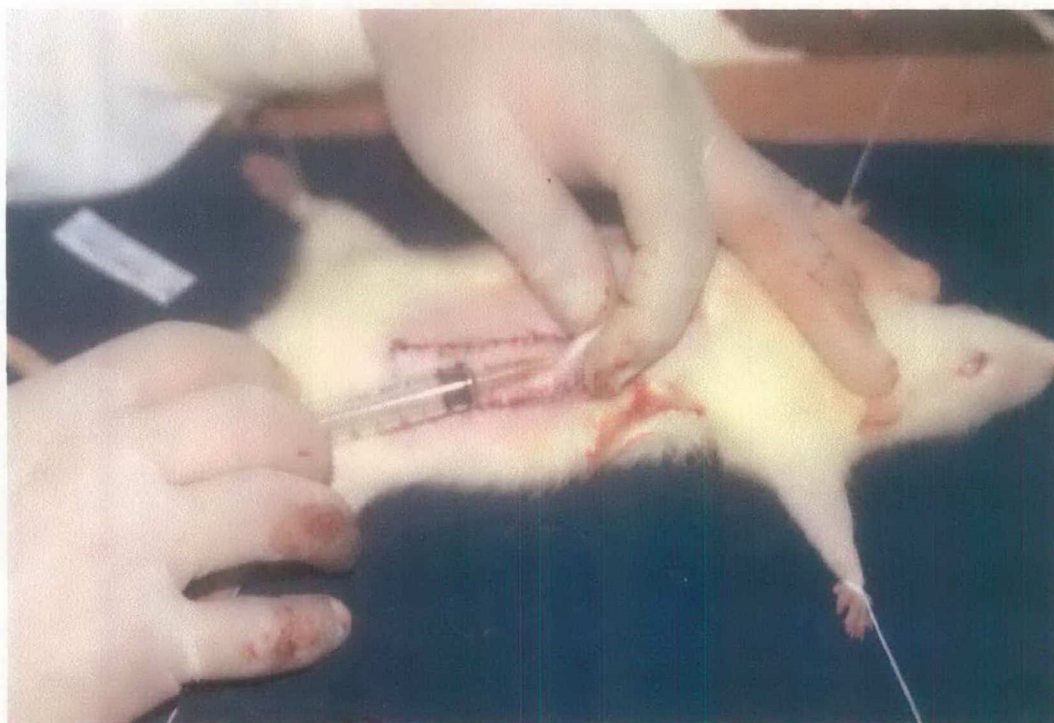


**Figura 7.** Desenho esquemático do retalho cutâneo devolvido a seu leito original, e suturado com fio náilon 6-0.

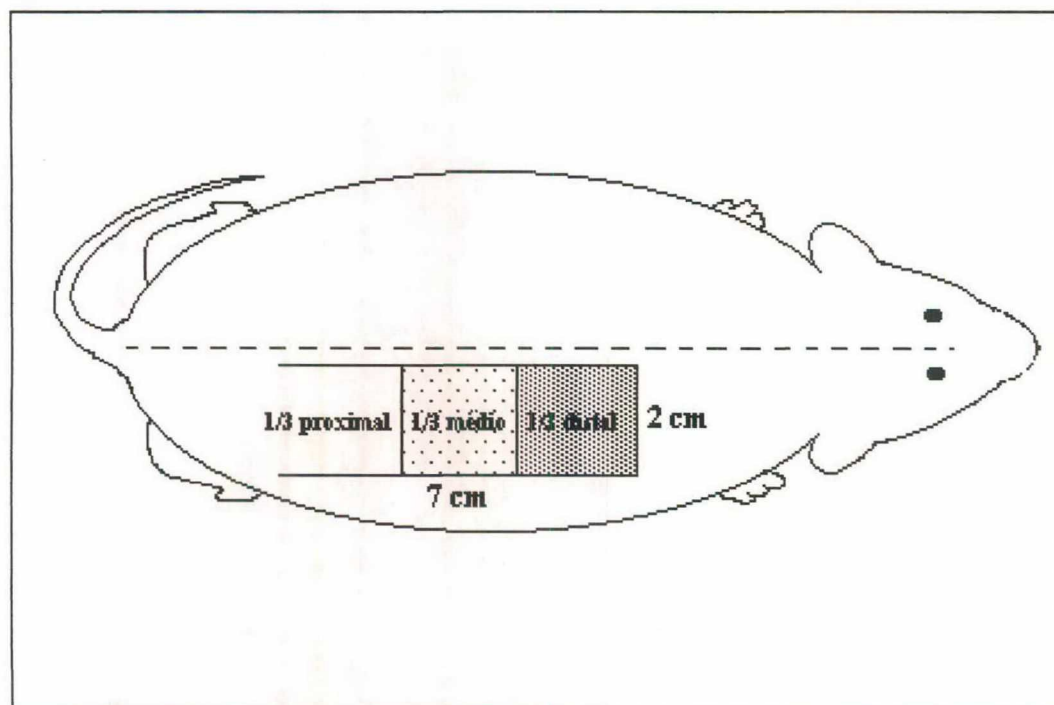


**Figura 8.** Rato em decúbito ventral com retalho suturado no seu leito original. Foi realizada sutura contínua com fio náilon 6-0.

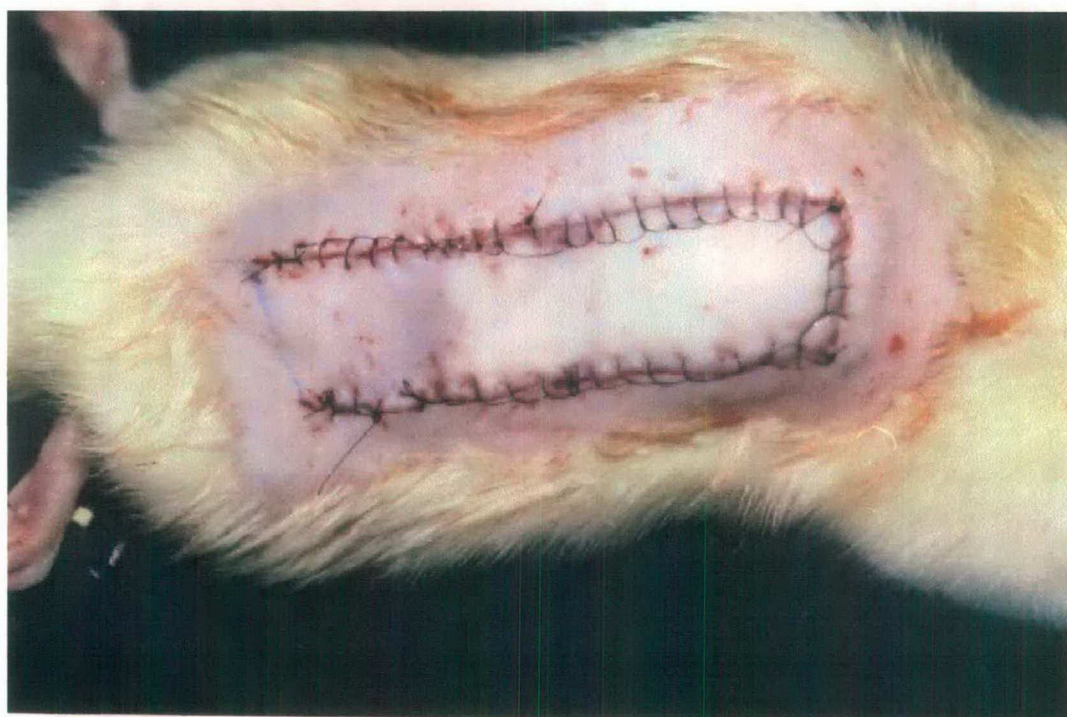
**Procedimento pós-operatório:** Imediatamente após finalizada a operação foi realizada infiltração no retalho, com 2 ml de solução com 100 UI/dia hialuronidase, 50 UI/dia hialuronidase ou água destilada, segundo correspondia a cada grupo (Figura 9). Esta mesma quantidade foi novamente infiltrada após 24, 48 e 72 horas, e, distribuída no retalho, sendo que 2/3 foi colocado no 1/3 distal, e 1/3 no 1/3 médio (Figuras 10 e 11).



**Figura 9.** Após o término do procedimento operatório foi realizada a infiltração do retalho cutâneo. Uma manobra de prensão digital foi utilizada para facilitar a introdução da agulha.



**Figura 10.** Desenho esquemático das regiões do retalho cutâneo que foram infiltradas. No terço médio infiltraram-se 1/3 da quantidade total, e o restante foi colocado no terço distal.



**Figura 11.** Retalho após infiltração. Observa-se uma área embranquecida correspondente à área infiltrada.

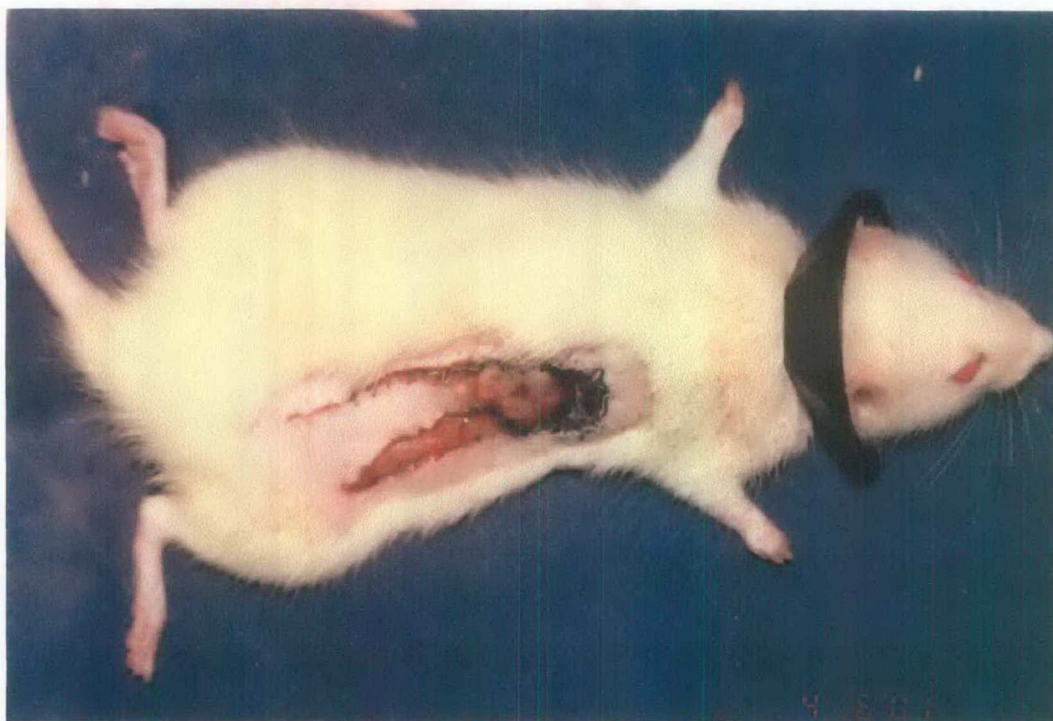
Mesmo nas áreas com sinais de sofrimento ou necrose foi feita infiltração em um nível mais profundo, por debaixo de áreas com escaras e não apenas na área viável. No Grupo *SHAM* ou simulado (Grupo D), foi feita apenas a elevação do retalho e sutura, sem infiltração alguma.

Um colar cervical, com formato tubular, foi confeccionado com a finalidade de evitar a autofagia do retalho. Mesmo assim, os ratos, que têm uma mobilidade que lhes possibilita virar o segmento cefálico até a cauda, com um pivô localizado não no pescoço, mas nas primeiras vértebras torácicas, têm conseguido atingir o retalho com os dentes (Figura 12).



**Figura 12.** Momento em que o rato, mesmo com colar cervical, gira até atingir o retalho. Um pivô localizado na região torácica lhe possibilita uma fácil mobilização.

Apesar do uso destes colares, observou-se autofagia em alguns animais obrigando à substituição por outros ratos (Figura 13).



**Figura 13.** Autofagia do retalho mesmo com colar cervical, do tipo elisabetano. Estes eventos obrigaram a substituição do animal.

No decorrer do experimento foi testado outro colar, do tipo elisabetano, de plástico, com formato cônico, preconizado por BINS-ELY, MILTERSTEINER, HOFF e d'ACAMPORA<sup>24</sup>, mas só evitou-se a autofagia através de um duplo colar, ambos de formato cônico: o primeiro supracitado, e outro maior, feito de filme de acetato (de radiografias) (Figuras 14 e 15).



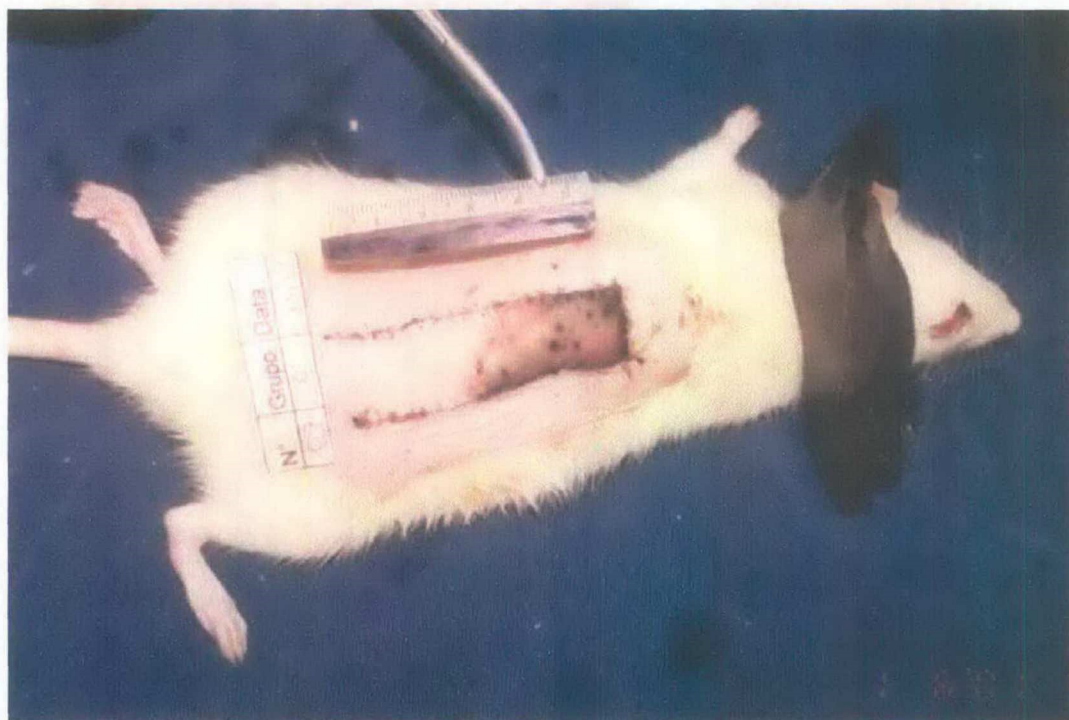


Figura 14. Rato com duplo colar cervical, dispositivo que impediu novos casos de autofagia.

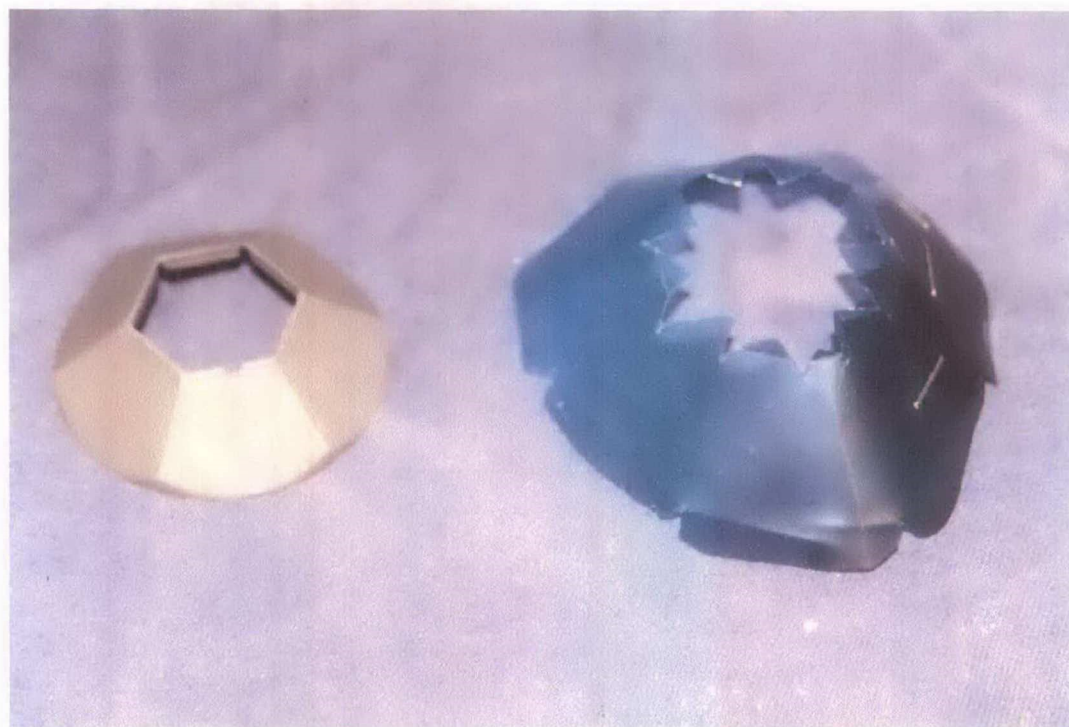


Figura 15. Colar de plástico, do tipo elisabetano, utilizado por BINS-ELY et al<sup>24</sup>, acoplado a um segundo colar de filme de acetato (direita) montado com grampos.

**Drogas utilizadas no procedimento:** Foi utilizada a hialuronidase (HYALOZIMA<sup>®(c)</sup>) extraída de testículos de bovinos, apresentada na forma liofilizada, estéril e apirogênica, e comercializada no mercado para uso em humanos (Figura 16).

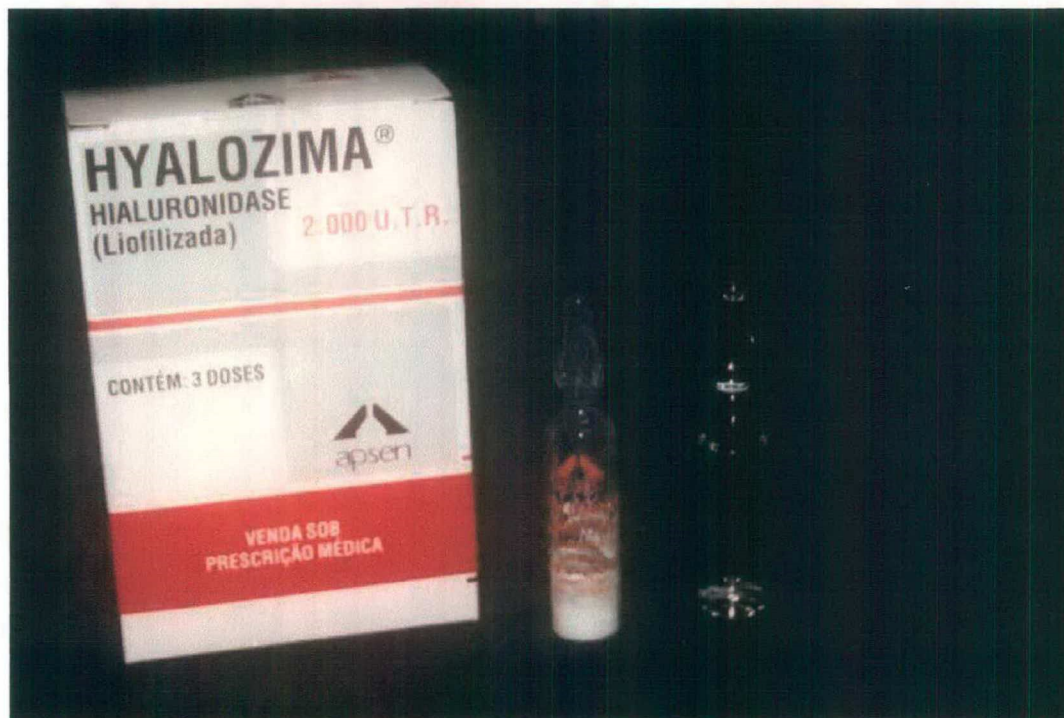


Figura 16. Hialuronidase – HYALOZIMA<sup>®</sup>, liofilizada, em ampolas.

**Procedimento de avaliação pós-operatória:** Diariamente fez-se um acompanhamento e avaliação clínica, sendo anotadas no protocolo as mudanças do retalho quanto à coloração, limites e superfície aproximada de necrose, seguindo uma tabela de pontuação elaborada pelo pesquisador (Apêndice 1).

Foi realizada documentação fotográfica pertinente nos dias 0, 1, 2, 3, 5, e 7 do PO. Esta foi executada com máquina fotográfica convencional da marca *CANON EOS 500<sup>®</sup>*, utilizando filme negativo da marca *PRO IMAGE<sup>®</sup> ISO 100 DE 36* exposições.

---

<sup>(c)</sup> HYALOZIMA<sup>®</sup>: especialidade farmacêutica produzida pelo laboratório APSEN.

Em cada fotografia captada cuidou-se de incluir uma ficha com os dados do animal (número e grupo), data e dia do PO correspondente. Também foi colocada uma régua centimetrada que serviu de parâmetro para realizar as medições das áreas total e de necrose do retalho (Figura 17).

Após o processamento do filme, as fotografias foram catalogadas e digitalizadas com *Scanner* da marca *HEWLETT PACKARD Scan Jet 4c*. (Figura 18).

Estas imagens foram posteriormente analisadas através de um programa informático *IMAGE TOOL*<sup>(d)</sup>, desenvolvido pelo *University of Texas Health Science Center* (Centro de Ciências da Saúde da Universidade de Texas), de *San Antonio, Texas*, e fornecido gratuitamente através da *internet*. Este programa contém ferramentas que possibilitam a medição de ângulos, distâncias entre dois pontos e áreas de todo tipo de polígonos ou figuras planas, a partir de um referencial de distância conhecido que é fornecido pela régua parâmetro. Assim foi desenhado um polígono nos limites do retalho para realizar as medições das áreas total e de necrose em cada imagem digitalizada.

As anotações pertinentes foram realizadas conforme o protocolo elaborado, vide Apêndice 1, com os animais adequadamente identificados por número e grupo. Estes dados foram transferidos a uma planilha eletrônica, do tipo *EXCEL*<sup>(e)</sup> (*Office 2000*), para elaborar uma base de dados, posteriormente utilizada para o estudo estatístico.

No 7º PO, após o último levantamento de dados e sob anestesia geral, foi realizada a eutanásia.

---

<sup>(d)</sup>*IMAGE TOOL*<sup>®</sup>: software desenvolvido pelo Centro de Ciências da Saúde da Universidade de Texas.

<sup>(e)</sup>*EXCEL*<sup>®</sup>: programa Map da Microsoft. Copyright© 1995-1997 MapInfo Corporation.

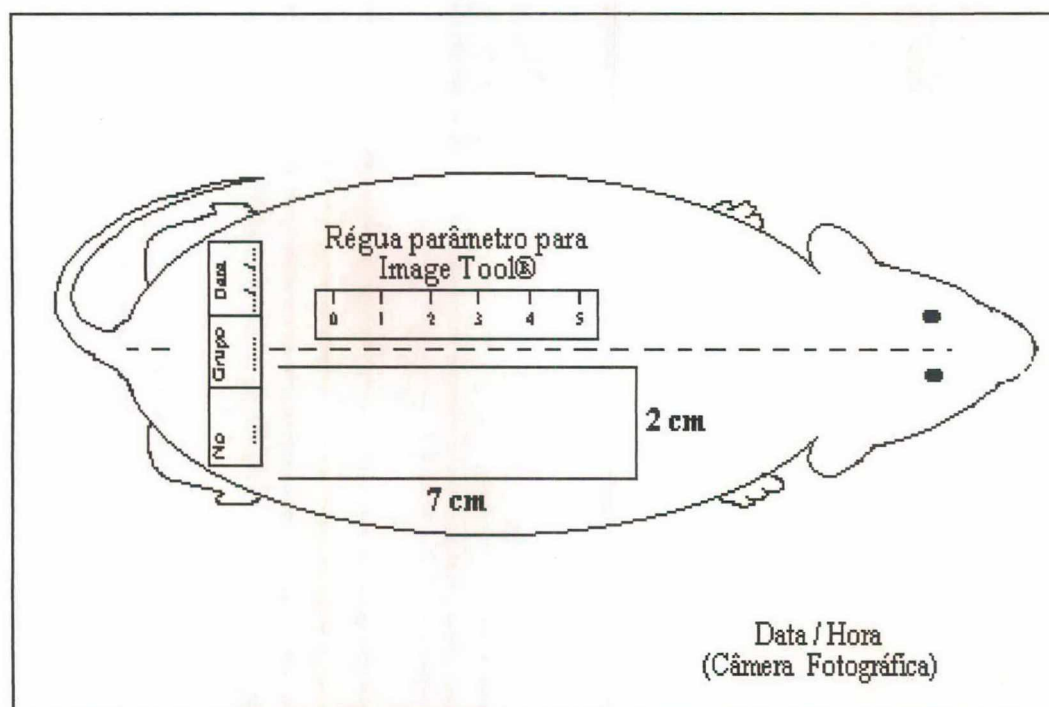


Figura 17. Esquema dos dados de identificação coletados em cada fotografia.

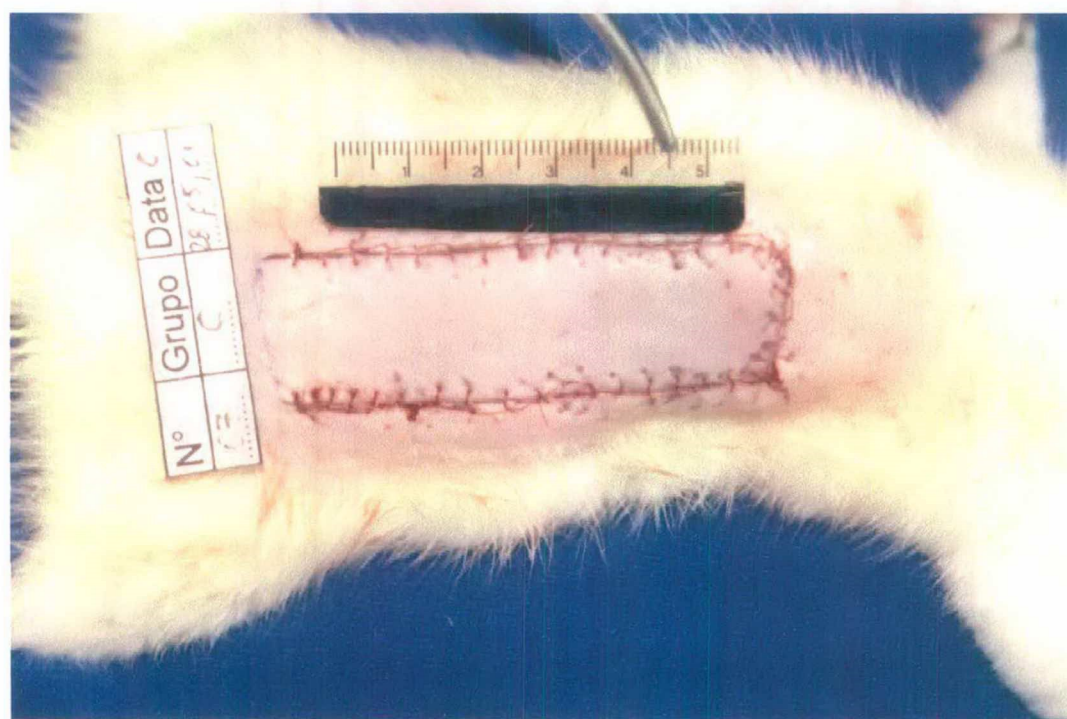


Figura 18. Fotografia padrão que posteriormente foi avaliada através do programa *IMAGE TOOL*®.

**Estudo Estatístico:** A base de dados criada em programa *EXCEL*<sup>®</sup> foi submetida à análise estatística, utilizando os programas *STATISTICA*<sup>®(f)</sup> e *EPI INFO 6*<sup>®(g)</sup>. A análise de variâncias para verificar a homogeneidade da amostra foi realizada através do teste de LEVENE. Foi utilizado o teste de *Qui-quadrado* para avaliar os dados de extensão de área de necrose. Finalmente, a comparação das porcentagens de necrose dos diferentes grupos foi realizada com o teste de TUKEY.

---

<sup>(f)</sup> *STATISTICA*<sup>®</sup>: Programa informático para cálculos estatísticos. *Copyright*© 1984-1998 pela *Stat Soft Inc.*

<sup>(g)</sup> *EPI INFO 6*<sup>®</sup>: Programa informático para cálculos estatísticos.

## 4. RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 42 ratos com peso entre 182 e 294 gramas, média de 251,43 ( $\pm 20,89$ ) gramas, distribuídos em 4 grupos: Grupo A (n=11), Grupo B (n=11), Grupo C (n=10) e Grupo D (n=10).

Quando analisada a variável "extensão da área de necrose", no 7º PO, que surge da observação clínica, e estipulamos um limite de 40% de área de necrose, distribuindo as observações em duas classes: (a) área de necrose de até 40%, e (b) área de necrose maior do que 40%, observamos que o Grupo B apresentou 27,3% de casos ultrapassando o limite estabelecido. Por outro lado no Grupo C, 100% dos casos apresentaram área de necrose maior do que 40% (Tabela 2).

**Tabela 2.** Distribuição dos casos, em classes, baseada nas observações no 7º PO na variável "extensão de área de necrose".

GRUPO	Necrose até 40 %	Necrose > 40%	TOTAL
A (100 UI/dia HLD)	45,50	54,50	100,00
B (50 UI/dia HLD)	72,70	27,30	100,00
C (água destilada)	0,00	100,00	100,00
D (sem infiltração)	60,00	40,00	100,00

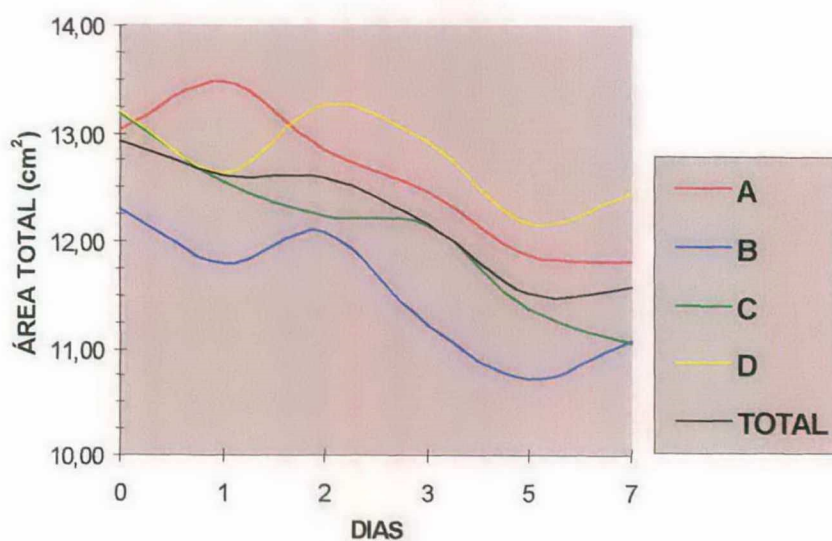
\* $\chi^2 = 12,50$  com 3 graus de liberdade

\*\* p= 0,006

As médias das áreas totais são apresentadas na Tabela 3 e a tendência do comportamento em relação aos dias está representada na Figura 19.

**Tabela 3.** Distribuição das médias e desvio padrão (DP) por grupo e por dia das áreas totais.

GRUPO	n	MÉDIA (DP) POR DIA (cm <sup>2</sup> )					
		0	1	2	3	5	7
<b>A (100 UI/dia HLD)</b>	11	13,04(0,99)	13,47(1,15)	12,84(1,46)	12,47(1,47)	11,88(1,03)	11,80(1,38)
<b>B (50 UI/dia HLD)</b>	11	12,29(1,03)	11,79(1,39)	12,07(1,11)	11,22(0,93)	10,72(1,01)	11,07(1,02)
<b>C (água destilada)</b>	10	13,18(0,80)	12,54(1,10)	12,24(1,24)	12,15(0,91)	11,36(0,94)	11,05(1,19)
<b>D (sem infiltração)</b>	10	13,20(1,00)	12,64(0,83)	13,27(0,79)	12,92(0,97)	12,16(1,24)	12,44(1,15)
<b>TOTAL</b>	<b>42</b>	<b>12,92(1,00)</b>	<b>12,61(1,26)</b>	<b>12,60(1,24)</b>	<b>12,17(1,24)</b>	<b>11,52(1,16)</b>	<b>11,58(1,29)</b>



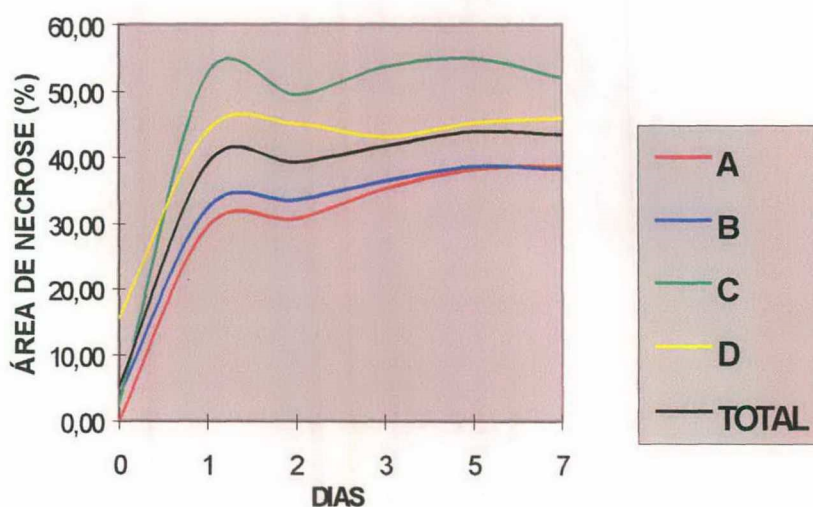
**Figura 19.** Comportamento das áreas totais por grupo.

As áreas de necrose, nos diferentes grupos, foram medidas desde o ato operatório até o 7º PO e tiveram a distribuição que se mostra na Tabela 4.

**Tabela 4.** Distribuição por grupo das médias e desvio padrão (DP) das porcentagens das áreas de necrose.

GRUPO	n	MÉDIA (DP) POR DIA (cm <sup>2</sup> )					
		0	1	2	3	5	7
<b>A (100 UI/dia HLD)</b>	11	0,00 (0,00)	29,53(10,19)	30,77(11,21)	35,27(10,06)	38,24(11,02)	38,69 (9,26)
<b>B (50 UI/dia HLD)</b>	11	3,75(11,85)	32,31(14,81)	33,57(17,00)	36,44(15,06)	38,59(14,36)	38,20(15,05)
<b>C (água destilada)</b>	10	2,50 (7,91)	52,45 (4,69)	49,46 (4,75)	53,60 (4,88)	54,84 (6,73)	51,97 (8,37)
<b>D (sem infiltração)</b>	10	15,60(25,37)	44,03(11,15)	45,06(13,88)	43,08(15,39)	45,20(13,62)	45,90(12,57)
<b>TOTAL</b>	<b>42</b>	<b>5,24(15,01)</b>	<b>39,17(14,04)</b>	<b>39,36(14,49)</b>	<b>41,80(13,81)</b>	<b>43,94(13,28)</b>	<b>43,44(12,61)</b>

Na Figura 20, se expõem as diferentes médias de porcentagens de necrose observadas nos 5º e 7º PO, nos distintos grupos, assim como a média total.



**Figura 20.** Comportamento das áreas de necrose dos diferentes grupos.



Na Figura 21, destacam-se as porcentagens das áreas de necrose nas observações nos 5° e 7° PO dos distintos grupos pesquisados.

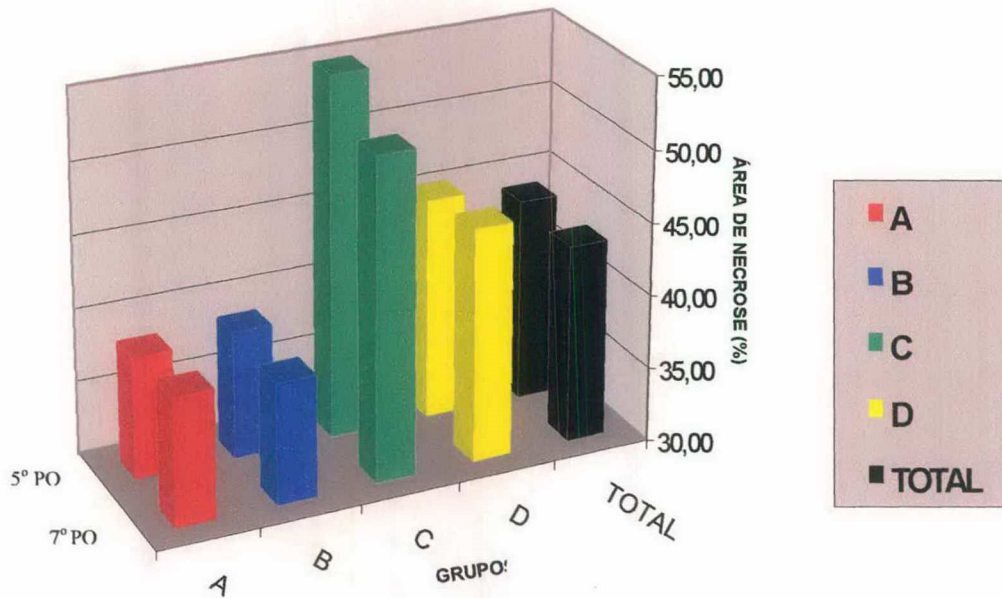


Figura 21 Áreas de necrose nos 5° e 7° PO por grupos.

As Figuras 22, 23, 24 e 25, mostram os casos mais representativos de cada grupo.



Figura 22. Rato do Grupo A, tratado com 100 UI/dia de hialuronidase, com uma área de necrose de 38,82 %.

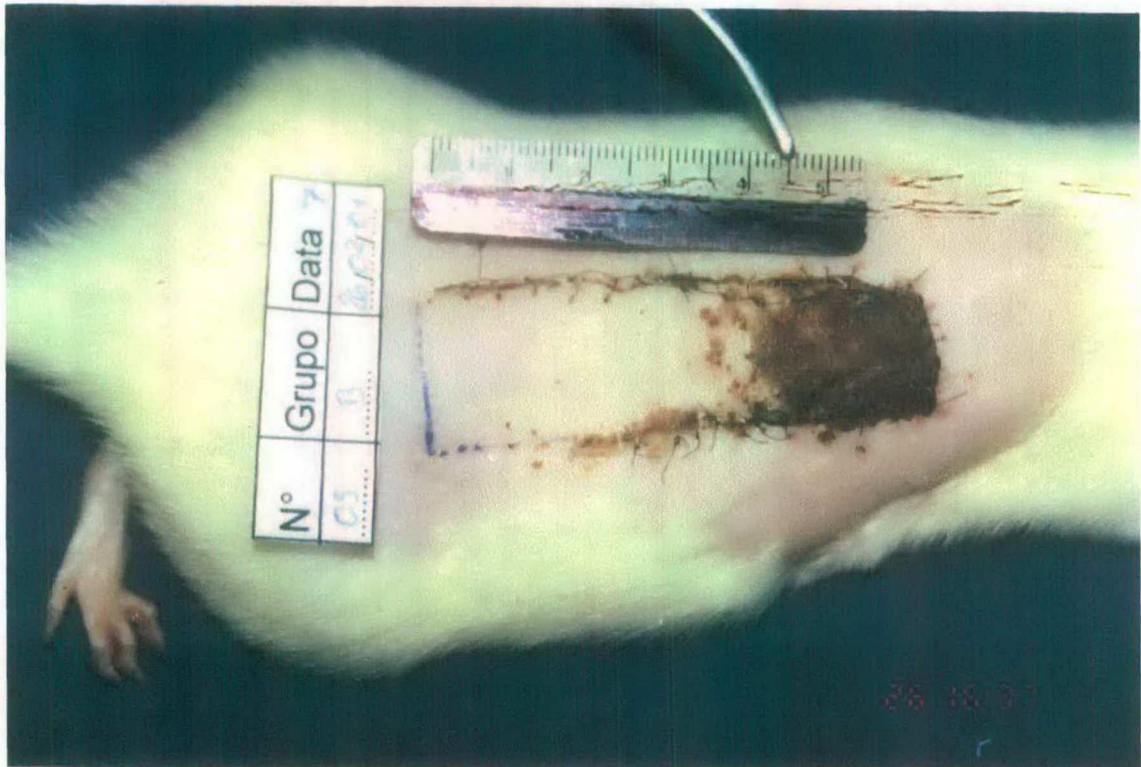


Figura 23. Rato do Grupo B, tratado com 50 UI/dia de hialuronidase, com uma área de necrose de 31,85%.



Figura 24. Rato do Grupo C, tratado com água destilada, com uma área de necrose de 48,76 %.

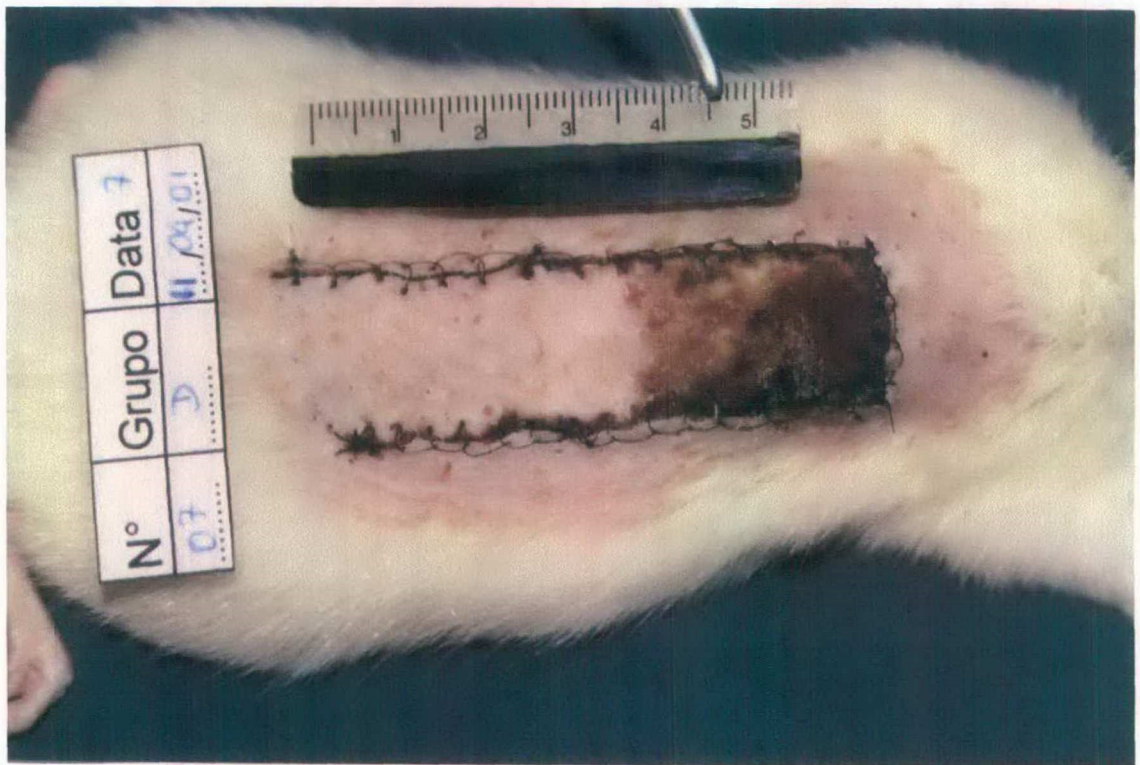


Figura 25. Rato do grupo D, que não recebeu infiltração de substância alguma, com uma área de necrose de 41,89 %.

O teste de homogeneidade de variáveis ANOVA (teste de LEVENE) com 3,38 graus de liberdade, para as observações dos 5º e 7º PO, demonstrou variáveis semelhantes com  $p=0,186$  para o 5º PO, e  $p=0,269$  para o 7º PO, como se detalha na Tabela 5.

**Tabela 5.** Teste de homogeneidade de variâncias (ANOVA) para as observações de porcentagem de área de necrose nos 5º e 7º PO (sem discriminação de grupo), com 3,38 graus de liberdade (teste de LEVENE).

DIA	F	VALOR DE p
5º PÓ	1,983	0,186
7º PÓ	1,359	0,269

Foi utilizada a análise de variância para dados pareados tendo como base a estrutura das observações, segundo o grupo do experimento e o dia de observação (5º e 7º PO). Como apresentado na Tabela 6, existe uma diferença estatisticamente significativa ao comparar a media nos diferentes grupos ( $p<0,05$ ). Como observado na Tabela 7, também existe uma diferença estatisticamente significativa ao comparar os Grupos A e C ( $p<0,05$ ), e B e C ( $p<0,05$ ), utilizando o teste de TUKEY, para avaliar as diferenças de médias entre os grupos.

**Tabela 6.** Análise de variância para dados pareados das variáveis grupo do experimento e dia de observação (5º e 7º PO).

VARIÁVEIS	F	VALOR DE p
grupo	3,949	0,015*
dia	0,638	0,429
grupo e dia	1,470	0,2389

\* $p<0,05$

**Tabela 7.** Teste de TUKEY. Comparação entre os grupos nas observações dos 5° e 7° PO quanto à área de necrose.

GRUPO	VALOR DE p			
	A	B	C	D
<b>A (100 UI/dia HLD)</b>		0,999	0,026*	0,506
<b>B (50 UI/dia HLD)</b>	0,999		0,025*	0,499
<b>C (água destilada)</b>	0,026	0,025		0,437
<b>D (sem infiltração)</b>	0,506	0,499	0,437	

\*p<0,05

## 5. DISCUSSÃO

Várias são as causas freqüentemente envolvidas na necrose parcial ou total de um retalho cutâneo randomizado. Os retalhos, quando muito longos, tem o aporte de nutrientes dificultado nos segmentos mais distais do pedículo. A hipoxia resultante desta diminuição de suprimento sanguíneo contribui na produção de metabólitos tóxicos, assim como na vasodilatação e aumento da permeabilidade capilar que também favorece a instalação do edema<sup>25</sup>, o qual, pode ter um papel importante na perda de um retalho.

Todo retalho randomizado, que tem a sua circulação não apenas arterial mas também venosa e linfática restrita a uma pequena área - o pedículo - torna-se um compartimento inexpandível, e os fenômenos hemodinâmicos ficam circunscritos a esse compartimento. Assim, se acontecer um aumento na permeabilidade capilar, devido à hipoxia ou produção local de metabólitos, o edema produzido ficará restrito dentro da área do retalho e, teoricamente, poderá produzir uma compressão mecânica sobre os escassos elementos vasculares remanescentes. Este edema agirá do mesmo modo que uma torção do pedículo, com a conseqüente dificuldade tanto do suprimento sanguíneo quanto do retorno venoso, este último favorecendo ainda mais o edema do retalho o que prejudicará com maior intensidade a vascularização dos segmentos mais comprometidos, fechando assim um círculo vicioso.

No tecido conjuntivo, o ácido hialurônico tem um papel importante nas forças que determinam a movimentação de água. A pressão coloidosmótica do interstício, profundamente influenciada por este polissacarídeo de alto peso molecular, pode ser modificada através de sua degradação<sup>3,4,5,6,7</sup>.

DURAN-REYNALS<sup>8</sup> em 1928, observou a disseminação de microrganismos, tinta da Índia e outras tinturas, produzida pelos extratos de testículos, efeito que foi atribuído a um fator de expansão presente nestes extratos e que posteriormente foi identificado como uma enzima, a hialuronidase<sup>4,5</sup>.

A hialuronidase é uma enzima que degrada o ácido hialurônico, podendo com isto, diminuir o potencial osmótico do interstício<sup>3</sup>.

Em 1988 GODEAU e ROBERT<sup>10</sup>, numa experiência em coelhos, estudaram a ação da hialuronidase na derme e observaram mudanças morfológicas confirmando a capacidade desta enzima de influenciar na composição e estrutura do tecido conjuntivo dérmico.

ROWLEY, HALE e FINLAY<sup>19</sup> em 2000 pesquisaram o efeito da hialuronidase, quando utilizada em combinação com anestésicos locais, na qualidade do bloqueio peribulbar e concluíram que a qualidade do bloqueio motor foi significativamente melhorada, sem ter efeito no bloqueio sensorial.

A prevenção de necrose induzida por agentes quimioterápicos através da infiltração local de hialuronidase foi estudada por vários pesquisadores. Assim DISA, CHANG, MUCCI e GOLDBERG<sup>23</sup>, em 1998, observaram uma redução de no mínimo 50% da porcentagem de área ulcerada produzida pelo extravasamento de adriamicina, num modelo em ratos, no grupo tratado com hialuronidase.

Em 1982 YASUDA, RIBEIRO e MAROKO<sup>15</sup> estudaram o efeito da hialuronidase em infarto cerebral experimental em *gerbils* e encontraram uma redução da mortalidade do grupo tratado em relação ao grupo controle ( $p < 0,02$ ), e uma diminuição do tamanho da área de infarto cerebral ( $p < 0,05$ ).

Melhoria de traçados eletrocardiográficos, após injeção intravenosa de hialuronidase no infarto agudo do miocárdio experimental em cães, foi comunicado por MARTINS DE OLIVEIRA, CARBALLO E ZIMMERMAN<sup>12</sup> em 1959. Em 1982, SMISETH, REFSUM, VIK-MO e MJOS<sup>13</sup>, também em experimentos com cães, estudaram o mecanismo de ação desta redução da lesão miocárdica produzida pela hialuronidase, e concluíram que se devia a um aumento de fluxo sanguíneo

colateral. Mas em 1983, SUNNERGREN e ROVETTO<sup>14</sup>, numa pesquisa em ratos, apresentaram resultados que sugeriram uma redução do edema como mecanismo de ação.

A hialuronidase também se demonstrou efetiva na redução da rejeição de transplantes induzida por edema numa pesquisa em ratos desenvolvida por JOHANSSON, HÄLLGREN, ELVIN, GERDIN e TUFVESON<sup>11</sup> em 1999 e sustentaram a hipótese da acumulação de ácido hialurônico como fator importante na formação do edema.

A partir destes argumentos e baseado na premissa que a hialuronidase, ao degradar o ácido hialurônico, pode influenciar positivamente na evolução do edema, decidiu-se testar um modelo de retalho que servisse para avaliar a hipótese de que esta droga seja efetiva no sentido de aumentar a viabilidade de retalhos cutâneos randomizados.

A hialuronidase empregada nesta pesquisa é um produto farmacêutico liofilizado para injeção por via parenteral. Trata-se de uma hialuronidase extraída de testículos de bovinos, e obtida em farmácias comerciais (Anexo 1).

Como amostra, utilizaram-se ratos. A manutenção fácil e de baixo custo, a facilidade de manejo assim como a disponibilidade para séries maiores, justificaram estes animais como a opção mais viável no Laboratório de TOCE da UFSC para esta pesquisa. Foram escolhidos ratos fêmeas, em anestro, para uniformizar a amostra.

O procedimento anestésico utilizado, isto é, inalação de Éter Etilico seguido de injeção intraperitoneal de uma solução de Pentobarbital sódico 3% (HYPNOL<sup>®</sup>) (Anexo 2) e cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6dihidro-4H-1,3 – tiazina (ROMPUN<sup>®</sup>) (Anexo 3) nas doses de 30 mg/kg e 0,20 mg/kg respectivamente, é rotina no Laboratório de TOCE da UFSC, com excelente resultado quanto ao padrão de anestesia para os animais. Quando do término do efeito da mesma, os animais foram mantidos aquecidos em gaiolas individuais.



Após atingirem o plano anestésico, percebido pela ausência de reflexo córneo-palpebral e reação dolorosa à preensão do coxim adiposo das patas dianteiras, realizou-se a depilação utilizando lâmina de barbear. Este procedimento permitiu a exposição da pele do rato, facilitando tanto o procedimento operatório, quanto a observação pós-operatória. A epilação, por arrancamento dos pêlos, não foi realizada por ser considerada um procedimento traumático que poderia influenciar em um grau variável pela lesão local subjacente, isto é, produzir micro-traumas em nível vascular.

Para a escolha do tamanho do retalho, recorreu-se a alguns modelos já padronizados na literatura<sup>26,27,28</sup>. Porém nenhum deles cumpria a função a que se destinava o estudo. Portanto, realizou-se um experimento piloto que refez alguns dos estudos da literatura e algumas variações no tamanho do retalho.

Pela pretensão do estudo, o retalho deveria ter um comprimento suficiente para garantir uma área de necrose, estimada entre 20 e 40 %, e uma largura que permitisse sua localização em um lado do dorso do animal. Assim, chegou-se ao retalho de 2 x 7 cm, com uma relação largura-comprimento de 1:3,5 maior do que a utilizada por GROSSMAN, MCGONAGLE, DOWDEN e DINNER<sup>27</sup> (1:3) em 1983, e menor que a utilizada por PIMENTEL e GOLDENBERG<sup>28</sup> (1:5) em 1999.

A região dorsal foi escolhida devido à vascularização, pois estudos anatômicos da irrigação cutânea do dorso do animal evidenciaram um padrão de rede vascular principal com trajeto predominante no sentido transversal<sup>29,30</sup>. Assim, foi demonstrado por SYED, TASAKI, FUJII e HIRANO em 1992<sup>29</sup> quando descreveram a vascularização da pele do rato nas regiões da bacia e lateral do abdome, baseada no ramo ílio-lombar da artéria aorta, e por SYED, PIERCE, REID THOMSON e RESTIFO em 1997<sup>30</sup>, quando descreveram um outro retalho axial baseado na 10ª artéria intercostal (ou artéria dorsal média). Estes trabalhos demonstraram um padrão de circulação predominantemente transversal. Desta maneira, o retalho foi desenhado em sentido longitudinal para atravessar transversalmente os pedículos vasculares principais no dorso do rato, evitando assim, favorecer o retalho pela própria direção do fluxo sanguíneo.

O pedículo caudal foi escolhido para criar condições de dificuldade ao retorno venoso, que favoreceria a formação de edema no retalho, ocasionado pelo aumento da pressão capilar<sup>1</sup>. Mesma conduta foi a de GROSSMAN et al<sup>27</sup> (1983), não assim PIMENTEL e GOLDENBERG<sup>28</sup> (1999), que delinearão um retalho de pedículo cefálico.

Outros autores estudaram fenômenos de lesão após reperusão, pesquisando diversas substâncias e utilizando retalhos com pedículos vasculares conhecidos<sup>31,32,33</sup>. O objetivo deste trabalho não era avaliar a reperusão, mas a isquemia produzida por dificuldade de retorno venoso. Assim, escolheu-se o retalho randomizado, com a relação comprimento-largura suficientemente aumentada para poder avaliar os efeitos de um retorno venoso dificultado. Durante o experimento piloto, estabeleceu-se um modelo de retalho randomizado com as dimensões que pudessem produzir uma área de necrose suficiente para lograr uma boa avaliação de qualquer aumento da área viável. O retalho desenhado no dorso do rato difere daquele feito por GROSSMAN et al<sup>27</sup> (1983), cuja localização era na linha média. Optou-se pelo lado direito, sem ultrapassar a linha média, visando assim evitar alguma variabilidade anatômica quanto a cruzamento da vascularização de territórios cutâneos que pudesse influenciar positiva ou negativamente a nutrição do retalho, o que de fato não seria possível estimar.

Consoante aos conhecimentos da literatura, optou-se pela injeção intradérmica, adotada por PIMENTEL e GOLDENBERG<sup>28</sup> (1999), para testar o efeito de intumescência ao comparar com um Grupo *SHAM*, em que não se realizou infiltração, no entanto as doses de hialuronidase administradas eram muito discrepantes.

GROSSMAN et al<sup>27</sup> administraram (via intraperitoneal) 500 UI/dia por quilograma, o que em um rato de 200 gramas equivale a 100 UI/dia. Já PIMENTEL e GOLDENBERG<sup>28</sup> administraram (via intradérmica) 200 UI/dia. ZIMMET<sup>16</sup>, em 1996, num estudo de dose-resposta, na prevenção de necrose produzida pelo extravasamento de escleroterápicos, encontrou que a máxima proteção era atingida com uma dose única de 75 UI de hialuronidase. Por outro lado, em 1998, DISA et

al<sup>23</sup> infiltraram 2,5 a 10 UI de hialuronidase (também em dose única) no seu estudo de prevenção de necrose de pele produzida por adriamicina.

Determinou-se, para este estudo, dois grupos aleatoriamente distribuídos, o primeiro com uma dose de 100 UI/dia (Grupo A) menor do que aquela utilizada por PIMENTEL e GOLDENBERG<sup>28</sup>, mas de acordo com a utilizada por GROSSMAN et al<sup>27</sup>, e outro grupo com uma dose de 50 UI/dia (Grupo B) menor que a dose de máxima proteção que ZIMMET<sup>16</sup> mostrou em seu trabalho, e ultrapassando o que foi preconizado por DISA et al<sup>23</sup>.

No Grupo *SHAM* (Grupo D) o retalho foi apenas elevado e recolocado no seu leito sendo suturado igualmente aos outros grupos, porém, sem receber qualquer tipo de infiltração. Este grupo foi o parâmetro de um retalho deixado sem tratamento, e que estatisticamente significa o grupo que fornece a informação comparativa do que acontece na população normal.

De forma semelhante ao procedimento utilizado por PIMENTEL e GOLDENBERG<sup>28</sup>, infiltrou-se apenas os 2/3 distais do retalho de 2 x 7 cm, que é a porção mais lábil. Administrou-se 1/3 da dose no 1/3 médio, e o restante (2/3) no 1/3 distal, introduzindo-se o fator edematoso.

Observou-se nesta modalidade de infiltração que o efeito de intumescência simula um edema local. PIMENTEL e GOLDENBERG<sup>28</sup> não fazem referência a este fator negativo para viabilidade do retalho, nem se influenciou no resultado final. Este fato pode ser devido à administração de dose diluída, em 1 ml, num retalho de 2,5 x 12,5 cm, superando o dobro do tamanho do modelo idealizado para este estudo.

Assim, além do Grupo *SHAM* (Grupo D) em que não houve tratamento do retalho, incluiu-se o Grupo C o qual foi infiltrado com água destilada, que é o veículo utilizado para a hialuronidase. Este procedimento serviu não apenas para determinar se houve diferença estatística entre o efeito da própria droga e o veículo, mas também para verificar um melhor resultado quando comparado com infiltração e sem infiltração; isto é, se há aumento na viabilidade dos retalhos cutâneos quando existe o fator edematoso (condição criada pela própria infiltração).

Tanto GROSSMAN et al<sup>27</sup> quanto PIMENTEL e GOLDENBERG<sup>28</sup> prolongaram o tratamento por 7 dias.

Tendo sido observado, durante o experimento piloto, que a necrose se instala entre o 2º e 4º PO e o desfecho é irreversível, o critério utilizado foi realizar o tratamento durante a fase crítica, isto é durante as primeiras 72 horas, que é a etapa em que acontecem os fenômenos vasculares que determinam a evolução do retalho.

Mesmo quando o retalho, antes das 72 horas, adquiria características clínicas que sugeriam sofrimento vascular, o que previa a instalação de necrose, estas áreas continuaram sendo infiltradas até o 3º PO (72 horas). Esta conduta foi estabelecida para não desarmonizar a maneira de realizar a infiltração, e na esperança de que o tratamento revertesse a necrose esperada.

A possibilidade de o retalho reagir à maneira de um auto-enxerto também não foi desprezada, mas todos os grupos foram expostos às mesmas variáveis, e foi considerado na avaliação dos resultados como condições semelhantes em todos os grupos.

Um dos problemas ocorridos no experimento piloto, foi a presença de autofagia dos retalhos. Para evitá-la, utilizou-se um colar cervical cujo formato inicial foi tubular, feito de plástico, que no princípio parecia funcionar até surgiram casos de ratos com autofagia que obrigaram a substituição por outro animal. Recorreu-se a um modelo de colar elisabetano descrito por BINS-ELY et al<sup>24</sup> para proteção de feridas operatórias abdominais, de plástico, com formato cônico.

Aparentemente, não foi o suficiente, pois ocorreram novos casos de autofagia, embora em número menor e decidiu-se acoplar a este colar, um segundo colar, maior, realizado com filme de acetato de celulose (Figuras 13 e 14). Este duplo colar, embora tenha incomodado o animal, não restringiu o acesso à ração e água, muito menos a deambulação. Com este último modelo (duplo colar) utilizado neste estudo não houve casos de autofagia.

Para tratamento e mensuração da área de necrose utilizou-se o programa *IMAGE TOOL*<sup>®</sup> recomendado por BINS-ELY em outro estudo para aferição de

áreas de necrose em modelo de retalho transversal do músculo reto abdominal (TRAM) no rato<sup>34</sup>.

A utilização do programa permitiu um cálculo quase exato da área de necrose através da análise de fotografias seriadas do retalho em evolução, submetidas à aferição do ato operatório até o 7º PO.

No total, 42 ratos (n=42) foram incluídos na pesquisa, com peso médio de 251,43 gramas (desvio padrão de 20,89). Um animal pesou 182 gramas o que fez a amostra no Grupo B ter uma maior dispersão, com um desvio padrão de 27,71, porém não prejudicou a uniformidade da amostra.

Analisando os dados dos vários grupos da variável “extensão da área de necrose” (apêndice 3), percebeu-se que no 7º PO os resultados mostravam: 54,50 % dos animais do Grupo A (100 UI/dia de hialuronidase) apresentavam mais de 40 % de área de necrose, o mesmo acontecendo com 27,3 % do Grupo B (50 UI/dia de hialuronidase), 100 % no Grupo C (água destilada) e 40% do Grupo D (*SHAM*) (Tabela 2). Estes dados derivados da observação clínica alertaram uma tendência do Grupo C marcar uma diferença em relação ao Grupo B.

Estes resultados sugerem que, sem a realização de qualquer infiltração, a porcentagem de necrose do retalho acima de 40 % foi observado em 40 % dos animais (Grupo D). No entanto, quando utilizada água destilada (Grupo C), esta porcentagem foi de 100 %. Quando foram utilizadas 100 UI/dia de hialuronidase (Grupo A), esta porcentagem ultrapassou aquela onde nenhuma infiltração foi utilizada. Percebeu-se que com dose de 50 UI/dia de hialuronidase a porcentagem de animais que apresentaram necrose maior que 40 % da área do retalho foi muito menor (Grupo B).

Estas observações necessitam um maior estudo, pois, trabalhando sobre os dados derivados das avaliações do programa *IMAGE TOOL*<sup>®</sup>, estatisticamente a diferença entre os Grupos A e B não foi significativa, com um intervalo de confiança de 99%, o que implica que doses de 50 UI/dia e 100 UI/dia não fazem diferença no tratamento (Tabela 7). Estas doses se encontram perto do ideal de 75 UI encontrado

por ZIMMET<sup>16</sup> no seu trabalho com escleroterápicos e coincidem com o utilizado por GROSSMAN et al<sup>27</sup>.

Na Tabela 3 demonstrou-se uma redução da superfície total do retalho, que se evidencia na figura 19, e que estaria relacionada à contração da ferida operatória.

Quanto às porcentagens de área de necrose, observou-se que entre os grupos houve um comportamento similar (Tabela 4). Assim, a partir do 1º PO, cada um deles apresentou uma taxa uniforme que se manteve até o final e que se verifica pelo platô registrado na curva da Figura 20. Sendo assim, não deve ter ocorrido variação, mesmo depois do período de tratamento (dos 4º ao 7º PO) o que sugere que qualquer ação é importante, principalmente, nas primeiras 72 horas.

A taxa de necrose no 7º PO foi de 38,69% ( $\pm 9,26$ ) para o Grupo A, 38,20% ( $\pm 15,05$ ) para o Grupo B, 51,97% ( $\pm 8,37$ ) para o Grupo C e 45,90% ( $\pm 12,57$ ) para o Grupo D. A Figura 21 mostra que as porcentagens de necrose no mesmo grupo nos 5º e 7º PO foram similares. É assim que o teste de LEVENE, para análise de variância, nas observações nos 5º e 7º PO demonstrou que não existe diferença nestas variáveis (Tabela 5); no entanto, o teste ANOVA para dados pareados dos 5º e 7º PO comparados com a variável grupo, demonstrou que existe diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) na variável grupo e qualquer diferença de resultados está explicada pela diferença entre os grupos (Tabela 6).

Em 1983, GROSSMAN et al<sup>27</sup>, no seu modelo de retalho cutâneo experimental em ratos, ao comparar as longitudes das áreas do retalho com viabilidade no 7º PO, observaram melhoria com o uso de hialuronidase e o dimetil sulfóxido (DMSO) via intraperitoneal. Seus resultados de 6,6 cm no grupo tratado com hialuronidase contra 5 cm no Grupo *SHAM*, deram diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,001$ ). Assim, formularam a hipótese de que estas substâncias exerciam seus efeitos diminuindo o edema e ajudando no transporte de nutrientes ao retalho, durante a fase aguda.

PIMENTEL e GOLDENBERG<sup>28</sup> (1999), utilizando coelhos, também pesquisaram a hialuronidase que foi injetada diretamente na pele e tecido subcutâneo de longos retalhos com pedículo cefálico, com a finalidade de causar

uma rápida difusão de líquidos extravasados, esperando assim aumentar a drenagem de metabólitos da extremidade do mesmo para áreas mais distantes, com vascularização normal, para prevenir sua necrose. Neste modelo, o grupo tratado com hialuronidase apresentou uma média de 1,47% de área de necrose, quando que o grupo com soro fisiológico teve uma média de 27,64% e o Grupo *SHAM* 30,14%, e concluíram que a hialuronidase representou um tratamento efetivo na prevenção da necrose ( $p \leq 0,05$ )<sup>28</sup>.

No presente estudo observou-se, ainda que proporcionalmente, um aumento da viabilidade quando comparados os Grupos tratados (A e B) em relação aos Grupos controle e *SHAM* (C e D respectivamente) (Figura 21). Esta diferença foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) apenas entre os Grupos A e C, e os Grupos B e C (que estiveram submetidos ao mesmo efeito edematoso) não existindo diferença estatisticamente significativa na comparação dos Grupos tratados (A e B) com o Grupo D (*SHAM*) tal como mostra a Tabela 7. Por isto, não se pode afirmar que a hialuronidase evita necrose de retalhos cutâneos randomizados quando infiltrada no local. Contudo, estes resultados sugerem um efeito protetor da hialuronidase quando esteja instalado um edema, e não como favorecedor de difusão de nutrientes a locais mais distantes do retalho, como GROSSMAN et al<sup>27</sup> indicam no seu trabalho.

Após a realização deste estudo, pode-se inferir que a hialuronidase aplicada a retalhos cutâneos, em ratos, seja eficaz na prevenção da necrose, no entanto, não se conhece o mecanismo pelo qual esta proteção possa realmente ocorrer. Sugere-se a realização de estudos mais detalhados para uma conclusão mais convincente sobre a droga utilizada.

## **6. CONCLUSÃO**

No modelo experimental do presente trabalho, a hialuronidase demonstra-se efetiva em aumentar a viabilidade de retalhos cutâneos randomizados em ratos, quando o fator edema encontra-se envolvido no processo, o que sugere um provável mecanismo de redução do componente edematoso.



## 7. REFERÊNCIAS

1. Guyton AC, Hall JE. Os compartimentos líquidos do corpo: líquidos extracelular e intracelular; líquido intersticial e edema. In: Guyton AC, Hall JE. Tratado de Fisiologia Médica. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. p.276-90.
2. Guyton AC, Hall JE. A microcirculação e o sistema linfático: trocas de líquido no capilar, líquido intersticial e fluxo de linfa. In: Guyton AC, Hall JE. Tratado de Fisiologia Médica. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. p.167-79.
3. Watson D. Hyaluronidase [Review article]. Br J Anaesth 1993 Sep;71(3):422-5.
4. Farr C, Menzel J, Seeberger J, Schweigle B. Clinical pharmacology and possible applications of hyaluronidase with reference to Hylase "Dessau". Wien Med Wochenschr 1997;147(15):347-55.
5. Fraser JR, Laurent TC, Lauren UB. Hyaluronan: its nature, distribution functions and turnover [Review]. J Intern Med 1997 Jul;242(1):27-33.
6. Laurent TC, Laurent UG, Fraser J, Robert E. Functions of hyaluronan [Review]. Ann Rheum Dis 1995 May;54(5):429-32.
7. Laurent TC, Laurent UBG, Fraser J, Robert E. The structure and function of hyaluronan: an overview [Review]. Immunol Cell Biol 1996 Apr;74(2):A1-7.
8. Duran-Reynals F. The effect of extracts of certain organs from normal and immunized animal infecting power of vaccine virus. J Exper Med 1929;20:327-40.
9. Bertrand P, Girard N, Duval C, d'Anjou J, Chauzy C, Menard JF, et al. Increased hyaluronidase levels in breast tumor metastases. Int J Cancer 1997 Nov;73(3):327-31.

10. Godeau B, Robert AM. Action de l'hyaluronidase testiculaire sur les macromolécules de la matrice extracellulaires cutanée. Étude par analyse d'image informatisée. *Pathol Biol* 1988 Jun;3(6):833-8.
11. Johnsson D, Hällgren R, Elvin A, Gerdin B, Tufveson G. Hyaluronidase ameliorates rejection-induced edema. *Transpl Int* 1999;12(40):235-43.
12. Martins de Oliveira J, Carballo R, Zimmerman HA. Intravenous injection of hyaluronidase in acute myocardial infarction: Preliminary report of clinical and experimental observations. *Amer Heart J* 1959 May;57:712-22.
13. Smiseth OA, Refsum H, Vik-Mo H, Mjos OD. Effect of hyaluronidase on substrate exchange and blood flow in the ischaemic myocardium of the dog. *Clin Physiol* 1982 Feb;2(1):39-50.
14. Sunnergren KP, Rovetto MJ. Hyaluronidase reversal of increased coronary vascular resistance in ischemic rat hearts. *Am J Physiol* 1983 Aug; 245(2):H183-8.
15. Yasuda T, Ribeiro LG, Maroko PR. Effect of hyaluronidase on experimental cerebral infarct size and mortality. *Lab Invest* 1982 Apr;46(4):400-4.
16. Zimmet SE. Hyaluronidase in the prevention of sclerotherapy-induced extravasation necrosis: A dose-response study. *Dermatol Surg* 1996 Jan;22(1):73-6.
17. Nathan N, Benrhaïem M, Lotfi H, Debord J, Rigaud G, Lachatre G, et al. The role of hyaluronidase on lidocaine and bupivacaine pharmacokinetics after peribulbar blockade. *Anesth Analg* 1996 May;82(5):1060-4.
18. Roberts JE, MacLeod BA, Hollands RH. Improved peribulbar anaesthesia with alcalinization and hyaluronidase. *Can J Anaesth* 1993 Sep;40(9):835-8.
19. Rowley SA, Hale JE, Finlay RD. Sub-Tenon's local anaesthesia: the effect of hyaluronidase. *Br J Ophtalmol* 2000 Apr;84(4):435-6.
20. Clark LE, Mellette JR Jr. The use of hyaluronidase as an adjunct to surgical procedures. *J Dermatol Surg Oncol* 1994 Dec;20(12):842-4.

21. Nevarre DR, Tzarnas CD. The effects of hyaluronidase on the efficacy and on the pain of administration of 1% lidocaine. *Plast Reconstr Surg* 1998 Feb;100(2):365-9.
22. Chajara A, Raoudi M, Delpéch B, Leroy M, Basuyan JP, Levesque H. Increased hyaluronan and hyaluronidase production and hyaluronan degradation in injured aorta of insulin-resistant rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000 Jun;20(6):1480-7.
23. Disa JJ, Chang RR, Mucci SJ, Goldberg NH. Prevention of adriamycin-induced full-thickness skin loss using hyaluronidase infiltration. *Plast Reconstr Surg* 1998 Feb;101(2):370-4.
24. Bins-Ely P, Miltersteiner AR, Hoff FC, d'Acampora AJ. Dispositivo do tipo colar cervical para proteção de ferida operatória abdominal em ratos. *Acta Cir Bras* 1997;12 Supl 2:15-6.
25. Guyton AC, Hall JE. Controle local do fluxo sanguíneo pelos tecidos e sua regulação humoral. In: Guyton AC, Hall JE. *Tratado de Fisiologia Médica*. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. p.181-9.
26. McFarlane RM, De Young G, Henry RA. The design of a pedicled flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plast Reconstr Surg* 1965;35:177-82.
27. Grossman JA, McGonagle BA, Dowden RV, Dinner MI. The effect of hyaluronidase and dimethyl sulfoxide(DMSO) on experimental skin flap survival. *Ann Plast Surg* 1983 Sep;11(3):223-6.
28. Pimentel LAS, Goldenberg RCS. Injeção local de hialuronidase para aumento da sobrevivência de retalhos cutâneos: Estudo experimental. *Rev Soc Bras Cir Plast* 1999 Jan/Fev;14(1):49-58.
29. Syed SA, Tasaki Y, Fujii T, Hirano A, Kobayashi K. A new experimental model: the vascular pedicle cutaneous flap over the dorsal aspect (flank and hip) of the rat. *Br J Plast Surg* 1992 Jan;45(1):23-5.

30. Syed SA, Pierce J, Reid M, Thomson JG, Restifo RJ. A new experimental model: the vascular pedicled cutaneous flap over the mid dorsum of the rat. *Ann Plast Surg* 1997 Nov;39(5):495-9.
31. Deune EG, Koopman RBS, Smith ME, Hong SP, Ozbek MR, Khouri RK. Prevention of ischemia-reperfusion injury with a synthetic metalloprotein superoxide dismutase mimic, SC52608. *Plast Reconstr Surg* 1996 Sep;98(4 suppl 1):711-8.
32. Carpenter RJ, Angel MF, Morgan RF. Dimethyl sulfoxide increases the survival of primarily ischemic island skin flaps. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994 Feb;110(2):228-31.
33. Cordeiro PG, Mastorakos DP, Hu QY, Kirschner RE. The protective effect of L-Arginine on ischemia-reperfusion injury in rat skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1997 Oct;100(5):1227-33.
34. Bins-Ely P. Efeito da autonomização no retalho miocutâneo abdominal transversal de músculo reto do abdome, em ratas [Dissertação]. São Paulo (SP): UFSP; 1998.

## **NORMAS ADOTADAS**

### **Ficha Catalográfica (descritores)**

BIREME – Centro Latino-Americano e do Caribe de informações em Ciências da Saúde. DeCs – Descritores em Ciências da Saúde: lista alfabética 2ª ed. Ver. Amp. São Paulo: BIREME, 1992. 111p.

### **Relatório:**

Normas para elaboração de Dissertação do Curso de Mestrado em Ciências Médicas. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Saúde, Mestrado em Ciências Médicas. Florianópolis – SC, 1999.

### **Referências:**

Normas do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (Vancouver) International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Ann Intern Med 1997;126:36-47.

## **APÊNDICE**

**APÊNDICE 1**  
**PROTOCOLO DE PESQUISA**

# PROTOCOLO DE PESQUISA

## 1. IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL

No.  Data

Peso  Gramas.

Grupo

A. 100 UI/dia hialuronidase

B. 50 UI/dia hialuronidase

C. água destilada

D. *SHAM*

## 2. PROCEDIMENTO OPERATÓRIO

- 1 Anestesia
- 2 Depilação
- 3 Técnica: Retalho 2 x 7 cm e sutura com fio náilon 6-0
- 4 Infiltração com 2 ml de: 
  - 1 nenhuma substância (*SHAM*)
  - 2 hialuronidase 100 UI/dia
  - 3 hialuronidase 50 UI/dia
  - 4 água destilada
- 5 Colocação de colar cervical

## 3. INFILTRAÇÃO NO PÓS-OPERATÓRIO

- 24 horas após (1° PO)
- 48 horas após (2° PO)
- 72 horas após (3° PO)



#### 4. EVOLUÇÃO DIÁRIA

ITEM	DIA PÓS-OPERATÓRIO (PO)							
	0	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º
1								
2								
3								
4								
5								

1. Atividade do rato:
  0. Sem movimento
  1. Movimento apenas ao estímulo
  2. Movimento espontâneo
  3. Irritado
2. Características do retalho quanto à mudança de cor:
  0. Sem mudança
  1. Azulado ou roxo
  2. Preto
  3. Misto
3. Características do retalho quanto aos limites da área suspeita:
  0. Sem área suspeita
  1. Não delimitada
  2. Delimitada
4. Características do retalho quanto à extensão da área suspeita:
  0. Sem área suspeita
  1. Menor do que 1/5 (20%) do retalho
  2. Menor do que 2/5 (40%) do retalho
  3. Igual ou maior do que 2/5 (40%) do retalho
5. Deiscência do retalho:
  0. Sem deiscência
  1. Deiscência parcial não relacionada à necrose do retalho
  2. Deiscência parcial relacionada à necrose do retalho
  3. Deiscência subtotal (>2/3) relacionada à necrose do retalho
  4. Deiscência total relacionada à necrose do retalho

## 5. DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA

- dia 0 (procedimento operatório)
- 1º pós-operatório
- 2º pós-operatório
- 3º pós-operatório
- 5º pós-operatório
- 7º pós-operatório

## 6. ANÁLISE PELO PROGRAMA *IMAGE TOOL*®

<i>Image Tool</i> ®	DIAS PÓS-OPERATÓRIO (PO)					
	0	1	2	3	5	7
ÁREA TOTAL (cm <sup>2</sup> )						
ÁREA DE NECROSE (cm <sup>2</sup> )						
PORCENTAGEM (%)						

## 7. OUTRAS OBSERVAÇÕES

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## **APÊNDICE 2**

### **BASE DE DADOS**

**Variáveis: grupo, peso, atividade do rato.**



## **APÊNDICE 3**

### **BASE DE DADOS**

**Variáveis: cor do retalho, limites da área suspeita, extensão da área suspeita.**

Nº	GRUPO	DIA 0			1º PO			2º PO			3º PO			4º PO			5º PO			6º PO			7º PO		
		C	L	E	C	L	E	C	L	E	C	L	E	C	L	E	C	L	E	C	L	E	C	L	E
1	A	1	1	3	0	0	0	1	1	1	1	1	2	1	1	2	2	1	3	2	1	3	2	1	3
2	A	1	1	1	3	1	1	2	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2
3	A	1	1	2	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
4	A	0	0	0	0	0	0	1	1	3	1	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3
5	A	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	1	2	3	1	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2
6	A	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1
7	A	0	0	0	1	1	3	1	1	3	1	1	3	2	2	3	2	2	3	3	2	3	3	2	3
8	A	1	1	1	3	1	1	3	1	1	3	1	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1
9	A	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	1	1	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2
10	A	0	0	0	1	1	2	1	1	2	2	1	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
11	A	0	0	0	1	1	3	1	1	3	1	1	3	2	1	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3
12	B	1	1	3	1	1	2	2	1	3	2	1	3	2	1	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2
13	B	0	0	0	1	1	1	1	2	2	1	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2
14	B	1	1	3	1	1	3	2	1	3	2	1	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
15	B	0	0	0	1	1	2	2	1	3	2	1	3	2	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
16	B	0	0	0	1	1	2	2	1	2	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	2	3	3	2	2
17	B	0	0	0	1	1	2	1	1	2	2	1	2	2	1	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2
18	B	1	1	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	2	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2
19	B	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1
20	B	0	0	0	2	1	2	2	1	2	2	1	3	2	1	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
21	B	0	0	0	2	1	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2
22	B	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1
23	C	0	0	0	1	1	2	2	1	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
24	C	0	0	0	1	1	2	1	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	2	3	3	2	3
25	C	1	1	1	1	1	2	3	1	3	3	2	2	2	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
26	C	0	0	0	1	1	3	3	1	3	2	1	3	2	1	3	3	1	3	2	2	3	3	2	3
27	C	0	0	0	1	1	1	2	1	2	2	1	3	2	1	3	2	2	3	3	2	3	3	2	3
28	C	1	1	1	1	1	2	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	2	3	3	2	3	3	2	3
29	C	0	0	0	2	1	3	2	2	3	2	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
30	C	0	0	0	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
31	C	0	0	0	1	1	2	2	1	3	2	1	3	2	2	3	2	2	3	3	2	3	3	2	3
32	C	0	0	0	1	1	3	1	1	2	2	1	2	2	1	2	2	2	3	3	2	3	3	2	3
33	D	1	1	3	1	1	3	2	1	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
34	D	2	1	2	1	1	2	2	1	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1
35	D	1	1	3	1	1	3	3	1	2	3	1	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
36	D	0	0	0	1	1	1	1	1	2	1	1	3	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
37	D	1	1	2	1	1	2	1	1	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2
38	D	1	1	2	1	1	2	3	1	2	2	1	2	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
39	D	0	0	0	1	1	2	1	1	2	2	1	2	2	1	3	3	2	2	3	2	2	3	2	2
40	D	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	2	2	3	2	2
41	D	0	0	0	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	3
42	D	0	0	0	1	1	3	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	2	1	3	2	2	3	2	2

C= cor do retalho; L= limite da área suspeita; E= extensão da área suspeita.

## **APÊNDICE 4**

### **BASE DE DADOS**

**Variáveis: área total do retalho, área de suspeita,  
porcentagem de área suspeita.**

N°	GRUPO	DIA 0			1° PO			2° PO			3° PO			5° PO			7° PO		
		TOT	NEC	%	TOT	NEC	%	TOT	NEC	%	TOT	NEC	%	TOT	NEC	%	TOT	NEC	%
1	A	12,21	0,00	0,00	13,45	3,91	29,07	13,13	3,78	28,79	12,51	5,31	42,45	11,82	4,88	41,29	11,92	5,29	44,38
2	A	11,13	0,00	0,00	11,58	3,37	29,10	10,52	3,27	31,08	10,13	3,08	30,40	9,91	3,59	36,23	9,36	3,33	35,58
3	A	12,83	0,00	0,00	12,67	3,74	29,52	12,65	3,01	23,79	11,71	4,54	38,77	11,65	5,58	47,90	11,25	4,62	41,07
4	A	13,19	0,00	0,00	14,30	5,60	39,16	12,72	5,76	45,28	13,02	5,71	43,86	12,96	6,35	49,00	11,88	6,01	50,59
5	A	13,94	0,00	0,00	12,73	4,54	35,66	11,98	4,43	36,98	12,80	3,95	30,86	11,95	3,95	33,05	12,90	4,75	36,82
6	A	13,65	0,00	0,00	15,46	2,33	15,07	13,78	2,00	14,51	13,17	2,37	18,00	13,56	2,56	18,88	14,52	3,35	23,07
7	A	12,96	0,00	0,00	14,07	5,05	35,89	12,89	4,61	35,76	13,93	5,90	42,35	12,28	4,97	40,47	11,48	4,55	39,63
8	A	12,03	0,00	0,00	12,03	1,74	14,46	10,79	2,10	19,46	9,63	2,33	24,20	10,39	2,42	23,29	10,61	2,34	22,05
9	A	13,56	0,00	0,00	13,57	2,15	15,84	13,19	2,11	16,00	12,47	3,23	25,90	12,44	3,84	30,87	12,77	4,90	38,37
10	A	14,71	0,00	0,00	13,76	5,45	39,61	15,88	6,94	43,70	14,35	5,75	40,07	11,87	6,44	54,25	12,49	5,65	45,24
11	A	13,22	0,00	0,00	14,56	6,03	41,41	13,70	5,90	43,07	13,47	6,88	51,08	11,88	5,39	45,37	10,67	5,20	48,73
12	B	13,62	0,00	0,00	11,61	4,24	36,52	12,35	4,29	34,74	11,90	5,06	42,52	11,48	4,54	39,55	11,90	5,29	44,45
13	B	10,96	0,00	0,00	11,03	2,52	22,85	10,05	1,90	18,91	10,72	2,54	23,69	10,06	2,75	27,34	10,31	3,22	31,23
14	B	12,26	0,00	0,00	11,73	7,63	65,05	12,06	7,18	59,54	10,32	6,43	62,31	10,43	6,63	63,57	9,89	6,30	63,70
15	B	12,85	0,00	0,00	11,10	4,69	42,25	11,21	6,26	55,84	10,34	5,53	53,48	10,04	5,72	56,97	10,62	5,87	55,27
16	B	13,00	0,00	0,00	14,15	4,28	30,25	13,03	5,40	41,44	11,76	4,72	40,14	11,58	4,14	35,75	12,40	3,95	31,85
17	B	14,11	0,00	0,00	14,58	5,66	38,82	14,06	4,43	31,51	13,55	4,44	32,77	12,74	5,41	42,46	12,59	6,08	48,29
18	B	12,36	0,00	0,00	11,09	3,19	28,76	11,88	2,88	24,24	10,84	3,42	31,55	10,27	3,60	35,05	11,20	3,85	34,38
19	B	11,41	0,00	0,00	11,24	1,46	12,99	11,96	1,31	10,95	10,83	1,19	10,99	11,80	1,65	13,98	11,94	1,36	11,39
20	B	12,12	0,00	0,00	11,94	3,29	27,55	13,36	6,13	45,88	11,40	5,29	46,40	9,52	4,64	48,74	10,87	4,85	44,62
21	B	11,12	4,37	39,30	9,82	3,79	38,59	11,37	4,37	38,43	10,76	4,10	38,10	9,85	3,70	37,56	9,60	3,29	34,27
22	B	11,42	0,00	0,00	11,42	1,35	11,82	11,49	0,90	7,83	10,95	2,07	18,90	10,17	2,39	23,50	10,41	2,16	20,75
23	C	13,16	0,00	0,00	11,60	5,62	48,45	10,71	4,38	40,90	11,09	5,69	51,31	10,79	5,12	47,45	9,45	3,94	41,69
24	C	11,96	0,00	0,00	12,91	7,59	58,79	12,58	6,16	48,97	11,26	5,51	48,93	10,16	5,49	54,04	10,11	4,74	46,88
25	C	14,35	0,00	0,00	14,33	7,03	49,06	14,22	7,50	52,74	12,18	5,87	48,19	13,15	6,35	48,29	13,62	6,59	48,38
26	C	12,96	0,00	0,00	12,15	5,63	46,34	12,00	5,60	46,67	12,63	6,26	49,56	11,45	5,88	51,35	10,62	4,62	43,50
27	C	13,34	0,00	0,00	11,45	5,80	50,66	10,88	5,79	53,22	12,97	7,80	60,14	11,18	5,75	51,43	10,24	5,57	54,39
28	C	14,14	0,00	0,00	13,91	3,85	27,68	13,67	7,69	56,25	13,29	8,06	60,65	12,49	8,58	68,69	12,09	8,15	67,41
29	C	12,32	3,08	25,00	11,78	6,26	53,14	11,63	6,21	53,40	12,17	6,42	52,75	11,22	5,78	51,52	11,71	5,71	48,76
30	C	12,87	0,00	0,00	11,49	6,21	54,05	10,77	5,50	51,07	10,52	6,32	60,08	10,14	6,39	63,02	10,69	6,43	60,15
31	C	12,68	0,00	0,00	13,80	8,24	59,71	12,95	5,73	44,25	12,56	6,70	53,34	11,32	6,65	58,75	10,68	6,48	60,67
32	C	14,05	0,00	0,00	12,03	5,78	48,05	12,98	6,12	47,15	12,87	6,57	51,05	11,75	6,33	53,87	11,33	5,42	47,84
33	D	12,36	7,48	60,52	11,85	7,10	59,92	12,81	8,91	69,56	12,34	8,72	70,66	10,46	7,15	68,36	11,57	8,29	71,65
34	D	14,73	0,00	0,00	11,78	4,57	38,79	12,14	5,34	43,99	12,52	3,39	27,08	10,70	2,82	26,36	11,18	2,95	26,39
35	D	13,16	6,03	45,82	11,88	5,71	48,06	13,73	7,09	51,64	12,16	6,58	54,11	12,30	7,00	56,91	12,62	6,81	53,96
36	D	14,99	7,44	49,63	14,32	3,83	26,75	14,66	4,93	33,63	14,99	6,02	40,16	13,75	5,07	36,87	13,60	5,60	41,18
37	D	12,95	0,00	0,00	13,03	4,28	32,85	13,55	5,57	41,11	12,65	4,93	38,97	12,43	4,83	38,86	13,80	5,61	40,65
38	D	12,69	0,00	0,00	12,68	5,23	41,25	13,43	5,90	43,93	12,89	6,12	47,48	10,68	5,37	50,28	10,53	5,11	48,53
39	D	12,23	0,00	0,00	12,38	4,18	33,76	12,72	5,88	46,23	12,08	5,22	43,21	12,07	5,61	46,48	12,46	5,22	41,89
40	D	13,82	0,00	0,00	13,63	7,62	55,91	14,23	5,94	41,74	14,32	5,67	39,59	13,95	5,00	35,84	13,82	4,89	35,38
41	D	12,26	0,00	0,00	12,62	7,01	55,55	12,98	7,40	57,01	12,98	7,10	54,70	12,99	7,85	60,43	13,06	7,42	56,81
42	D	12,81	0,00	0,00	12,21	5,79	47,42	12,46	1,89	15,17	12,31	1,82	14,78	12,31	3,89	31,60	11,78	5,01	42,53

TOT= área total do retalho; NEC= área comprometida; %= percentagem de área comprometida.



## **ANEXO**

# HYALOZIMA®

## HYALURONIDASE

### FORMA FARMACÊUTICA E APRESENTAÇÕES:

**Pó liofilizado:**  
150 UTR. Caixa com 10 ampolas + 10 ampolas de solvente  
2.000 UTR. Caixa com 03 ampolas + 03 ampolas de solvente  
20.000 UTR. Caixa com 03 frascos-ampolas + 03 ampolas de solvente

### COMPOSIÇÃO:

<b>150 UTR</b>	
Cada ampola contém:	
Hialuronidase .....	150 UTR
Acompanha uma ampola de solvente que contém:	
Água para injetáveis .....	2 ml
<b>2.000 UTR</b>	
Cada ampola contém:	
Hialuronidase .....	2.000 UTR
Acompanha uma ampola de solvente que contém:	
Água para injetáveis .....	5 ml
<b>20.000 UTR</b>	
Cada frasco-ampola contém:	
Hialuronidase .....	20.000 UTR
Acompanha uma ampola de solvente que contém:	
Água para injetáveis .....	5 ml

### USO ADULTO

#### INFORMAÇÕES AO PACIENTE

Conservar todas as apresentações de Hyalozima em local seco e fresco.  
Prazo de Validade: impresso nas ampolas e nos rótulos dos frascos-ampolas.  
Evitar o uso após o prazo indicado, devido ao risco de ocorrerem alterações nas propriedades do produto.

#### TODO MEDICAMENTO DEVE SER MANTIDO FORA DO ALCANCE DAS CRIANÇAS

A solução reconstituída deve ser administrada imediatamente após a diluição. Hyalozima não deve ser injetada em áreas infeccionadas ou com inflamações agudas. Recomendase a realização de testes de sensibilidade antes do início do tratamento com o produto.  
Hyalozima injetada por via sub-cutânea, intradérmica ou intramuscular pode provocar reações alérgicas em 5 ou 6% das pessoas. Tais reações se manifestam com eritema (vermelhidão), eventualmente nódulos e tendem a desaparecer com a interrupção do tratamento. Por via endovenosa (Hyalozima 20.000) não foram constatadas reações significativas, podendo, contudo, aparecerem reações anafiláticas caso ocorra tratamento continuado.

**NÃO TOMAR MEDICAMENTO SEM CONHECIMENTO DO SEU MÉDICO; PODE SER PERIGOSO PARA A SUA SAÚDE**

### INFORMAÇÕES TÉCNICAS:

#### MODO DE AÇÃO

Hyalozima é nome comercial da Hialuronidase. Trata-se de uma enzima extraída de testículos bovinos, apresentada em forma liofilizada, agluti e apróxima. A Hialuronidase age por despolimerização do ácido hialurônico, um muçopolissacarídeo, componente essencial da substância fundamental do tecido conjuntivo. A Hialuronidase é um fator de difusão enzimático.

#### INDICAÇÕES

Na reabsorção de coleções serosas (exsudatos, transudatos).  
Na difusão de anestésicos locais e outras a critério médico.

#### CONTRA-INDICAÇÕES

A Hialuronidase não deve ser aplicada em áreas infeccionadas pela possibilidade de difusão do processo infeccioso, nas proximidades da neoplasias e em pessoas sensíveis à hialuronidase.

#### INTERAÇÕES FARMACOLÓGICAS

A Hialuronidase administrada por via endovenosa é inativada pela heparina.

#### POSOLOGIA

Tratando-se de produto de múltiplas aplicações em várias especialidades com dosagens variadas a exclusivo critério médico, é difícil fixar posologias. Contudo, como módulo indicativo, pode-se propor a dose de 150 UTR para cada 10 ml de anestésico local e de 2.000 UTR para aplicações fracionadas na mesoterapia, deixando-se ampla liberdade de escolha das doses por parte do médico.

#### VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA

Registro M.S.: Nº 1.0116.0012  
Farm. Resp.: Dr. Eduardo Sérgio Medeiros Magliano - CRF-SP Nº 7179

Nº do lote, Data de Fabricação e Validade: vide cartão.



ADOSEN

APSEN FARMACEUTICA S/A  
Rua La Paz, 37/87 - São Paulo - SP  
CNPJ 82.462.015/0001-29  
Indústria Brasileira



## ANEXO 2

# HYPNOL®

Pentobarbital Sódico 3%

# Hypnol 3%

Pentobarbital Sódico

Solução injetável - 50 ml - USO VETERINÁRIO

**APRESENTAÇÃO:** - Solução injetável a 3%, frasco-ampola contendo 50 ml.

**COMPOSIÇÃO COMPLETA**

Pentobarbital Sódico ..... 30 mg  
Veículo estéril q.s.p. .... 1 ml

**INFORMAÇÕES GERAIS**

Hypnol possui um prazo de validade de 24 meses após a data de fabricação. Deve ser armazenado em local fresco e ao abrigo da luz. Nunca use medicamentos com prazo de validade vencido.

Hypnol injetável não possui conservantes. No caso do uso parcial do conteúdo do frasco, recomenda-se assepsia rigorosa no momento da retirada do produto, e conservação do restante em geladeira.

Citando for aplicado o produto, a velocidade de injeção deve ser obrigatoriamente lenta.

**INFORMAÇÕES TÉCNICAS**

**INDICAÇÕES:** - O Hypnol 3% (Pentobarbital Sódico) é indicado como medicação pré-anestésica ou anestésico em procedimentos cirúrgicos de moderada duração e como sedativo nos casos que requeram o uso de barbitúricos, como por exemplo intoxicação por estiracina. Pode ser empregado ainda em estímulos.

**CONTRA-INDICAÇÕES:** - Hypnol 3% (Pentobarbital Sódico) não deve ser administrado em animais em choque, tóxicos e portadores de nefropatias, hepatopatias e cardiopatias graves. Animais fazendo uso de cloranfenicol não devem usar o pentobarbital sódico e intoxicações por depressores do SNC (também contra indicam seu emprego).

**PRECAUÇÕES:** - Em animais idosos, gestantes e anêmicos a dose de Hypnol 3% deve ser reduzida e o produto só deve ser usado quando não se dispôr de opção mais segura. O Pentobarbital Sódico, pode causar parada respiratória se não for injetado na velocidade adequada e deve-se ter à mão material para esta emergência. Como qualquer barbitúrico, o pentobarbital sódico pode causar dependência física e ou psíquica.

**INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS:** - Os barbitúricos potencializam os efeitos e são potencializados por outros depressores do SNC como o álcool, benzodiazepínicos e

anestésicos voláteis e seu uso concomitante aumenta os riscos de depressão respiratória. Cloranfenicol e outros inibidores enzimáticos prolongam a meia vida plasmática do pentobarbital aumentando seus efeitos. Por sua vez, Hypnol 3% é um indutor enzimático, aumentando a velocidade com que diversas drogas são metabolizadas, com decréscimo de seus efeitos.

**REAÇÕES ADVERSAS:** - A reação adversa com o uso do pentobarbital sódico que exige maior cautela é a depressão acentuada do SNC, com parada respiratória. Este risco, comum à todos os barbitúricos, pode ser evitado calculando-se cuidadosamente a dose e a velocidade de injeção do medicamento. Em alguns animais pode ocorrer excitação paroxística, principalmente em doses baixas. Vômitos ocorrem frequentemente no pós-operatório.

**POSOLOGIA:** - As doses anestésicas recomendadas situam-se entre 15 e 30mg/kg de peso corpóreo, dependendo do uso ou não de medicação pré-anestésica. Normalmente o ajuste da dose varia de animal para animal, requerendo, por parte de quem administra o produto, o conhecimento dos reflexos a serem observados em anestesia, bem como da resposta do paciente ao produto. Como sedativo são recomendadas doses de 6 ou 8 mg/kg de peso corpóreo.

**SUPERDOSAÇÃO:** - Não existem antagonistas específicos para o pentobarbital sódico. A conduta na superdosagem visa manter as funções vitais, principalmente a respiratória, com o emprego de ventilação mecânica e estimulantes do SNC.

Venda sob prescrição obrigatória e aplicação sob orientação do Médico Veterinário.

O abuso deste medicamento pode causar dependência.

Nº do lote, data de fabricação e prazo de validade: vide cartucho

Licenciado no Ministério da Agricultura sob nº 3.922/92

Farm. resp.: Dr. Milton Ribeiro - CRF-SP nº 5363

FONTOVETER

DIVISÃO VETERINÁRIA DE  
CRISTALIA - PRODUTOS QUÍMICOS  
FARMACEUTICOS LTDA.



Rod. Itapira-Lindóia, Km 14 - Itapira-SP  
CGC nº 44.734.671/0001-61  
Indústria Brasileira

# ANEXO 3

## ROMPUN®

Cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4H-1,3-tiazina 2g/100ml

# Rompun®



Uso Veterinário  
**Sedativo, Analgésico  
e Relaxante muscular**



para bovinos, eqüinos, caprinos e felinos

#### Composição

Cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4H-1,3-tiazina

2 g

Excipiente q.s.p.

100 ml

#### Farmacologia e toxicologia

ROMPUN produz nos animais um estado de adormecimento com um elevado grau de analgesia, cuja profundidade depende da dose empregada e que, após a administração de doses elevadas, não pode ser, em geral, interrompido por estímulos exteriores. O efeito relaxante muscular central provoca um relaxamento muscular generalizado, que completa o estado de analgesia e de adormecimento. Após a administração de ROMPUN não se observam lesões de intoxicação com o aumento ou a diminuição da concentração de substância ativa. Durante a evolução do efeito de ROMPUN dá-se uma diminuição dos movimentos respiratórios, tal como no estado de adormecimento natural. Ao mesmo tempo, observa-se uma ligeira bradicardia. ROMPUN provoca, além disso, nos bovinos, numa dose de 0,25 mg/kg, um abaixamento moderado e passageiro da pressão arterial sistólica e diastólica.

ROMPUN provoca ocasionalmente uma expulsão de fezes pastosas e líquidas, 12 a 16 horas após a sua administração, normalizando-se, na maior parte das vezes, a consistência após algumas horas. A temperatura aumenta frequentemente da forma passageira. Estes fenómenos, os ruidos respiratórios aumentados e os mugidos que podem surgir ocasionalmente, carecem de importância. ROMPUN não altera o quadro hemático nem a velocidade de coagulação do sangue e pode provocar nos animais alterações passageiras na condutibilidade do músculo cardíaco, evidenciadas por bloqueio atrioventricular parcial. Em gatos pode haver surto de diurese. Estímulos sonoros altos podem provocar reações nos animais medicados com ROMPUN, portanto se recomenda uma boa contenção dos animais, o que evitará eventuais reações de defesa.

Em cães e gatos, principalmente, quando se usa a via endovenosa, pode haver ocorrência de emese. Esta geralmente aparece de uma só vez. Tal fato pode até ser desejável, normalmente em cirurgias de emergência, onde é impossível submeter o animal a jejum prévio. Cães e gatos toleram doses de até 10 mg/kg de peso vivo (3 vezes a dose normal) todavia podem ocorrer tremores musculares, vômitos e longa sedação.

#### Efeito

Devido as suas propriedades, ROMPUN pode ser aplicado, nos animais, para acalmar pacientes rebeldes e em intervenções cirúrgicas. Conforme as doses administradas, é possível obter: sedação com ligeiro relaxamento muscular e analgesia moderada; tônus muscular nitidamente diminuído, conservando-se no entanto, o animal de pé; sedação e analgesia intensa e relaxamento muscular muito acentuado; o animal nem sempre pode manter-se de pé; forte sedação, analgesia e relaxamento muscular quase completo, não se conservando, regra geral, o animal de pé. O efeito surge com plena intensidade aproximadamente 5 a 15 minutos após a injeção. Pode reconhecer-se pelos seguintes sintomas, abaixamento da cabeça e das pálpebras superiores; salivação; com doses mais elevadas, o animal deita-se e surge um estado semelhante ao adormecimento. A intensidade e duração de sedação dependem da dose e mantêm-se nitidamente durante várias horas após doses altas.

O efeito anestésico é suficiente para intervenções dolorosas com duração de aproximadamente 30 a 40 minutos. O relaxamento muito rápido dos músculos cria boas condições para exames manuais de diversos tipos e produz um campo operatório isento de espasmos. Diminui rapidamente o tônus da musculatura do intestino grosso, mesmo com doses baixas, impede-se assim a expulsão das fezes, o que é particularmente útil nos casos de tratamento dos cascos e da vagina. Facilita-se assim grandemente o exame retal.

#### Bovinos

##### Aplicação e posologia

ROMPUN é injetado por via intramuscular.

ROMPUN é administrado em doses de 0,25 a 1,5 ml/100 kg de peso vivo, conforme o tipo de efeito desejado.

Dose	mg/kg	ml/50 kg	ml/100 kg	ml/500 kg de peso vivo
I	0,05	0,12	0,25	1,20
II	0,10	0,25	0,50	2,50
III	0,20	0,50	1,00	5,00
IV	0,30	0,75	1,50	7,50

Em algumas indicações, a dose necessária está sujeita a oscilações individuais. Caso seja necessário, é possível intensificar ou prolongar o efeito do ROMPUN, por meio de uma segunda injeção, aproximadamente 10 a 15 ou 30 minutos depois da primeira administração.

No caso de operações muito dolorosas e profundas (por exemplo amputação de cascos, laparotomia), está vantajoso associar o ROMPUN a uma anestesia local ou geral. Com a administração de ROMPUN a aplicação destes tipos de anestésicos torna-se mais fácil. Pode-se aumentar a dose para 1,5 ml/100 kg em casos excepcionais, em operações muito dolorosas ou morosas e ainda, para se obter um relaxamento muscular mais duradouro e particularmente intenso. Essa dose pode ser usada também para aplicação em animais de triagem extensiva, não acostumados ao homem.

#### Indicações

Como as formas do efeito, e assim as possibilidades de aplicação do preparado dependem da dose, podem ser usadas as indicações da seguinte maneira:

Dose I (0,25 ml/100 kg)

Nítida sedação. A analgesia basta para pequenas intervenções como, por exemplo, para efetivação de uma anestesia geral, sem movimentos de defesa que possam perturbar o processo.

# ROMPUN®

## Exemplos

Sedação para o carregamento, a pesagem, radiografia, extração de agrafes; facilitar a realização de anestésias locais e outras, rumenotomia, laparotomia, cesariana, redução do prolapso do útero e da torção uterina, facilitação de embriotomia, tratamento intramamário, mudança de pensos.

### Dose II (0,5 ml/100 kg)

Forte sedação. Anestesia média para pequenas intervenções cirúrgicas, especialmente nos tetos. Quando o animal se deita, dificultando o trabalho do veterinário, pode ser mais facilmente levantado por meio de choque elétrico a pilha.

## Exemplos

Desobstrução do canal do teto, suturas superficiais de feridas dos tetos, tratamento de cascos (tumor de Rusterholz) abertura de abscessos, exames na cavidade bucal, obstrução do esôfago; colocação de argola nas narinas; lavagem do ânus.

### Dose III (1 ml/100 kg)

Sedação muito intensa, analgesia ou anestesia e relaxamento muscular para intervenções cirúrgicas mais importantes; ocasionalmente pode ser apropriada uma anestesia complementar de infiltração ou geral. Geralmente o animal não se conserva de pé.

## Exemplos

Amputação dos chifres; tratamento de cascos com o animal deitado, amputação dos cascos, operação no tendão flexor profundo e da articulação dos cascos, operação cesariana em decúbito, eliminação das contrações pós-parto, suturas dos tetos, operação do úbere, amputações de teto ou de tetas supra-numerárias, castrações, esterilizações de touros, exames e tratamentos do pênis; marcação cutânea a ferro; punções, colocação de gesso; extirpação do bulbo ocular; extração de dentes.

### Dose IV (1,5 ml/100 kg)

Sedação muito intensa, anestesia e relaxamento muscular duradouro e intenso para intervenções. O animal não se conserva de pé.

## Medidas de precaução

Deve eliminar-se, por meio de medidas adequadas, a possível timpania que se pode dar eventualmente em todos os ruminantes em decúbito (por exemplo, colocar o animal para a posição deitada normal, ou seja, esterno-abdominal). Além disso, a partir da dose III, é recomendável observar um jejum de algumas horas. Quando se procede a intervenções com o animal em decúbito lateral ou dorsal, recomenda-se deitar o animal com a cabeça e o pescoço baixos para evitar a entrada de saliva ou suco gástrico nos pulmões. Além disso, deve-se considerar que o reflexo da deglutição está diminuído durante o tempo do efeito mais acentuado. Durante o último mês de gravidez não se deve administrar ROMPUN, por poder provocar um parto prematuro. Após a operação, deixar o animal à sombra para evitar excessiva desidratação.

## Caninos e felinos

### Uso isolado

ROMPUN pode ser aplicado por via subcutânea, intramuscular ou endovenosa, na dosagem de 3 mg/kg, ou seja, 1,5 ml/10 kg de peso vivo.

Nesta dosagem, é possível executar suturas, extrações dentárias, limpeza de tártaros, retirada de pontos, coleta de sangue e urina, aplicação de gesso, teste de Thomas, bem como exames radiológicos, limpeza de ouvidos (otite), limpeza de feridas cirúrgicas, estopos de pele e outras intervenções com manifestações dolorosas. Pode ocorrer emese, principalmente quando se usa a via endovenosa (vide farmacologia e toxicologia). Esta dosagem produz sedação que normalmente se mantém por 1 a 2 horas e analgesia 15 a 30 minutos.

## Associado com outros produtos

### 1. Com anestésicos locais:

ROMPUN pode ser associado com anestésicos locais, permitindo intervenções cirúrgicas mais profundas bem como qualquer cirurgia em animais idosos ou impossibilitados de receber barbitúricos.

### 2. Com compostos barbitúricos (anestesia geral):

ROMPUN pode ser usado como pré-anestésico, na dosagem de 0,5 a 1 ml por via intramuscular, associado a barbitúricos com vantagem de reduzir de 50% a 70% as doses destes produtos.

### 3. Com Cloridrato de tetamina:

Na dosagem de 0,1 ml/kg de ROMPUN e de 6 a 10 mg de Cloridrato de tetamina/kg de peso vivo.

## Equinos

### Aplicação e posologia

ROMPUN é aplicado por via endovenosa em doses de 5 a 8 ml/100 kg de peso vivo. Doses superiores a 2 mg/kg, ou seja, 10 ml/100 kg, podem provocar às vezes queda do animal e contrações tônico-clônicas passageiras, sendo portanto contra-indicadas.

### Indicações

Em equinos a droga age apenas como sedativo e analgésico, permanecendo geralmente o animal em pé após sua aplicação. Promove forte sedação e marcado relaxamento muscular. A analgesia permite intervenções cirúrgicas rápidas. Para intervenções muito dolorosas é recomendável associar a ROMPUN uma anestesia local ou geral.

## Exemplos

Sedação para transporte, pesagem, radiografia, tratamento de cascos, para potencializar anestesia geral com cloral ou barbitúricos, para facilitar palpação retal e tranquilizar as águas para a riota natural.

## Cuidados

Em caso de excessiva depressão respiratória, após o uso de ROMPUN, recomenda-se a aplicação de analépticos respiratórios.

Necessidade, os melhores resultados foram obtidos com Cloridrato de Doxapram (Dopram injetável), na dose de 5 mg/kg de peso vivo, por via endovenosa. Os resultados são rápidos e acentuados em cães, todavia não são muito evidentes em gatos e equinos. ROMPUN deve ser usado com cautela em animais com severa depressão respiratória, graves lesões cardíacas, hepáticas ou renais, choques endotóxicos e traumáticos e sob severas condições de stress (calor ou frio excessivo, fadiga, etc.).

A ocorrência de eventuais bradicardias ou bloqueios átrioventriculares parciais, embora careça de importância clínica, pode ser evitada com doses padrão de atropina, antes ou logo após o uso de ROMPUN.

O uso de ROMPUN em associação com barbitúricos deve ser feito com cautela para evitar grande somatória de efeitos depressores sobre o sistema nervoso central.

Não se deve associar ROMPUN com outros tranquilizantes.

## Nota

O armazenamento de ROMPUN em ambientes quentes pode, ocasionalmente, provocar pequenas precipitações nas paredes do frasco, que não interferem na eficiência do produto.

## Embalagem

Frascos contendo 10 e 100 ml.

Conservar em lugar fresco, ao abrigo da luz solar direta.

Venda sob prescrição e aplicação sob orientação do médico veterinário.

Licenciado no Ministério da Agricultura sob n.º 162 em 27.07.70

Responsável técnico: Médico Veterinário

Mário Eduardo Fulga - CRMV-SP nº 2715



Consultas sobre este produto:  
**TELEBAYER 0800-115546**

Fabricado segundo fórmula original de Bayer AG - Alemanha pela  
Bayer S.A. - Saúde Animal - R. Domingos Jorge, 1000 - São Paulo - SP  
CGC 33.018.748/0001-70 - Indústria Brasileira

Saúde Animal

**Bayer**

14815766