

O papel dos radicais livres na fisiopatologia da isquemia e reperfusão em retalhos cutâneos: modelos experimentais e estratégias de tratamento

The role of free radicals in the pathophysiology of ischemia and reperfusion in skin flaps: experimental models and treatment strategies

Eloísa Bueno Pires de Campos¹, Winston Bonetti Yoshida²

Resumo

Com o desenvolvimento da microcirurgia na área da cirurgia plástica reconstrutiva, ampliaram-se as possibilidades de reconstruções antes impossíveis e teve início a evolução dos retalhos à distância, que revolucionaram a especialidade. Atualmente, com a soma dos conhecimentos adquiridos, sabe-se que a frequência de anastomoses vasculares microcirúrgicas pérvias, mesmo em mãos experientes, é de 90 a 95%. As oclusões decorrem geralmente de erro técnico ou trombose vascular e, nesses casos, há necessidade de abordagem cirúrgica, que consiste na trombectomia, revisão da anastomose e restauração do fluxo sanguíneo. Porém, o restabelecimento do suprimento vascular normal paradoxalmente pode ser responsável por lesões ainda mais graves do que as da isquemia *per se*. Estudos mostraram que o afluxo de oxigênio no tecido isquêmico levaria a uma série de alterações bioquímicas, inflamatórias e celulares mediadas principalmente pela formação dos radicais livres de oxigênio. Nesta revisão, serão abordados os principais mecanismos responsáveis por essas alterações, os modelos experimentais usados para seu estudo e as possibilidades terapêuticas no sentido de atenuar as lesões.

Palavras-chave: isquemia, reperfusão, retalhos cirúrgicos, radicais livres, antioxidantes.

Abstract

With the development of microsurgery in the reconstructive plastic surgery area, former impossible restorations have come true, including the distant free tissue transfer. Knowledge accumulated so far indicates a 90 to 95% patency rate of vascular anastomoses in skin flaps. Occlusions are generally due to technical errors or vascular thrombosis. However, the blood flow restoration indicated in these occlusive situations may paradoxically induce to even more important lesions than the ischemia itself. Several studies show that oxygen-derived free radicals are involved in biochemical, inflammatory and cellular alterations that follow blood flow restoration. In this review, we focus on the main mechanisms responsible for these alterations, the experimental models used to study them and the treatment alternatives employed to attenuate lesions of ischemia and reperfusion.

Key words: ischemia, reperfusion, surgical flaps, free radicals, antioxidants.

Com o desenvolvimento da microcirurgia na área da cirurgia plástica reconstrutiva, iniciado por Buncke & Shuntz¹, ampliaram-se as possibilidades de recons-

truções antes impossíveis, e teve início a evolução dos retalhos à distância, que revolucionaram a especialidade. McLean & Buncke, em 1972², realizaram a primeira transferência microcirúrgica do epíplon para cobertura do couro cabeludo. Em 1973, Daniel & Taylor³ realizaram a transferência do retalho inguinocrural para a região pré-tibial, também através da microcirurgia. Concomitantemente, aperfeiçoou-se a técnica cirúrgica, desenvolveram-se avançados microscópios, materiais cirúrgicos delicados e fios ultrafinos. Além disso, aprofundou-se o conhecimento da anatomia microvascular e nervosa e o estudo da fisiologia dessas estruturas, que redundaram no surgimento de novos retalhos.

1. Cirurgiã plástica, Hospital das Clínicas de Botucatu, Botucatu, SP.
2. Professor adjunto, livre docente, Departamento de Cirurgia e Ortopedia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

Este artigo é baseado na dissertação de Mestrado em Saúde Pública da primeira autora.

Artigo submetido em 10.08.04, aceito em 05.10.04.

Atualmente, com a soma dos conhecimentos adquiridos, sabe-se que a frequência de anastomoses vasculares microcirúrgicas pérvias, mesmo em mãos experientes, é de 90 a 95%⁴⁻⁶. As oclusões decorrem geralmente de erro técnico ou trombose vascular⁷ e, nesses casos, há necessidade de abordagem cirúrgica, que consiste na trombectomia, revisão da anastomose e restauração do fluxo sanguíneo. O período decorrido entre o aparecimento da oclusão, constatação clínica e posterior revisão corresponde ao tempo em que o retalho permanece isquêmico, isto é, sem fluxo sanguíneo suficiente para suprir as necessidades básicas.

Dependendo do tempo de isquemia e hipóxia, as lesões teciduais podem ser reversíveis ou irreversíveis. Alguns tecidos, por exemplo, os nervos periféricos e músculos, seriam menos resistentes à hipóxia do que à pele⁸. Kerrigan & Daniel⁹ definiram que o período de isquemia crítica seria o tempo máximo que o retalho livre poderia tolerar de isquemia e ainda permanecer viável após reconstrução. Para reverter o estado isquêmico, há necessidade de restauração de fluxo sanguíneo. Porém, o restabelecimento do suprimento vascular normal paradoxalmente pode ser responsável por lesões ainda mais graves do que as da isquemia *per se*. A partir dos estudos de Granger et al.¹⁰, descobriu-se que o afluxo de oxigênio no tecido isquêmico levaria a uma série de alterações bioquímicas, inflamatórias e celulares mediadas principalmente pela formação dos radicais livres de oxigênio.

O objetivo desta revisão será abordar os principais aspectos fisiopatológicos das lesões de isquemia e reperfusão cutânea, descrever o balanço entre os radicais livres e os antioxidantes endógenos, respectivamente, na gênese e prevenção destas alterações e comentar as estratégias de tratamento baseadas principalmente em modelos experimentais.

Radicais livres de oxigênio

O termo radical livre significa qualquer átomo ou molécula que tenha em sua órbita mais externa um ou mais elétrons não-pareados¹¹. O não emparelhamento de elétrons na última camada confere alta reatividade aos átomos e moléculas, pois eles têm uma forte tendência a doar ou receber elétrons.

Nos seres vivos de metabolismo aeróbico, no interior da mitocôndria, o oxigênio sofre redução tetravalente, recebendo quatro elétrons, formando duas moléculas de água através da enzima citocromo oxidase. No

processo abaixo, uma pequena fração (1-2%) reduz-se de modo incompleto, formando os radicais livres superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroxila (OH^{\cdot}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hidroperoxila (HO_2^{\cdot})¹² (Figura 1).

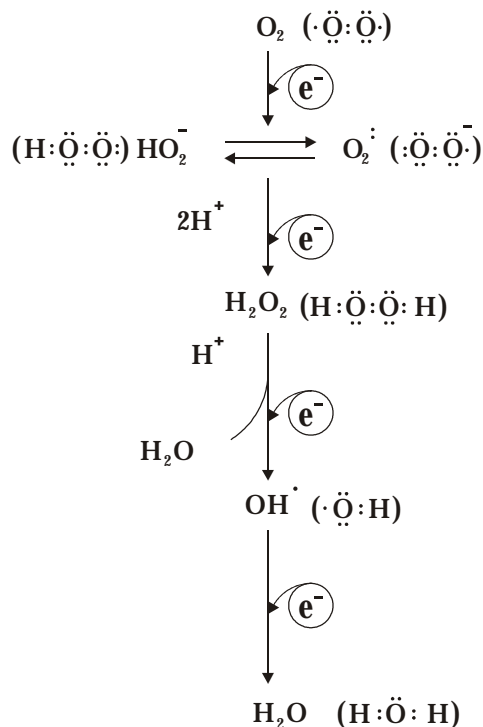


Figura 1 - Redução tetravalente do oxigênio (O_2) na mitocôndria até a formação de água (H_2O) (Adaptado de Cohen¹³).

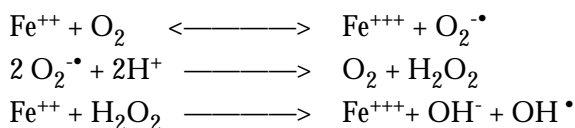
O radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) é formado quando o O_2 sofre a redução univalente¹³. Isoladamente, esse radical é pouco reativo e, portanto, não é altamente citotóxico. Porém, os efeitos deletérios vêm da habilidade deste em gerar radicais secundários, extremamente tóxicos como o radical OH^{\cdot} ¹⁴⁻¹⁷.

O radical hidroperóxido (HO_2^{\cdot}) é a forma protonada do radical superóxido, isto é, possui o próton hidrogênio e, de acordo com Halliwell¹¹, não tem maior facilidade em iniciar a destruição de membranas biológicas que o superóxido.

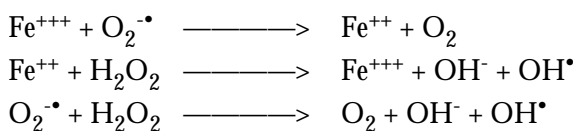
O peróxido de hidrogênio (H₂O₂), apesar de não ser um radical livre, pois não tem elétrons desemparelhados na última camada, é importante porque participa das reações que produzem o radical OH•, seja via reação de Fenton ou de Haber-Weiss. Tem vida longa, é capaz de atravessar camadas lipídicas e pode reagir com a membrana eritrocitária e com proteínas ligadas ao ferro¹⁶. Por esse motivo, há uma tendência atual de se chamar de “espécies reativas do oxigênio” ao invés de radicais livres do oxigênio, o conjunto de substâncias envolvidas nessas reações.

O radical hidroxil (HO•) é um dos mais reativos e é capaz de retirar átomos de hidrogênio do grupo metileno de ácidos graxos polinsaturados, dando início à peroxidação lipídica que acaba provocando a lise da membrana celular. Este radical pode ser formado *in vivo* através de reações de íons de metais de transição (Fe⁺⁺) com peróxido de hidrogênio, através da reação de Fenton e de Haber-Weiss¹⁷.

Reação de Fenton:



Reação de Haber-Weiss:



Segundo Del Maestro¹⁹, o efeito mais lesivo dos radicais livres é a peroxidação lipídica da membrana. Este é um fenômeno complexo, iniciado pela abstração de um átomo de hidrogênio do grupo metileno posicionado entre duas bandas insaturadas na molécula lipídica, formando um novo radical livre lipídico com carbono central, que na presença de oxigênio resulta em peróxidos lipídicos ou lipoperóxidos. A metabolização posterior desses produtos gera o dialdeído malônico, que pode ser dosado, indicando indiretamente o grau de peroxidação (Figura 2).

O papel dos radicais livres no processo de isquemia e reperfusão causando lesão tecidual têm sido extensamente estudado em intestino, estômago, fígado, pâncreas, rins, coração, pele e cérebro¹⁹⁻²¹.

Granger et al.¹⁰, em um estudo sobre isquemia e reperfusão no intestino delgado, propuseram um mecanismo para explicar a origem dos radicais livres: “Durante o período de isquemia, o ATP é cataboli-

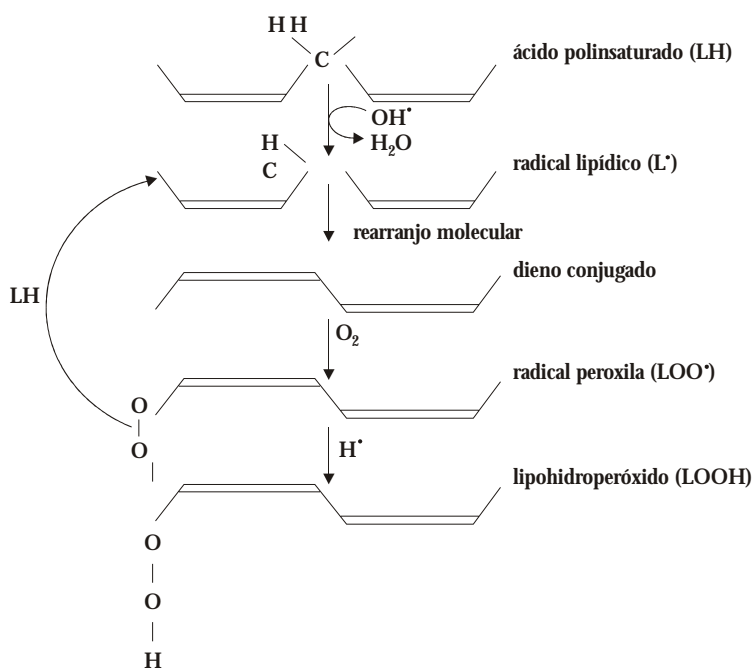


Figura 2 - Representação esquemática da peroxidação lipídica dos ácidos graxos da membrana celular (adaptado de Del Maestro¹⁹).

zado até a hipoxantina, que se acumula nos tecidos. Como resultado do estado de baixa energia, há falência da homeostase celular caracterizada pela perda do gradiente iônico através da membrana celular, permitindo o influxo de Ca^{++} para as células, que ativa a protease a converter a xantina desidrogenase a xantina oxidase. A hipoxantina é o primeiro substrato para a oxidação pela xantina oxidase, o que ocorre quando o segundo substrato, o oxigênio, é fornecido na reperfusão, formando as espécies reativas do metabolismo do oxigênio” (Figura 3).

Outra origem dos radicais livres seria a produção de radicais superóxidos pela já mencionada quebra de elétrons do sistema de transporte de elétrons dentro da mitocôndria ou pela via da ciclooxigenase do metabolismo do ácido aracdônico²³. Por esse último mecanismo haveria a ativação de proteases e fosfolipases inespecíficas induzida pelo acúmulo de cálcio intracelular no período de reperfusão, que levaria à síntese de mediadores pró-inflamatórios: o

fator de agregação plaquetária (PAF) e os compostos eicosanóides (leucotrienos, tromboxane e prostaglandinas). Kerrigan & Stotland²⁴ descreveram que dentre os mediadores, os que teriam papel mais importante no fenômeno da isquemia e reperfusão seriam PAF, leucotrieno B_4 (LTB_4) e tromboxane A_2 (TXA_2), pois eles poderiam secundariamente ampliar a resposta inflamatória pelo aumento de mediadores peptídeos, por exemplo, citocinas, como o fator de necrose tumoral (TNF) e a interleucina-1 (IL-1). O TXA_2 e LTB_4 são, respectivamente, subprodutos da ação da ciclooxigenase e lipoxigenase sobre o ácido aracdônico. Segundo Knight et al.²⁵, o LTB_4 seria um potente quimiotático de leucócito que favoreceria a interação neutrófilo-célula endotelial com liberação de radicais livres e enzimas proteolíticas e o TXA_2 , além de induzir os neutrófilos a liberarem radicais livres, seria um potente vasoconstritor e agregador plaquetário, diminuindo o fluxo capilar após reperfusão (Figura 4).

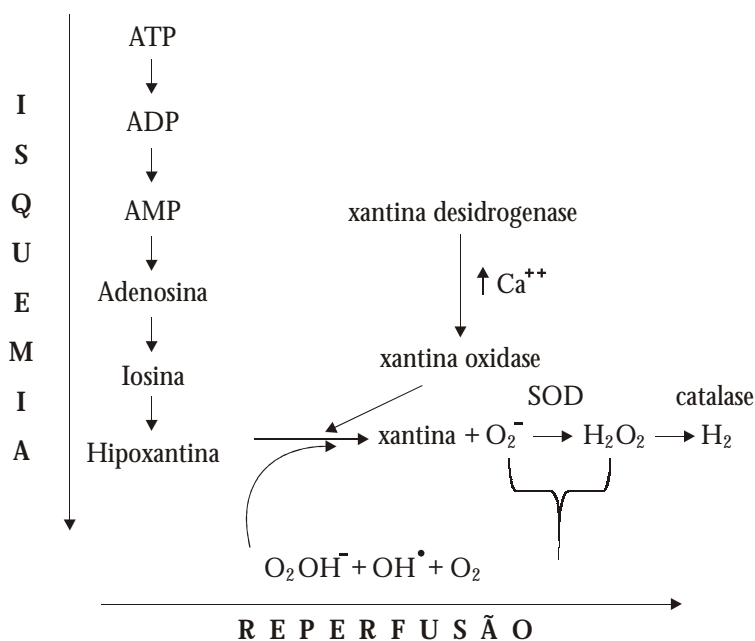


Figura 3 - Via metabólica para a produção de radicais livres do O_2 durante a reperfusão de tecidos isquêmicos pela conversão da xantina desidrogenase em xantina oxidase (adaptado de Granger et al.¹⁰).

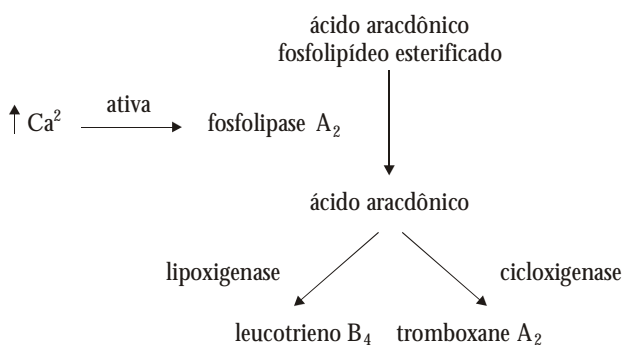


Figura 4 - Formação dos subprodutos do ácido aracdônico no período da reperfusão (adaptado de Welbourn et al.²⁸).

Estudos *in vitro* mostram que a interação neutrófilo-célula endotelial seria a responsável pela liberação dos mediadores pró-inflamatórios que desencadeariam a lesão inflamatória da reperfusão²⁶. Em estudo experimental de isquemia e reperfusão em miocárdio, Ashraf & Zhai²⁷ mostraram que a relação entre neutrófilo e

célula endotelial ativaria o neutrófilo a produzir o ânion superóxido, através da oxidação do NADPH a NADP. Além disso, as mieloperoxidases (localizadas nos grânulos dos neutrófilos) poderiam converter H₂O₂ em ácido hipocloroso (HOCl), também extremamente tóxico para os tecidos (Figura 5).

Segundo Welbourn et al.²⁸, os metabólitos do ácido aracdônico, além de agirem como quimiotáticos, favoreceriam a interação neutrófilo-célula endotelial, ativariam neutrófilos a produzirem mais radicais livres de oxigênio e enzimas proteolíticas e afetariam o fluxo sanguíneo pela ação direta na microcirculação. Augustin et al.²⁹ propuseram que os neutrófilos, além de aderirem à célula endotelial provocando lesão, poderiam se acumular na microcirculação (*plugging*), levando a uma obstrução do fluxo sanguíneo, fenômeno conhecido como *no reflow*, ou seja, dificuldade para restaurar a perfusão adequada da microcirculação, após a isquemia e reperfusão, fenômeno anteriormente descrito por Ames et al.³⁰, na circulação cerebral e por May et al.³¹, em retalhos livres experimentais.

Outro radical livre, intimamente envolvido com a lesão de isquemia e reperfusão, é o gás solúvel de radical

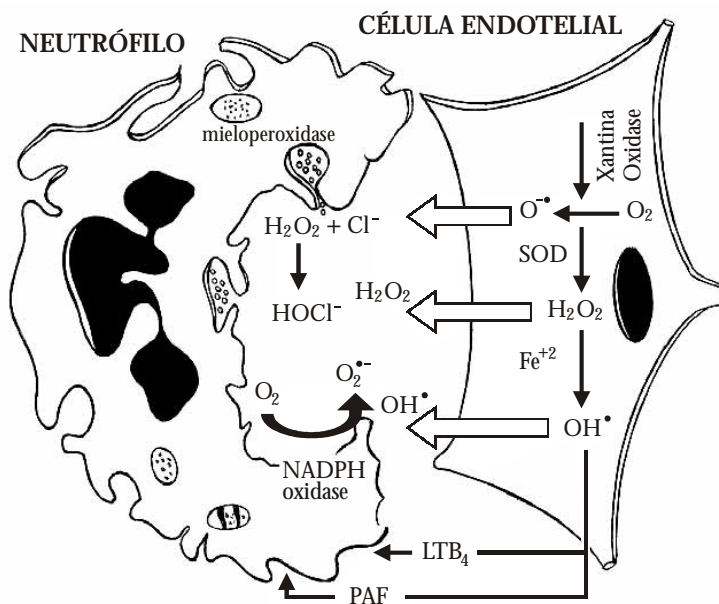
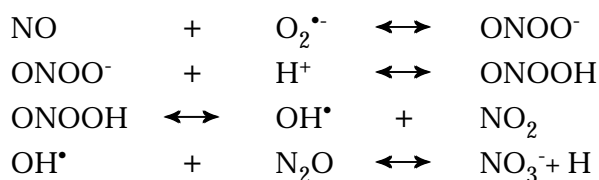


Figura 5 - Interação neutrófilo-célula endotelial com liberação dos radicais livres de oxigênio (adaptado de Ashraf & Zhai²⁷).

livre, óxido nítrico (NO)³². Conhecido inicialmente como fator relaxante derivado do endotélio³³, e posteriormente constatado que tratava-se do NO³⁴. Segundo Moncada et al.³⁵, seria produzido pelas células endoteliais, macrófagos e por neurônios centrais específicos e sintetizado a partir da L-arginina, O₂ e NADPH por meio da enzima NO sintetase (NOS), que é ativada pelo aumento do influxo de cálcio no interior da célula. Fisiologicamente, atua mantendo o tônus vascular, inibe a agregação plaquetária e a adesão dos neutrófilos e plaquetas ao endotélio vascular. Além disso, o NO, por ser um radical livre, é citotóxico para certos microorganismos e para células tumorais. Paralelamente, o NO reage com o radical superóxido, resultante da isquemia e reperfusão, dando origem via ânion peroxinitrito (ONOO⁻) ao dióxido de nitrogênio e ao altamente reativo radical hidroxila³⁶.



Antioxidantes

Conforme mencionado, em condições normais, os radicais livres seriam continuamente produzidos em pequenas quantidades como subprodutos metabólicos ou escapes da fosforilação oxidativa. Estes radicais seriam naturalmente neutralizados por um sistema endógeno de defesa antioxidante, enzimático e não-enzimático, que serviria para prevenir ou reparar a lesão oxidativa³⁷.

Dentre os antioxidantes preventivos estão a glutathiona reduzida (GSH), a superóxido dismutase (SOD), a catalase, a glutathiona peroxidase (GSH-Px) e a vitamina E. Dentre os reparadores estão a glutathiona-redutase (GSH-Rd), a glutathiona peroxidase (GSH-Px) e o ácido ascórbico³⁸.

A glutathiona reduzida (GSH, L-gama-glutamil-L-cisteinil-glicina) está presente na maioria das células e pode ser considerada um dos agentes mais importantes do sistema de defesa antioxidante da célula. A glutathiona-redutase (GSH-Rd) é uma flavoproteína que recupera a GSH quando ocorre a oxidação. A glutathiona peroxidase (GSH-Px) catalisa a redução do peróxido de

hidrogênio (H₂O₂) e outros peróxidos orgânicos. É encontrada no citosol, na mitocôndria e na membrana. Ela contém selênio em seu sítio ativo³⁹.

A catalase é uma hemoproteína citoplasmática que catalisa a redução do H₂O₂ a H₂O e O₂. Está presente na maioria dos tecidos, mas concentra-se, principalmente, no fígado, rim, baço e eritrócito⁴⁰.

A superóxido dismutase catalisa a dismutação do radical superóxido em H₂O₂ e O₂, na presença do próton H⁺. Existem duas formas de SOD, a SOD-cobre-zinco presente no citosol, e a SOD-mangânese localizada primariamente na mitocôndria⁴¹.

Além do sistema antioxidante enzimático, também são considerados antioxidantes todas as substâncias que doam ou recebem um elétron de um radical livre, inativando-o. São exemplos o ácido ascórbico (vitamina C), beta-caroteno, ácido úrico, alfa-tocoferol (vitamina E), albumina, transferrina e manitol. Há ainda aqueles que indiretamente tem um efeito antioxidante, como o alopurinol (inibidor da xantina oxidase), o selênio (presente na glutathiona peroxidase), a deferoxamina (quelante do ferro), entre outros⁴².

Estratégias de tratamento da isquemia e reperfusão

Com base na experiência científica acumulada ao longo do tempo, evidenciando o papel dos radicais livres de oxigênio na patogênese das lesões decorrentes da isquemia e reperfusão, vários trabalhos surgiram com o intuito de atenuar as repercussões hemodinâmicas e fisiopatológicas da restauração vascular pós-isquemia em vários tecidos e órgãos. As estratégias adotadas foram principalmente:

- Suplementação de antioxidantes endógenos
- Suplementação de antioxidantes exógenos
- Suplementação de componentes enzimáticos (selênio)
- Bloqueio de metais de transição (Fe⁺⁺)
- Bloqueio da atividade leucocitária
- Neutralização da ação da hipoxantina
- Antiinflamatórios, vasodilatadores e antiagregantes plaquetários
- Anticorpos monoclonais contra glicoproteína de adesão do neutrófilo
- Suplementação de doadores de NO

Embora a maior parte das estratégias tenha sido isoladamente bem-sucedida no laboratório experi-

mental, na prática clínica, em função de uma série de variáveis, ainda não se chegou a um consenso. É possível que uma abordagem multifatorial, com o uso de combinações de agentes antioxidantes, seja a estratégia mais adequada⁴³ para a maior parte das situações. Para Chen et al.⁴⁴, a combinação de agentes antioxidantes reduziria a lesão oxidativa nos tecidos animais, mas ainda precisa ser esclarecido se a melhora do efeito protetor deve-se à interação (sinergismo) entre os antioxidantes ou a um efeito adicional de cada antioxidante individualmente.

Tratamento da isquemia e reperfusão em retalhos cutâneos

A maior parte dos trabalhos nesta linha foram experimentais. O modelo mais usado é o levantamento de retalho miocutâneo retangular da parede anterior do abdômen do rato, dependente dos vasos epigástricos. Estes são pinçados em tempos variáveis de isquemia e as lesões de reperfusão são documentadas após 7 dias geralmente, medindo-se as áreas viáveis e de necrose.

Uma grande variedade de agentes farmacológicos foi testada em retalhos cutâneos submetidos à isquemia e reperfusão experimental. Manson et al.⁴⁵ estudaram, em ratos, retalhos epigástricos submetidos à isquemia de 8 horas e no sétimo dia de reperfusão encontraram necrose completa dos retalhos do grupo controle (sem tratamento), com melhora significativa da sobrevida dos retalhos tratados com a enzima superóxido dismutase (SOD). Em 1984, Im et al.⁴⁶ também usaram o modelo de retalho epigástrico em ratos, porém a droga testada foi o alopurinol (inibidor da xantina oxidase). Os resultados mostraram que a taxa de sobrevida dos retalhos do grupo tratado foi significativamente maior que do grupo controle (solução salina). Além disso, mostrou-se neste trabalho que o alopurinol bloqueou a atividade da enzima xantina oxidase, que é uma das origens do radical superóxido, como previamente descrito. Os mesmos autores, no ano seguinte, publicaram outro trabalho semelhante, comparando o alopurinol e a superóxido dismutase e mostraram que ambas as drogas foram efetivas.

Douglas et al.⁴⁷ realizaram uma lavagem de perfusão (*washout*) com Ringer lactato de todo o território vascular de retalhos epigástricos em ratos, logo após o período de isquemia, e observaram uma maior taxa de sobrevida e captação de fluoresceína no grupo submetido à lavagem em relação ao controle (sem perfusão).

Em 1993, Israeli et al.⁴⁸ avaliaram a lavagem de perfusão pós-isquemia com Ringer lactato, solução da Universidade de Wisconsin, verapamil, uroquinase e iloprost em comparação com o grupo controle (não perfundido) e os resultados obtidos (também através da captação da fluoresceína) mostraram que todas as soluções aumentaram o fluxo sanguíneo para o retalho.

Nishikawa et al.²², em modelo experimental de retalho adipomusculocutâneo em ratos, compararam a deferroxamina (quelante de ferro) com o citrato hipertônico. Porém, não encontraram resultado satisfatório em relação ao aumento da taxa de sobrevida dos retalhos comparado ao grupo controle (sem tratamento). Além disso, a avaliação histológica mostrou que, em todos os grupos, necrose, inflamação e edema não foram estatisticamente diferentes.

Zaccaria et al.⁴⁹ mostraram que a vitamina C foi eficaz em aumentar a sobrevida dos retalhos epigástricos em ratos, comparada ao controle (solução salina) através de avaliação clínica.

Fu & Jiao⁵⁰ optaram pelo uso do manitol e da anisodamina (um análogo da atropina) em ratos e observaram que ambos foram efetivos em reduzir a área de necrose, conjunta e isoladamente. Por outro lado, Atabey et al.⁵¹, também em modelo experimental de retalho cutâneo em ratos, mostraram que o manitol, combinado com o cobalto, não foi eficaz em prevenir o efeito deletério do cobalto sobre a peroxidação lipídica medida através dos níveis de malondialdeído.

Mais recentemente, as pesquisas têm-se direcionado para drogas que atuam nos neutrófilos, como os imunossupressores, para impedir a produção de radicais livres pelos neutrófilos. Cetinkale et al.⁵² optaram pelo uso do agente FK 506 (droga imunossupressora) em ratos e verificaram que essa droga se mostrou eficaz em aumentar a taxa de sobrevida dos retalhos comparada ao controle (sem tratamento). Willemart et al.⁵³ observaram resposta positiva com o uso de outro agente imunossupressor, a dexametasona, que mostrou menor área de necrose comparada ao grupo que recebeu apenas soro fisiológico.

Outra abordagem⁵⁴, em estudo experimental em ratos com retalhos epigástricos, comparou dois antihistamínicos, difenildramine (bloqueador H₁) e cimetidina (bloqueador H₂). Os resultados clínicos da avaliação da sobrevida mostraram que ambas foram eficazes em diminuir os efeitos deletérios da isquemia e reperfusão.

Akamatsu et al.⁵⁵ e Ueda et al.⁵⁶ observaram proteção de retalhos com sulfatido (substância que se liga às moléculas de adesão D e P-selectina de neutrófilos). Cetin et al.⁵⁷ igualmente tiveram sucesso com o uso de fucoidin, que é um inibidor do processo de rolamento dos neutrófilos

Uma série de trabalhos experimentais recentes tem demonstrado atenuação das lesões de isquemia e reperfusão de retalhos com o uso de Vitamina E e Vitamina A⁵⁸, prostaglandina E1⁵⁹, trimetazidina⁶⁰, doadores de óxido nítrico^{61,62}, inibidores da proteína GIIb/IIIa⁶³ e doadores de óxido nítrico⁶⁴.

Em conclusão, existe, portanto, um grande interesse nesse assunto na cirurgia plástica, pois, frequentemente, depara-se com o fenômeno da isquemia e reperfusão dos retalhos cutâneos na microcirurgia, e ainda hoje não existe uma conduta definida para melhorar a evolução dos retalhos. Há um campo aberto para se estudar e comparar drogas que atuem prevenindo ou corrigindo as conseqüências deste processo. Embora inúmeras drogas tenham apresentado bons resultados experimentalmente, na prática clínica os resultados não foram consistentemente avaliados e algumas das drogas poderiam causar efeitos colaterais importantes, ensejando portanto necessidade de se continuar estudando esse assunto, com o intuito de se atenuar as repercussões deletérias da perda tecidual.

Referências

- Buncke HJ, Schulz WP. Experimental digital amputation and reimplantation. *Plast Reconstr Surg* 1965;36:62-5.
- McLean DH, Buncke HJ. Autotransplant of omentum to a large scalp defect with microsurgical revascularization. *Plast Reconstr Surg* 1972;49:268-70.
- Daniel RK, Taylor GI. Distant transfer of an island flap by microvascular anastomoses. A clinical technique. *Plast Reconstr Surg* 1973;52:111-3.
- Ferreira MC, Besteiro JM. Bases da microcirurgia vascular. In: Maffei FHA, Lastoria S, Yoshida WB, Rollo HA, editores. *Doenças Vasculares Periféricas - Bases terapêuticas*. Rio de Janeiro: MEDSI; 1995. p. 141-7.
- Ferreira MC. Complications in free tissue transfers and savage procedures. In: Brunelli G. editor. *Textbook of Microsurgery*. Milan: Masson; 1988. p. 231-3.
- Goldberg JA, Pederson WC, Barwick WJ. Salvage of free tissue transfer using thrombolytic agents. *J Reconstr Microsurg* 1989;5:351-6.
- Lindman D, Daniel RK. Evaluation of clinical microvascular anastomoses: reasons for failure. *Ann Plast Surg* 1981;6:215-23.
- Perry MO. Oxygen free radical scavengers in acute ischemia and reperfusion syndromes. In: Ernest CB, Stanley JC, editors. *Current Therapy in Vascular Surgery*. Philadelphia: B. C. Decker; 1991. p. 600-604.
- Kerrigan CL, Daniel RK. Critical ischemia time and failing skin flap. *Plast Reconstr Surg* 1982;69:986.
- Granger DN, Hollwarth ME, Parks DA. Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol Scand Suppl* 1986;548:47-63.
- Halliwell B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol* 1989;70:737-51.
- Ferreira ALA. Ação de ions Fe⁺⁺⁺ no sistema de óxido-redução do glutation e na lipoperoxidação de membrana em eritrócitos humanos [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 1994. 117p.
- Cohen MV. Free radicals in ischemic and reperfusion myocardial injury: is this time for clinical trials? *Ann Intern Med* 1989;111:918-31.
- Walker PM, Lindsay TF, Labber R, Mickle DA, Romaschin AD. Salvage of skeletal muscle with free radical scavengers. *J Vasc Surg* 1987;5:68-75.
- McCord JM. Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue. *N Engl J Med* 1985;12:159-63.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 1990;186:1-85.
- Grisham MB, Hernandez LA, Granger DN. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia. *Am J Physiol* 1986;251:G567-G74.
- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation: some problems and concepts. In: Halliwell B. editor. *Oxygen radicals and tissue injury*. Proceedings of a Brook Lodge Symposium; 1987 Apr. 27-29; Bethesda: Upjohn/Federation of American Societies for Experimental Biology; 1988. p. 9-19.
- Del Maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand Suppl* 1980;492:153-68.
- Kloner RA, Przyklenk K, Whittaker P. Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion: resolved and unresolved issues. *Circulation* 1989;80:1115-25.
- Southard JH, Butter B, Marsh DC, Lindell S, Belzer FO. The role of oxygen free radicals in organ preservation. *Klin Wochenschr* 1991;69:1073-6.
- Nishikawa H, Manek S, Barnett SS, Charlett A, Green CJ. Pathology of warm ischaemia and reperfusion injury in adipomusculocutaneous flaps. *Int J Exp Pathol* 1993;74:35-44.
- McCord JM. Free radicals and inflammation: protection of synovial fluid by superoxide dismutase. *Science* 1974;185:529-31.
- Kerrigan CL, Stotland MA. Ischemia reperfusion injury: a review. *Microsurgery* 1993;14:165-75.
- Knight KR, Angel MF, Lepore DA, Abbey PA, Arnoldi LI, Gray KA, Mellow CG, O'Brien BM. Secondary ischemia in rabbit skin flap: the roles played by thromboxane and free radical. *Clin Sci* 1992;80:235-40.

26. Schmid-Schönbein GW. The damaging potential of leukocyte activation in the microcirculation. *Angiology* 1993;44:45-56.
27. Ashraf M, Zhai X. Pathophysiology myocardial reperfusion injury: role of oxygen free radicals. *Transplant Proc* 1995;27:2800-1.
28. Welbourn CRB, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991;78:651-5.
29. Augustin AJ, Goldstein RK, Milz J, Lutz J. Influence of anti-inflammatory drugs and free radical scavengers on intestinal ischemia induced oxidant tissue damage. *Adv Exp Med Biol* 1992;361:239-51.
30. Ames A III, Wright L, Kowanda M. Cerebral ischemia II. The no-reflow phenomenon. *Am J Pathol* 1968;52:437.
31. May Jr JW, Chait LA, O'Brien BM. The no-reflow phenomenon in experimental free flaps. *Plast Reconstr Surg* 1978;61:256-67.
32. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Inflammation and repair. In: Robbins pathologic basis of disease. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1994. p. 51-94.
33. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-6.
34. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-6.
35. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-42.
36. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:1620-24.
37. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM. Free radicals: basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 1987;79:990-7.
38. Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Assoc Med Bras* 1997;43:61-8.
39. Bedwall RS, Nair N, Sharma MP, Mathur RS. Selenium: its biological perspectives. *Med Hypotheses* 1993;41:150-9.
40. Mayes PA. Biologic oxidation. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell WW, editors. *Harper's Biochemistry*. San Mateo: Appleton & Lange; 1990. p. 105-111.
41. Halliwell B. Biochemical mechanisms accounting for the toxic action of oxygen on living organism. The key role of superoxide dismutase. *Cell Bio Int Rep* 1978;2:113-28.
42. Angel MF, Narayanan K, Swartz WM, Ramasastry SS, Kuhns DB, Basford RE, Futrell JW. Deferoxamine increases skin flap survival: additional evidence of free radical involvement in ischaemic flap surgery. *Br J Plast Surg* 1986;39:469-72.
43. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81:637-47.
44. Chen H, Pellett LJ, Abdersen HJ, Tappel AL. Protection by vitamin E, selenium, and b-carotene against oxidative damage in rat liver slices and homogenate. *Free Radic Biol Med* 1993;14:473-82.
45. Manson PN, Anthenelli RM, Im M, Bulkley GB, Hoopes JE. The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 1983;198:87-90.
46. Im M, Shen WH, Pak CJ, Manson PN, Bulkley GB, Hoopes JE. Effect of allopurinol on the survival of hyperemic island skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1984;73:276-8.
47. Douglas BK, Silverman DG, Weinberg H. Perfusion washout: increasing a microvascular free flap tolerance to ischemia. *J Reconstr Surg* 1989;5:151-5.
48. Israeli D, Senderoff DM, Zhang WX, Urken ML, Weinberg H. Enhancement of fluorescein perfusion in experimental skin flaps following posischemic washout with iloprost, urokinase, verapamil, and University of Wisconsin solution. *J Reconstr Surg* 1993;9:435-9.
49. Zaccaria A, Weinzweig N, Yoshitake M, Matsuda T, Cohen M. Vitamin C reduces ischemia-reperfusion injury in a rat epigastric island skin flap model. *Ann Plast Surg* 1994;33:620-3.
50. Fu W, Jiao X. The effect of mannitol and anisodamin on prevention of free radical injury to post-ischaemia flaps: an experimental study. *Br J Plast Surg* 1995;48:218-21.
51. Atabey A, Im MJ, Akgur CA, Kolk V, Manson PN. The effect of cobalt chloride on skin flap survival. *Br J Plast Surg* 1996;49:321-4.
52. Cetinkale O, Bilgic L, Bolayirli M, Sengul R, Ayan F, Burcak G. Involvement of neutrophils in ischemia-reperfusion injury of inguinal island skin flaps in rats. *Plast Reconstr Surg* 1998;102:153-60.
53. Willemart G, Knight KR, Morrison WA. Dexamethasone treatment prior to reperfusion improves the survival of skin flaps subjected to secondary venous ischaemia. *Br J Plast Surg* 1998;51:624-8.
54. Cordeiro PG, Lee JJ, Mastorakos D, Hu QY, Pinto JT, Santamaria E. Prevention of ischemia-reperfusion injury in rat skin flap model: the role of mast cells, cromolyn sodium, and histamine receptor blockade. *Plast Reconstr Surg* 2000;105:654-9.
55. Akamatsu J, Ueda K, Tajima S, Nozawa M. Sulfatide elongates dorsal skin flap survival in rats. *J Surg Res* 2000;92:36-9.
56. Ueda K, Nozawa M, Nakao M, et al. Sulfatide and monoclonal antibodies prevent reperfusion injury in skin flaps. *J Surg Res* 2000;88:125-9.
57. Cetin C, Kose AA, Aral E, et al. Protective effect of fucoidin (a neutrophil rolling inhibitor) on ischemia reperfusion injury: experimental study in rat epigastric island flaps. *Ann Plast Surg* 2001;47:540-6.
58. Bilgin-Karabulut A, Ademoglu E, Aydin I, Erer M, Gokkusu C. Protective effects of vitamins A and E pretreatment in venous ischemia/reperfusion injury. *J Reconstr Microsurg* 2001;17:425-9.
59. Hong JP, Chung YK, Chung SH. The effect of prostaglandin E1 versus ischemia-reperfusion injury of musculocutaneous flaps. *Ann Plast Surg* 2001;47:316-21.
60. Kara IG, Kara CO, Ozden A, Ocsel H. The effect of trimetazidine on the survival of rat island skin flaps subjected to ischemia-reperfusion injury. *Ann Plast Surg* 2001;47:168-71.
61. Khiabani KT, Kerrigan CL. The effects of the nitric oxide donor SIN-1 on ischemia-reperfused cutaneous and myocutaneous flaps. *Plast Reconstr Surg* 2002;110:169-76.

62. Mittermayr R, Valentini D, Fitzal F, et al. Protective effect of a novel NO-donor on ischemia/reperfusion injury in a rat epigastric flap model. *Wound Repair Regen* 2003;11:3-10.
63. Kuo YR, Jeng SF, Wang FS, et al. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonist (abciximab) inhibited platelet activation and promoted skin flap survival after ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 2002;107:50-5.
64. Kuo YR, Wang FS, Jeng SF, et al. Nitrosoglutathione modulation of platelet activation and nitric oxide synthase expression in promotion of flap survival after ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 2004;119:92-9.

Correspondência:
Winston Bonetti Yoshida
Departamento de Cirurgia e Ortopedia
Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP
CEP 18607-030 – Botucatu, SP
Tel.: (14) 3811.6269
E-mail: winston@fmb.unesp.br

Atualização de endereços

Prezado associado,

Se você mudou de endereço e não comunicou a SBACV, seu exemplar está sendo enviado ao endereço antigo. É fundamental que envie seu novo endereço à Secretaria da SBACV para garantir o recebimento do J Vasc Br.

SBACV - Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vascular
Av. Tancredo Neves, 1632 salas 501/502
Condomínio Salvador Trade Center
CEP 41820-020 - Salvador, BA
Fone: (71) 271.5368
E-mail: secretaria@sbacv-nac.org.br