



" USO DO OXIGÊNIO HIPERBÁRICO NO TRATAMENTO DE QUEIMADURAS "

(ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS)

ORIENTADOR: Prof. Dr. Cássio Menezes Raposo do Amaral.

UNITERMOS: Queimaduras
Oxigenioterapia hiperbárica

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, como um dos itens para obtenção de Título de Doutor em Medicina, na área de Cirurgia.

JAIR JOSÉ PEREIRA

Este exemplar corresponde à versão final da Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp pelo médico Doutor Jair José Pereira

Cássio M.
PROF. CÁSSIO M. RAPOSO DO AMARAL
Orientador

CAMPINAS

1989

À minha Esposa

Maria Elizabeth

e filhas

Carolina,
Margareth e
Juliana

AGRADECIMENTOS

Sr. Gustavo Marcondes Zanardini (em memória)

Sr. Nelson Franco (em memória)

Prof. José Luiz Pimentel Wutke

Dr. Masami Katayama

Sra. Wanda de Lourdes Ferreira

Prof. Nelson Bolzani e colegas do Centro de Tecnologia da UNICAMP.

Dr. Paulo Eduardo Iazzetti, da Unidade de Câmara Hiperbárica do HC-UNICAMP.

Prof. Luiz Koodi Hotta, do Laboratório de Estatística, do Departamento de Estatística - IMECC - UNICAMP.

Dra. Eliane M. Ingrid Amstalden e Sr. Ismael Vencio, do Departamento de Anatomia Patológica, da FCM da UNICAMP.

Dra. Rosana C.M. Ribeiro de Paiva, Sr. William Adalberto Silva, Sra. Maria Dionísia de Oliveira e Sr. Gomes Sarmento Alvim, do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental, da FCM da UNICAMP.

Srta. Bernadete Scaramuzza, do Departamento de Cirurgia da FCM da PUCCAMP.

Sr. Manoel Silveira Franco, da FCM da PUCCAMP.

Dr. Luiz Henrique Trillo, Dr. Gilson Luiz Duz e Dr. Ricardo Martinuzzo, da Disciplina de Cirurgia Plástica, da FCM da PUCCAMP.

Dr. John Cook Lane e Srta. Maria de Lourdes Dias, da Clínica Eduardo Lane.

em especial, ao Prof. Dr. Cássio Menezes Raposo do Amaral, pela orientação, estímulo e cobrança, durante todo o período de pós-graduação.

ÍNDICE

	pág.
I - INTRODUÇÃO.....	03
I.1. Oxigenioterapia hiperbárica - definição físico química.....	03
I.2. História da OHB.....	04
I.3. Oxigênio no metabolismo.....	05
I.3.1. Fisiologia do Oxigênio.....	06
I.4. Efeitos colaterais da OHB.....	08
I.5. Indicações de OHB.....	09
II. REVISÃO DA LITERATURA.....	10
II.1. Uso de OHB em queimaduras.....	10
II.2. Oxigênio na cicatrização.....	14
II.3. Enxertia - Bases teóricas.....	17
II.4. Oxigênio nos enxertos.....	17
III. OBJETIVO DO TRABALHO.....	19
IV. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
IV.1. Queimaduras de 2º Grau.....	19
IV.1.1. Animais.....	19
IV.1.2. Descrição do aparelho.....	20
IV.1.3. Técnica de queimadura.....	20
IV.1.4. Tratamento com OHB.....	22
IV.1.5. Seguimento dos animais.....	23
IV.2. Queimaduras de 3º Grau.....	24
IV.2.1. Animais.....	24
IV.2.2. Descrição do aparelho.....	24
IV.2.3. Técnica da queimadura.....	25

IV.2.4. Tratamento com OHB.....	26
IV.2.4.1. Enxertia de pele.....	26
V. RESULTADOS.....	28
V.1. Queimaduras de 2º Grau.....	28
V.1.1. Clínicos.....	28
V.1.2. Histológicos.....	29
V.1.3. tabelas e análise estatística.....	29
V.2. Queimadura de 3º Grau.....	32
V.2.1. Clínicos.....	32
V.2.2. Medida das áreas cruentas.....	32
V.2.3. Análise estatística.....	32
VI. DISCUSSÃO.....	34
VII. CONCLUSÕES.....	39
VIII. RESUMO.....	39
IX. SUMMARY.....	40
X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

I- INTRODUÇÃO

O oxigênio hiperbárico tem sido utilizado há muitos a nos na medicina, com períodos de entusiasmo, e períodos de es tagnação.

A partir de meados de 1960, houve incremento na sua a plicação, passando a ser utilizado no tratamento de muitas afecções. Esse incremento foi acompanhado de uma forte tendência a se provar a sua atuação, em estudos bem controlados.

Sabemos que o uso clínico do oxigênio é limitado na sua aplicação, devido à sua toxicidade, principalmente nos pulmões e sistema nervoso central, porém é comprovada a sua eficácia no controle das infecções de superfície, na aceleração na cicatri zação de úlceras cutâneas, além de que o O₂ hiperbárico penetra facilmente através da pele e estimula a proliferação epitelial.

Isso nos levou a estudar a sua eficácia, no tratamento das queimaduras de pele.

I.1.- Oxigenioterapia hiperbárica - definição físico-química

Segundo Ribeiro, I.J. (48), a oxigenioterapia hiperbárica (OHB), é uma modalidade de tratamento na qual o paciente é introduzido em uma câmara de pressão, respirando a uma pressão superior a 1 atmosfera. O tratamento pode ser efetuado em câmaras pequenas para uso individual, pressurizadas com oxigênio puro, ou em câmaras com vários compartimentos pressurizados com ar comprimido, nas quais o paciente recebe oxigênio puro através de máscara, tenda cefálica ou tubo endotraqueal. A inalação de oxigênio a 100%, a 1 atmosfera, ou aplicação de oxigênio a partes do corpo, sem o uso de pressurização sobre toda a superfície corporal do paciente, não são consideradas oxigenioterapia

hiperbárica *

I.2.- História da OHB

Segundo Jacobsen, E., (25), a inspiração de ar atmosférico a pressão maior que 1 atmosfera, tem sido empregado há alguns séculos, como meio de aumentar o suprimento de oxigênio aos tecidos. Já em 1662, Hanshaw [Apud (26)] tratou doenças crônicas dos pulmões em câmaras hiperbáricas.

Durante o século 19, câmaras de pressão foram empregadas em algumas cidades européias (25), e há numerosas publicações com indicações e resultados de tratamentos.

Em 1940, por exemplo, Tarbarie (53), reportou um resultado favorável de terapia em câmara hiperbárica, em 49 casos de doença pulmonar. Pean, [Apud (25)], realizou uma série de operações em câmaras de pressão.

Entretanto, a despeito de pesquisas intensivas sobre fisiologia hiperbárica, por Bert (4), em 1878, o tratamento hiperbárico gradualmente se tornou moda e um negócio, e o período atingiu ápice em 1928, quando uma câmara de 5 andares foi construída em Kansas City, adaptada como um hotel, e pretendida para o tratamento de hipertensão, diabetes mellitus, sífilis e câncer.

Terapia hiperbárica com o oxigênio tem encontrado aplicações crescentes desde 1955. Os estudos experimentais básicos e os primeiros resultados clínicos, devem sobretudo a Boerema ' et al (7), em Amsterdam, e Illingworth et al (22), em Glasgow.

* Definição dada pela Undersea Medical Society's na publicação "Hyperbaric Oxygen Therapy - A Committee Report". (11)

I.3.- Oxigênio no metabolismo

Segundo Norman, J.N. (42), Lavoisier demonstrou que o componente biológico ativo do ar era o oxigênio, e isso suscitou o interesse no efeito das diversas concentrações de oxigênio sobre o metabolismo.

Em 1789, Seguin e Lavoisier concluíram que, respirando oxigênio puro, não altera alguns dos processos vitais e a maioria da literatura inicial concordava com isso (42).

Em 1878, Bert observou alterações no consumo de oxigênio pelos tecidos, expostos a uma média de PO^2 menor que 1 atm, e ele acreditava que havia uma concentração ótima para oxidação biológica, de cerca de 45%, e ocorria queda de consumo de oxigênio quando os tecidos eram expostos a altas ou baixas concentrações de oxigênio. A maioria das pesquisas dessa época e após contrariava a opinião de Bert (42).

Nos anos mais recentes, Stadie (51,52), em 1945 e 1944, encontrou 30% de queda no consumo de oxigênio em pulmões de cães expostos por 48 horas a 1 atm de O_2 .

Bean (1,2), em 1929 e 1931, observou queda no consumo de oxigênio em cães expostos a ar a 5 atm, e Cruickshank e Trotter, [Apud (42)], observaram diminuição no consumo de oxigênio em pele de porquinho da Índia, exposto a 1 atm de oxigênio por 24 horas, mas nenhuma queda na exposição de 0,5 a 0,75 atm de O_2 .

Há uma concordância universal de que o metabolismo de tecidos expostos a $P O^2$ maior que 1 atm, é inibido.

Dickens, (12,13), em 1946, sugeriu que a razão para essa depressão no consumo de oxigênio seria a inativação de certos sistemas enzimáticos, notadamente o pívurato oxidase, pela alta $P O^2$. Stadie (50,51), em 1945, mostrou que todas as enzimas que contêm o grupo Thiol são inativadas por altas PO^2 , e é pos-

sível que as manifestações clínicas de envenenamento por oxigênio, sejam devido a este mecanismo.

Em vista do crescente interesse nos usos terapêuticos do **OHB**, pareceu desejável estudar os efeitos do oxigênio a várias tensões sobre o metabolismo, e também os efeitos de uma combinação de **OHB** com hipotermia [Norman (42)].

OHB isoladamente, ou em combinação com hipotermia, tem sido usado para prolongar o período de segurança de parada circulatória, e auxiliar na cirurgia cardíaca. Embora tenha sido mostrado que exposição dos tecidos, a temperatura normal, a altas $P O_2$, diminui seu consumo de oxigênio, pouca coisa é conhecida quanto à extensão em que isso ocorre, e nada tem sido relatado sobre os efeitos do metabolismo tissular, da **OHB** em combinação com hipotermia.

Ainda Norman, J.N. (42), estudou o consumo de O_2 a 2 atm, a 37°C, 28°C. A 37°C há diminuição no consumo de O_2 , enquanto a $P O_2$ aumenta. A 28°C e a 15°C, havia aumento inicial no consumo de O_2 , até um valor crítico atingido, além do qual o consumo de O_2 , diminui. **OHB** com hipotermia pode proteger tecidos hipotérmicos de danos anóxicos.

I.3.1. Fisiologia do Oxigênio

Segundo Jacobsen, (25), a quantidade de oxigênio no sangue arterial é normalmente de 19 a 21 vol%, dependendo da quantidade de hemoglobina (Hb) no sangue. O O_2 é transportado quimicamente ligado à Hb, e fisicamente dissolvido no plasma. Quando o ar atmosférico é inspirado a pressão normal, a tensão de O_2 alveolar é de 100 mm de Hg. Sob essas condições, a Hb está 97% saturada com oxigênio. Aumentando a tensão alveolar de O_2 para 250 mm, a saturação de Hb chega a 100%, e o aumento da

tensão de O_2 não levará a aumento da quantidade de O_2 transportada quimicamente.

Em circunstâncias normais, o oxigênio dissolvido fisicamente no plasma tem um valor menor na capacidade de transporte de O_2 pelo sangue, e na tensão alveolar de O_2 a 100 mm Hg, contribui com apenas 0,3 vol%. Aumentando a pressão parcial de O_2 no sangue alveolar, a quantidade de O_2 fisicamente absorvida, pode ser aumentada sem limite (lei de Henry). Respirando O_2 puro à pressão de 1 atm, a tensão de O_2 alveolar atinge 673 mm de Hg, e a quantidade de O_2 fisicamente dissolvido atinge 1,9 vol%. Para cada atmosfera extra de pressão de O_2 , 2,1 vol% de oxigênio fisicamente dissolvido é transportado. A um $P O_2$ de 3 atm, o nível de O_2 fisicamente dissolvido é de 6,1 vol%, que corresponde à diferença artério-venosa normal de O_2 , e o transporte total de O_2 pode ser feito através do plasma apenas. Isso foi primeiramente mostrado por Haldana⁽²⁵⁾, em 1985, como ele era capaz de manter um animal de laboratório vivo, a uma $P O_2$ de 2 atmosferas, mesmo quando sua Hb era bloqueada pelo monóxido de carbono.

Boerema⁽⁸⁾, em experimentos de sangria em porcos, em câmaras de O_2 a 3 atm, mostrou que mesmo após troca do sangue por dextran hidrolisante (macrodex^(r)), (Hb 2,9%), não havia sinal de isquemia cardíaca no eletrocardiograma.

Sob condições hiperbáricas, Hb não libera oxigênio antes que a $P O_2$ do plasma atinja abaixo de 150 mm Hg.

Podemos dizer que o músculo cardíaco tem um consumo de O_2 igual ao dobro do valor de 6,1 ml de O_2 /100 ml de sangue, que foi calculado acima. Isso é, por conseguinte, necessário ter uma $P O_2$ de 6 atm absolutas, para que, com o mesmo fluxo de sangue arterial coronário, a oxigenação completa do coração possa

ser realizada, apenas com o O^2 fisicamente dissolvido.

Ainda segundo Jacobsen⁽²⁵⁾, podemos imaginar indicações teóricas para terapia com OHB, para qualquer ponto do transporte de O^2 , desde o ar alveolar até a utilização final do oxigênio na células.

I.4.- Efeitos colaterais da OHB

Segundo Ribeiro, I.J.⁽⁴⁸⁾, oxigênio sob pressão pode ser tóxico ao organismo. No entanto, se a terapêutica for benéfica ao paciente, este pode ser exposto por tempo limitado ao oxigênio, que sob pressão causa vasoconstrição em artérias normais e em áreas não isquêmicas. Se a exposição for prolongada, podem ocorrer sinais de intoxicação nos pulmões e no sistema nervoso central. Após 6 horas de exposição contínua ao O^2 a 2 atm, desenvolvem-se sinais e sintomas de irritação pulmonar, que consistem em uma diminuição da capacidade vital, queimação e dor retroesternal, e áreas de atelectasias.

Se o paciente inala O^2 puro a uma pressão de 3 atm, continuamente por mais de 3 horas, podem surgir convulsões generalizadas tipo grande mal, provavelmente por atuações sobre sistema enzimático sensíveis (efeito Paul Bert). Entretanto, salvo algumas exceções, na prática dos tratamentos pela OHB, as exposições são limitadas a sessões de aproximadamente 2 horas, a 2 atm, e sessões de 90 minutos a 3 atm. Quando nesta sessão, são alternados com períodos de respiração de ar ambiente, o paciente pode ser tratado repetidamente por horas ou dias, com grande segurança. Se observarmos estas precauções, os casos de intoxicação pulmonar ou neurológica pelo O^2 são raros.

I.5.- Indicações de OHB

Melino, C. (34), em 1985, refere que dos anos 50 até dias atuais, foram publicados cerca de 3500 trabalhos científicos experimentais, confirmando a utilização do **OHB** nas diversas áreas da patologia humana.

Myers, R.A.M. (39), em 1984, relacionou as aplicações de **OHB**, cujos usos são considerados efetivos ou experimentais, segundo a Hyperbaric Medicine Committee of the Undersea Medical Society, Classificação revisada em 1983. Relata 14 afecções efetivamente tratadas, e 17 afecções onde o uso de **OHB** é considerado experimental.

categoria 1 - efetivamente tratada:

necrose por radiação, doença descompressiva, envenenamento por monóxido de carbono (inalação de fumaça), embolia gasosa, gangrena gasosa, osteomielite, celulite devido a infecção bacterioides, ' trauma com isquemia traumática, enxertos ou retalhos cutâneos com vascularização comprometida, algumas infecções micóticas (actinomicose), envenenamento por cianeto, edema cerebral, anemia aguda por hemorragia, queimaduras térmicas (experimen - tos clínicos não controlados provam a efetividade do **OHB** nessas condições mas o autor admite que, racionalmente, o **OHB** nas queimaduras deva receber especial consideração).

categoria 2 - experimental

trauma craniano e espinhal, enxertos ósseos, envenenamentos pelo tetracoloro carbono, AVC isquêmico ou hemorrágico, fraturas, envenenamento pelo gás

sulfídrico, abscesso abdominal ou intracraniano ,
hanseníase virchowiana, meningite, colite pseudo-
membranosa, mielite-cistite-enterite-proctite por
radiação, crise de anemia falciforme, esclerose
múltipla, insuficiência aguda da artéria retina-
na central, retinopatia e descolamento de retina,
pioderma gangrenoso, algumas infecções anaeróbi-
cas.

II- REVISÃO DA LITERATURA

II.1.- Uso de OHB em queimaduras

Korn, H.N. (30), refere que a atenção para o uso de OHB em queimaduras foi despertada no início dos anos 60, em vítimas de explosão de mina de carvão japonesa, que foram tratados com a OHB, pelos envenenamentos por monóxido de carbono, e que também tinham sofrido queimaduras de 2º grau.

Observou-se que os ferimentos eram mais secos e cicatrizavam mais rapidamente que os pacientes igualmente no mesmo acidente, e não tratados com OHB.

Order, S.E. (43), 1965, estudando vascularização em queimaduras, verificou que nas de 2º grau o padrão arterial é restaurado 1 semana após, e nas de 3º grau requer 3 semanas . Nas de 3º grau há progressiva oclusão arterial no tecido celular sub-cutâneo, que se completa em 24 horas após a queimadura.

Ketchum, (27), 1967, trabalhando com queimaduras de 1º, 2º e 3º grau em coelhos, observou cicatrização mais rápida e algumas infecções entre aqueles tratados com OHB, mas seu critério de cicatrização (segundo Korn HN-(30) era subjetivo e não definitivo. Concluiu que a OHB é benéfica para queimaduras por

duas razões:

- 1- queimadura é lesão vascular, e parte do seu efeito destrutivo local é relacionada à hipóxia.
- 2- OHB tem efeito bacteriostático, in vivo, sobre certas bactérias.

Shulman, A.G. (49), em 1967, estudou uso de enxertos hemólógicos em ratos com lesões de pele parcial e total, com e sem OHB, e observou diminuição no tempo de cicatrização, usando apenas enxertias ou apenas OHB, porém associando OHB + enxertias, o tempo de cicatrização diminuiu pela metade.

Benichoux, R. (3), 1968, estudou em ratos, concluiu que a associação de OHB com outros tratamentos (antibióticos), dá melhores resultados que OHB sozinho.

Bornside e Nance (9), 1968, não encontraram diminuição na sepsis por queimaduras em ratos, experimentalmente induzida. Refere que embora a OHB aumente a atividade antibacteriana in vitro, ela não altera o resultado in vivo, talvez haja antagonismo do OHB com o antibiótico, in vivo, (usando acetato de mafenide tópico ou sulfato de polimixina B tópico ou sistêmico).

Ketchum, (28,29), em 1969, demonstrou aumento na neovascularização em queimados de 3º grau, tratando com OHB.

Peerrins, D.J.D. (45), 1970, usando porco doméstico, não observou aceleração da cicatrização em queimaduras por escaldamento.

Meijne, N.G. (33), em 1970, cita que Arntzenius alertou em 1887: "a confiança que um tratamento merece, pode ser perdida por superestimar seu valor". OHB no tratamento de queimados, segundo Meijne, é um adjunto aos cuidados já estabelecidos. Ele não pode dispensar os cuidados ressuscitativos, tópicos ou cirúrgicos, e não é uma panacéia.

Bleser, F. (5) em 1971, concluiu que o tratamento com **OHB** é eficiente, em queimaduras de 30% de superfície corporal, e estudando vários parâmetros (água corporal total, vol. sanguíneo circulante, hematócrito, vol. de células vermelhas circulantes, vol. de plasma circulante, Na⁺ e K⁺, plasma, pH, pCO²). Os tratados tiveram recuperação acelerada, em relação aos controles.

Bleser, (5) em 1971, igualmente constatou aceleração na cicatrização em queimaduras de 3º grau em ratos, e menor alteração ocorreu na água total corporal, hematócrito, vol. sanguíneo e pH.

Hart (19,20), em 1974 e 1972, encontrou médias mais rápidas de cicatrização, menor hospitalização, feridas mais secas, e menor exigência de fluidos parenterais, quando usavam **OHB**.

Bleser, F. (6), 1973, mostrou que **OHB** acelera a cicatrização e diminui a fase de choque, retornando ao normal a maioria das constantes e estudadas (água total, vol. sanguíneo circulante, Ht, pH, Na⁺, K⁺).

Hart, G.B. (18), 1974, tratando pacientes queimados, observou que a aplicação de **OHB** dentro das primeiras 24 horas da queimadura, diminui significativamente o tempo de cicatrização. **OHB** diminui taxas de morbidade e mortalidade. O tempo de cicatrização é diretamente relacionado à percentagem da queimadura. Conclui que a câmara individual é um aparelho simples, seguro, econômico e eficiente.

Zawacki, B.E. (54), 1974, mostrou que a causa primária da necrose na zona de estase ao redor da área queimada, não é devido ao calor e nem a oclusão vascular, mas à desidratação. Demonstrou que a estase capilar pode ser revertida, com curati

vos adequados, e a necrose prevenida por prevenção da desidratação.

Zawacki, B.E. (55), 1974, em outro trabalho volta a saliantar que a lesão na zona de estase pode ser reversível, se o ressecamento e outros traumas forem evitados.

Korn, H.N. (30), 1977, refere que o estudo foi feito para explorar os meios e possíveis mecanismos de ação do OHB no tratamento de queimaduras de 2º grau. Esta ação seria o retorno mais rápido ao padrão de capilaridade, no grupo tratado com OHB. Pondera que OHB pode influir, não só pelo aumento de oxigênio, mas também pelo aumento da pressão atmosférica na lesão.

Nicole, M.W. (41), 1977, em ratos, concluiu que OHB funciona como agente antisséptico suave, e não leva vantagens no tratamento de queimados de 2º e 3º grau, sozinho ou em combinação com sulfadiazina de prata. Não foram observados efeitos metabólicos pós-queimaduras, (determinado pela percentagem de perda de peso), e tempo de cicatrização, nas queimaduras de 2º grau, e média de reparação da escara e proliferação vascular na formação do tecido de granulação, nas de 3º grau.

Miller, J.H. (37), 1978, salienta a importância do uso intermitente de OHB, na prevenção da toxicidade pelo oxigênio.

Myers, R.A.M. (38), 1979, comenta que a OHB parece permitir reversão rápida da estase capilar, diminui ressecamento e destruição dos tecidos. OHB aumenta proporção de células hipóxicas e queimadas que sobrevivem, e otimiza condições para cicatrização normal.

Guarino, A. (15), 1982, salienta que a hipóxia diminui a cicatrização, e a volta a níveis normais de oxigênio nas lesões é dificultada pelo vasoespasma, edema, infecção e interrupção anatômica da microcirculação.

Myers, R.A.M. (39), 1984, destaca que a razão para a efetividade do OHB é baseada no aumento da atividade leucocitária, e aceleração na cicatrização.

II.2.- Oxigênio na cicatrização

Hunt, T.K. (21), refere que o primeiro requisito para ' cicatrização normal é tecido vascular sadio. Feridas em tecido isquêmicos cicatrizam pobremente, ou não totalmente. É fácil associar a falta de cicatrização pela anóxia, em tecido desvascularizado. Entretanto, está se observando que o oxigênio provavelmente atua como um fator limitante, mesmo na cicatrização normal.

Quando ocorre um ferimento, a circulação local é interrompida. A hemostasia subsequente, essencialmente desvasculariza a borda da ferida. Desde que a simetria da circulação é destruída, a nutrição da ferida precisa vir inteiramente do tecido normal do lado não lesado.

Imaginemos uma situação de lesão que possa resultar em que a demanda nutricional do tecido lesado é maior que a capacidade circulatória de satisfazê-la. Nessa circunstância, podemos esperar que amplas variações de concentração de O_2 possam ocorrer através da borda da ferida, desde o ponto de injúria ' até a circulação funcionante mais próxima.

Ainda Hunt, (21), destaca que o oxigênio é essencial para a circulação, de algumas maneiras principais:

1. O tecido de granulação consome oxigênio. Pode acorrer metabolismo anaeróbico limitado, mas o ácido ' láctico rapidamente se acumula, se co-fatores para o metabolismo dos carboidratos estiverem presentes.

2. Oxigênio molecular é essencial para a hidroxilação da prolina molecular durante a síntese do colágeno. Sem oxigênio molecular, a síntese do colágeno não se faz.
3. Fibroblastos não proliferam em cultura de tecidos sem oxigênio. Parece haver uma PO_2 ótima para a proliferação celular. Quando animais feridos são mantidos a pressão atmosférica diminuída, (simulando como se estivessem em grandes altitudes), o ganho na tensão de arrebentamento da cicatriz é diminuída.

Oxigênio, portanto, (21) é essencial ao metabolismo na ferida, para: 1- produção de energia, 2- síntese do colágeno, 3- proliferação celular. Oxigênio pode eventualmente ser necessário de outras maneiras, mas no caso, os outros mecanismos são desconhecidos.

Bullough e Johnson, (10), em 1951, em culturas, mostraram que a média de mitoses nas células escamosas era oxigênio-dependente, através da variação, desde ar até oxigênio puro.

Pai, M.P. (44), em 1972, refere que a síntese de colágeno e tecidos novos é proporcional ao suprimento de oxigênio a pressão normal, e pode ser aumentado na hiperóxia. A hiperóxia acelera a cicatrização, provavelmente pelo aumento da epitelização. Hipóxia local e sistêmica retarda a cicatrização. Por outro lado, ferimentos abertos frequentemente cicatrizam por contração, com relativamente menor dependência da epitelização e da síntese de colágeno.

Pondera que a epitelização é apenas parte da cicatrização. Revascularização e formação do tecido de granulação são

fatores importantes.

Ketchum, (28), em 1969, mostrou que **OHB** aumenta a microvascularização em queimados.

Pai, M.P. (44), 1979, demonstrou o aumento da síntese ' do colágeno por oxigênio. Pesquisas anteriores não separavam e pitelização e contração nas suas estimativas de média de fechamento. Em seu estudo, contração parece independente da tensão de oxigênio. Parece que a contração e fibroplasia são independentes. É possível que a hiperóxia possa levar a uma escara ' mais fina, e separação mais precoce das escaras das queimaduras, já que a superfície da ferida fica mais seca, vasos trombosam e o tecido necrosa até o ponto de suprimento adequado de oxigênio. A correlação de hipóxia e a supressão da infecção ' bacteriana podem acelerar a cicatrização em ferimentos hipóxicos.

Perrins, (46), em 1970, demonstrou que **OHB** diminui a necrose por queimadura na pele.

Meltzer, R. (35), em 1986, com **OHB** intermitente, verificou aumento na tensão de arrebitamento de suturas, e na neo vascularização também em suturas de ratos. Há aumento na tensão de arrebitamento e aumento na angiogênese. Pode haver ou não correlação entre as duas entidades:

- se aumentam os vasos, aumenta a nutrição dos fibro blastos, com maior deposição de colágeno.
- por outro lado, o aumento da tensão de arrebitamento pode ser um efeito adicional dos próprios vasos ' cruzando a ferida.

Ainda Meltzer, (35), concluiu que o efeito benéfico do **OHB** é demonstrável apenas na fase precoce da cicatrização. Por conseguinte, para que esses resultados possam ser testados em

situações clínicas, OHB precisa ser instituído no período pós-operatório imediato.

II.3.- Enxertia - Bases teóricas

Segundo Shulman, A.G. (49), sabe-se que os vasos sanguíneos da região onde foi aplicado o enxerto, embebem com plasma o espaço entre o enxerto e a área receptora, nas primeiras 24 horas após a aplicação. O fluxo sanguíneo entre a superfície receptora e o enxerto, não ocorre antes de 5 dias. Portanto, há um período de relativa anóxia. Ao utilizar a OHB, é possível aumentar a porcentagem de oxigênio no plasma que embebe, e criar um meio de oxigênio mais favorável na área cruenta.

II.4.- Oxigênio nos enxertos

Gruber, R.P. (14), levantou a questão quanto à extensão em que a tensão de oxigênio tecidual (TOT), de tecidos hipóxicos, é atingida pela exposição de animais intactos ao oxigênio, em pressões crescentes.

Refere que o valor terapêutico do oxigênio atmosférico a pressão ambiente, e OHB em melhorar a integração dos enxertos de pele e retalhos pediculados, tem sido tratado por muitos experimentadores.

Destaca que alguns autores referiram melhora na integração de enxertos e retalhos, com uso de oxigênio 100% a 1 atm, com uso tópico, mas os melhores resultados foram a 2 e 2,5 atm. Resultados com 3 atm de O₂ não mostraram efeitos significativos. Neste caso pareceu necessário determinar mais precisamente os efeitos da OHB, medindo sua influência na TOT de enxertos e retalhos. Alguma resposta clínica ao OHB pode ser relacionada com a oxigenação dos tecidos, e, mais impor-

tante, a medida da **TOT** desses tecidos hipóxicos pode sugerir , precisamente, quanto oxigênio é necessário para restaurar a **TOT** a um nível normal. Evitando excesso de O^2 , parece ser possível evitar toxicidade pelo oxigênio, pois é conhecido que a toxicidade do oxigênio é proporcional à duração e à pressão. O pina que a resposta ao **OHB** em queimaduras é de limitado interesse.

Pollock, W.J. (47), em 1965, demonstrou **TOT** anormalmente baixos em retalhos, em ratos. Entretanto, a resposta da **TOT** ao tratamento com **OHB**, não foi determinada.

Iwa, T. (24), em 1966, relatou que pacientes queimados foram colocados em **OHB**, devido a envenenamento por monóxido de carbono, mostraram menos complicações, assim como infecções do que aqueles que não tiveram **OHB**.

Irwin (23), em 1966, demonstrou que feridas experimentais infectadas têm menor contagem de bactérias, quando são expostas ao **OHB**, do que ao ar ambiente. Mas infecções em queimados [Lindenberg et al (31) em 1965], e ferimentos [Mendelson e Lindsey (36) em 1962], são agora um problema muito menor considerando-se os outros tratamentos adicionais (medicamentos tópicos, antibióticos,...).

Nelson, B.S. (40), em 1966, observou que a **OHB** tem efeito benéfico na hemoconcentração secundária em queimados. Ele atribui a melhora à redução da hipóxia, causando uma redução nas alterações vasculares e edema, melhorando o volume circulante.

Marchal, C. (32), em 1966, observou que a combinação de **Tham** e **OHB** limitou a área de necrose, obtendo granulação mais precoce, e levando a melhor proteção contra infecções em queimaduras experimentais.

Order, S.E.(43), em 1965, diz que o propósito de medir a TOT em queimaduras de 3º grau, será para demonstrar a hipóxia que é esperada encontrar nesses casos, e para ver se os alegados benefícios da OHB em queimados podem ser baseados na restauração dos níveis anormalmente baixos da TOT.

Gruber, R.P.(14), em 1973, estudou aumento da TOT em queimados de 3º grau, enxertos e retalhos, comparados com pele normal. Observou que:

- TOT nos enxertos, retalhos e queimaduras de 3º grau, é significativamente baixa 24 horas após a lesão.
- até 2 atm de OHB é suficiente para melhorar.
- altas PO² apenas aumentam o risco de toxicidade.

III- OBJETIVO DO TRABALHO

O objetivo do presente trabalho é verificar a ação da OHB na cicatrização das queimaduras de 2º e 3º graus, tendo em vista que este procedimento tem sido testado em pacientes queimados, com resultados contraditórios, e com métodos de avaliação diversos.

IV.- MATERIAL E MÉTODOS

IV.1.- QUEIMADURAS DE 2º GRAU

IV.1.1.- Animais

Foram utilizados ratos da raça Wistar, da mesma linhagem, fêmeas, com 3 meses de idade, peso médio de 221 g, sendo o maior com 260 g e o menor com 175 g, todos com bom estado nutricional.

Utilizados 32 ratos, sendo 16 tratados

e 16 controles, com os grupos separados ao acaso, tendo superfície corporal média de 223 cm² (calculado em ratos com peso igual à média).

São retirados das gaiolas nas manhãs dos experimentos, são pesados e efetuada a tricotomia com máquina elétrica, e retornam, sendo mantidos com água e alimentação normal padronizada. A queimadura será efetuada cerca de 6 horas após.

IV.1.2.- Descrição do aparelho

Foi utilizado um cilindro de aço, oco, com 16 cm de altura, com 5,30 cm² de base de aço, com peso de 270 g (vazio) e 330 g (cheio de água). (fig.2).

IV.1.3.- Técnica de queimadura

O cilindro é mantido dentro de um recipiente maior, com água a 70°C, sem tocar nas paredes do recipiente. A água é mantida nesta temperatura, através de aquecimento contínuo, para evitar resfriamento, e controlada com termômetro. (fig.1).

Os animais são submetidos a anestesia com inalação de éter anestésico, e são colocados em decúbito dorsal.

O cilindro é retirado, cheio de água, e imediatamente aplicado à pele do ventre do animal, com a pressão equivalente ao peso do próprio aparelho, durante 7 segundos. O processo é repetido, com 2 queimaduras em cada animal,

uma em cada lado do ventre, sendo que a área queimada equivale a 4,75% da superfície corporal média. (fig.3).



Fig.1.- controle da temperatura



Fig.2. Cilindro

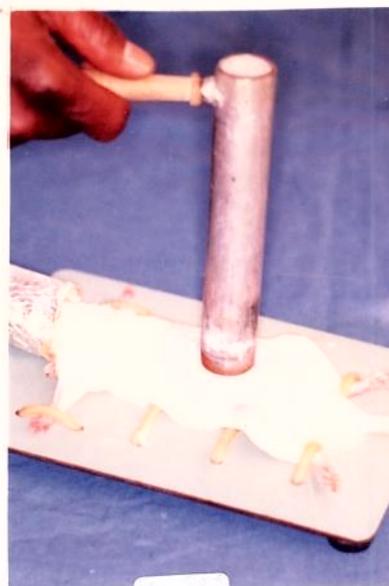


Fig.3.- aplicação do cilindro aquecido.

IV.1.4.- Tratamento com OHB

Após a queimadura, os animais retornam, ainda anestesiados, às gaiolas, com 2 animais em cada uma. As gaiolas são de aço, mantidas limpas e ventiladas, com água e alimento abundantes, e mantidas em ambiente silencioso.

Nenhum tratamento adicional foi realizado (hidratação, antibióticos, medicamentos tópicos,...). O objetivo foi avaliar unicamente a ação do OHB.

Os animais são divididos aleatoriamente em 2 grupos de 16, com um deles ficando como controle, e no outro grupo foi imediatamente iniciado o tratamento com OHB, com os animais colocados na câmara, com O_2 a 100%, mantido a 2 atm de pressão, e durante 90 minutos, com 1 sessão diária, durante 15 dias. Dentro da câmara os animais não são anestesiados.

Foi utilizada câmara individual (Fig.4) do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental, da FCM da UNICAMP.



Fig.4.- Câmara Hiperbárica

IV.1.5.- Seguimento dos animais

a) Histologia

Foram realizadas 8 avaliações em cada animal, nos 7º, 11º, 15º, 20º, 28º, 32º e 36º dias, e nas biópsias eram retirados amplos fragmentos, englobando pele normal, transição e área queimada. As lâminas preparadas pelo método HE. (fotos na sequência fotográfica das páginas 41 a 48, e as fotos das colunas da esquerda são os tratados, comparando com os não tratados, nas colunas da direita). (Fig.14 a 52).

Foi efetuado o estudo, procurando observar a remoção de crostas, a formação do tecido de granulação e a reepitelização.

b) Acompanhamento clínico

Realizado acompanhamento clínico, documentado com fotos, (Fig. 5 e 6) até o 20º dia, quando todos já estavam cicatrizados. As fotos se concentraram mais entre o 14º e 20º dias, pois foi o período onde efetivamente se completou a cicatrização. (Sequência fotográfica nas páginas 49 e 50, com uma série realizada para as fotos, com apenas 1 queimadura abdominal). (Fig. 53 a 60).

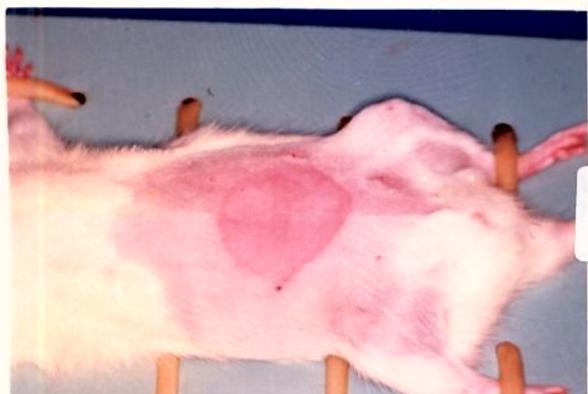


Fig.5.- Logo após a queimadura



Fig.6.- 3 dias após a queimadura

IV.2.- QUEIMADURA DE 3º GRAU

IV.2.1.- Animais

Utilizados ratos da raça Wistar, da mesma linhagem, com idade de 3 meses, peso médio de 226 g, sendo o maior com 286 g, e o menor com 165 g, e a superfície corporal média de 227 cm³, avaliada em animais com peso igual à média.

Utilizamos um total de 100 ratos, escolhidos ao acaso.

IV.2.2.- Descrição do aparelho

Utilizamos uma placa de alumínio, com leve curvatura, com base de 35 cm³ (cerca de 7 x 5 cm), e 6 mm de espessura, com peso de 120 g. (Fig.8).

O fato de ser curva, é para que permita perfeito ajustamento ao ventre do animal.

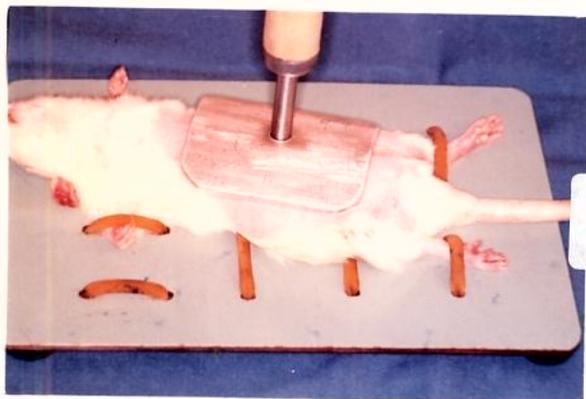


Fig. 7.- Aplicação da placa aquecida.



Fig. 8.- Placa

IV.2.3.- Técnica da queimadura

O instrumento é mantido dentro de um recipiente maior, com água a 75°C, com aquecimento contínuo para evitar resfriamento, e controlado por termômetro. O instrumento não toca as paredes do recipiente.

O instrumento é retirado do recipiente, e imediatamente aplicado ao ventre do animal, com pressão e quivalente ao próprio peso, e leve pressão manual, suficiente para ajustá-lo ao ventre do animal. A aplicação é por 15 segundos.

Os ratos são separados aleatoriamente, e retirados das gaiolas nas manhãs dos experimentos, são pesados e efetuada a tricotomia com máquina elétrica, e retornam, sendo mantidos com água e alimentação normal padronizada. A queimadura será realizada cerca de 6 horas após.

A anestesia é realizada com inalação de éter anestésico, e os animais são colocados em decúbito dorsal, com a região "dorso-lombar" apoiada em um suporte de compressa de algodão, para que a parede ventral adquira um formato curvilíneo convexo, e se adapte perfeitamente ao instrumento que provocará a queimadura. A área queimada corresponde a 15% da superfície corporal média (Fig. 7 e 9).



Fig. 9.- Logo após a queimadura

IV.2.4.- Tratamento com OHB

Após a queimadura, os animais retornam, ainda anestesiados, às gaiolas, com 2 animais em cada uma. As gaiolas são de aço, mantidas limpas e ventiladas, com água e alimentos abundantes, e em ambiente silencioso.

Os grupos tratados com OHB, têm o tratamento iniciado no mesmo dia da queimadura, e são colocados na câmara, sem anestesia, com O² a 100%, mantidos a 2 atm de pressão, e durante 90 minutos, com 1 sessão diária, durante 15 dias.

IV.2.4.1.- Enxertia de pele

No 7º dia pós-queimadura, é efetuada em 50% dos animais tratados e dos não tratados, a enxertia de pele total, que é retirada do dorso do animal, e fixada à área queimada, que foi previamente debridada. Na área doadora é feita sutura contínua com fio de nylon 5-0, e na receptora, já debridada e com remoção das crostas necróticas e raspagem da área cruenta, (com bisturi aplicado transversalmente), é feita a fixação do enxerto, com vários pontos simples de nylon 5-0, e é aplicado curativo oclusivo e levemente compressivo, com gaze de algodão.

O curativo é aberto no 7º dia, para verificação da integração do enxerto. (sequência fotográfica a seguir). (Fig. 10 a 13).



Fig. 10.- Crosta necrótica, 79 dia.



Fig. 11.- Área doadora dorsal, suturada

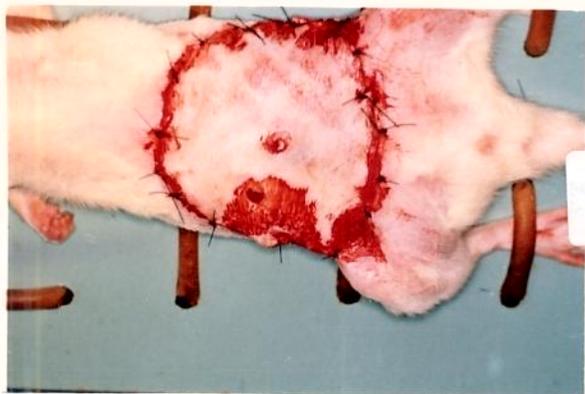


Fig. 12.- Enxerto de pele total,
fixado.

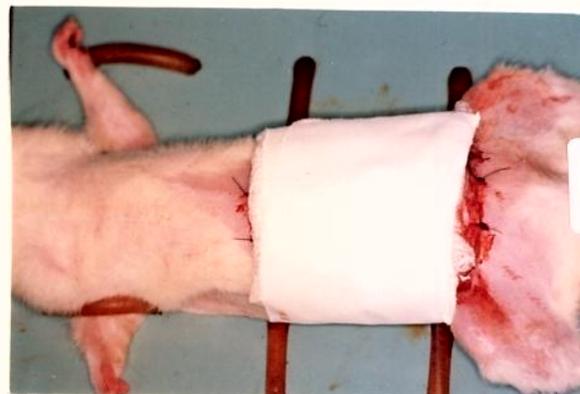


Fig. 13.- Curativo aplicado.

IV.2.5.- Seguimento dos animais

Realizadas 8 avaliações em cada animal, a cada 7 dias, com seguimento clínico (documentado com fotos), e avaliação da diminuição das áreas cruentas.

Semanalmente os animais eram anestesiados, e efetuada medição da área cruenta, através da sua moldagem em papel milimetrado, com a posterior avaliação da área, em cm^2 .

Os animais, num total de 100, foram divididos alea

toriamente, sendo um grupo tratado e um grupo como contrô
le. Esses 2 grupos foram subdivididos em outros dois, onde
será ou não efetuada a enxertia de pele. Ficamos, portan-
to, com 4 sub-grupos de 25 ratos.

RATOS QUEIMADOS	não tratados com OHBS	enxerto de pele - grupo	1
		sem enxerto de pele - grupo	2
	tratados com	com enxerto de pele - grupo	3
		sem enxerto de pele - grupo	4

O total de animais utilizados foi de 100 com ob
servações clínicas, porém em apenas 64 deles foram reali-
zadas as medidas das áreas cruentas. eles correspondem a
2 séries de 32 animais, onde não houve óbitos. Essas ava-
liações foram realizadas durante 5 semanas, quando todos
já estavam cicatrizados, e a medida inicial, de 35 cm² ,
evidentemente, foi comum a todos.

(A tabela corresponde às áreas cruentas, nos 4 gru -
pos, está na página 51, e as sequências fotográficas dos
grupos estão nas páginas 52 a 55). (Fig. 61 a 84).

V.-RESULTADOS

V.1.- QUEIMADURAS DE 2º GRAU

V.1.1.- Clínicos

Observamos que a cicatrização se completou entre
o 17º e 20º dias (tabelas adiante), nos diversos grupos. Não
houve mortalidade, nem complicações, como infecções, etc...

V.1.2.- Histológicos

Observamos cicatrização total entre o 17º e o 20º dias, porém mantivemos as observações até o 36º dia, para constatar eventuais diferenças microscópicas entre os grupos, o que não ocorreu.

V.1.3.- Tabelas e análise estatística

TABELA 1.- nº de ratos que completaram a cicatrização

	17º dia	18º dia	19º dia	20º dia
TRATADOS	3	5	4	4
NÃO TRATADOS	4	4	5	3

TABELA 2.- total acumulado de ratos cicatrizados

	17º dia	18º dia	19º dia	20º dia
TRATADOS	3	8	12	16
NÃO TRATADOS	4	8	13	16

TABELA 3.- porcentagem do total de ratos, que já cicatrizaram

	17º dia	18º dia	19º dia	20º dia
TRATADOS	18,75%	50%	75%	100%
NÃO TRATADOS	25%	50%	81,25%	100%

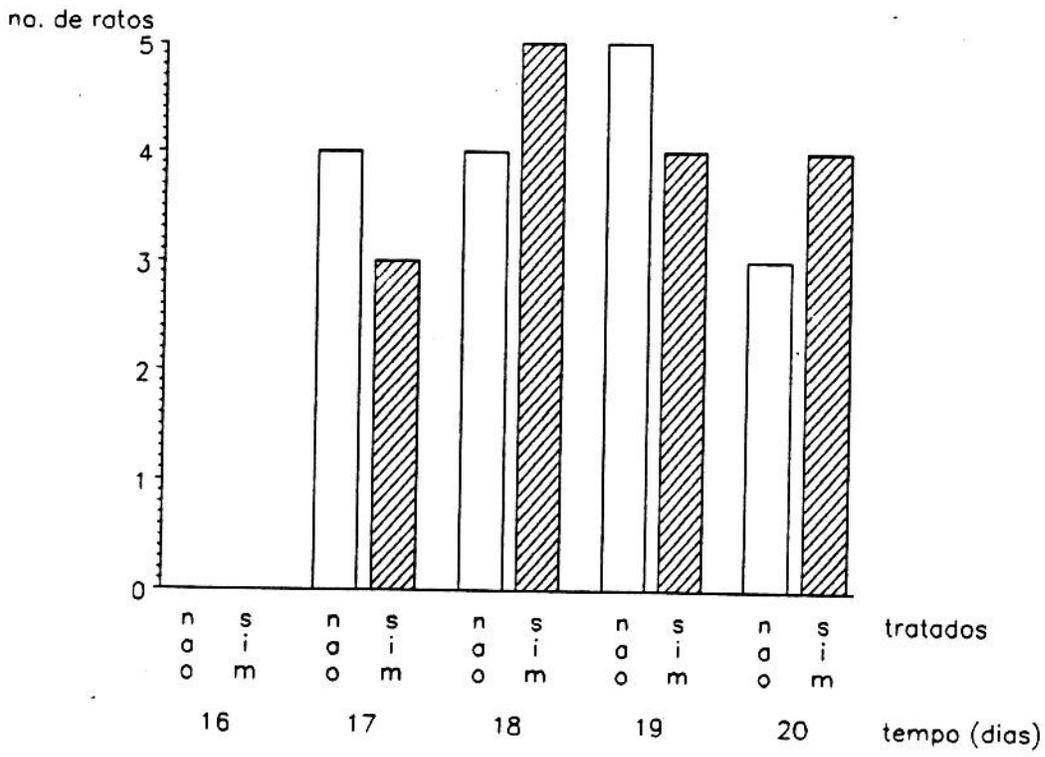


gráfico 1 – numero de ratos cicatrizados por tempo

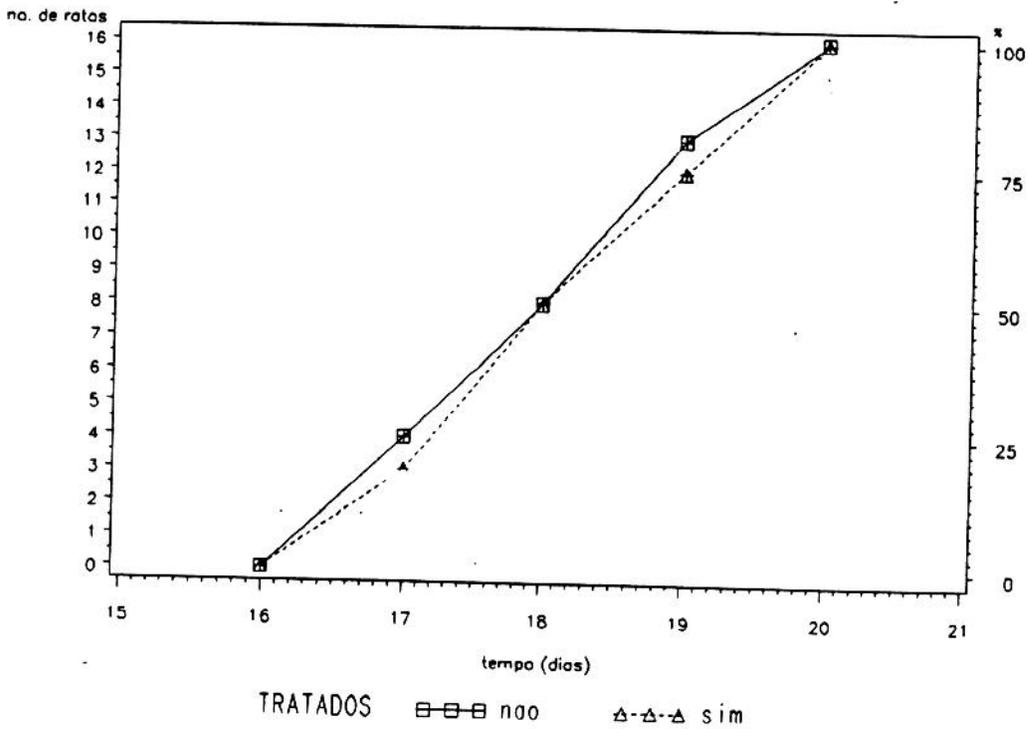


gráfico 2 – total acumulado de ratos cicatrizados

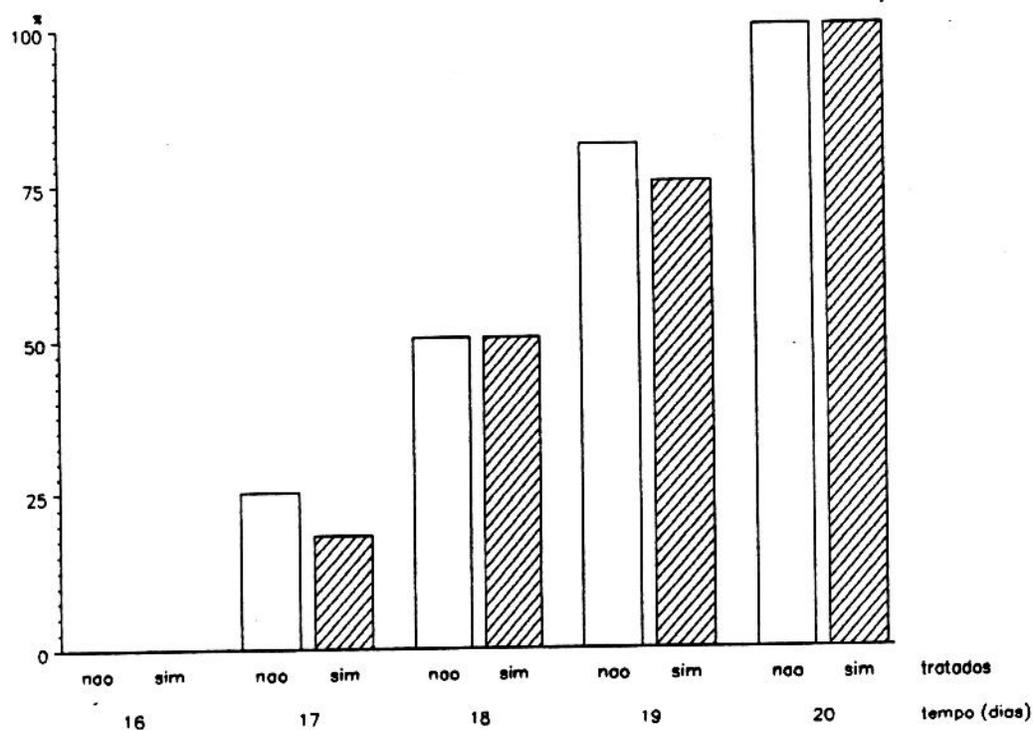


grafico 3 - porcentagem acumulada de ratos cicatrizados

Na análise do tempo decorrido até a cicatrização total, (tabelas 1 a 3), verifica-se que existem diferenças em apenas 2 casos: nos 17º e 19º dias. Em ambos os casos, houve apenas 1 rato em que a cicatrização foi mais rápida (1 dia), e no grupo controle. Como nos outros casos não houve diferença, (e a análise dos gráficos 1 a 3 o demonstra), não existe nenhuma evidência (valor de $p:100\%$), para rejeitar a hipótese (nula) de igualdade, em favor da hipótese alternativa de que o tratamento acelera a cicatrização.

Portanto: $p : 1$

H_0 : os tratamentos são iguais

H_a : o OHB acelera a cicatrização

V.2.- QUEIMADURA DE 3º GRAU

V.2.1.- Clínicos

Clinicamente, 50% dos animais estavam cicatriza - dos ao fim da 4ª semana de observação, e os restantes ao final da 5ª semana. Não houve, à observação clínica, diferenças mar_{ca}ntes entre os diversos grupos.

Quanto à mortalidade, houve um total de 6 óbitos, assim distribuídos:

Grupo 1: 2
 Grupo 2: 1
 Grupo 3: 3
 Grupo 4: 1

Observamos que os óbitos foram mais devido a causas acidentais (autofagia, canibalismo,...) do que consequentes às queimaduras ou ao tratamento. Quanto a outras complicações como infecção, por exemplo, não chegamos a detalhar, visto que em todos os animais havia alguma secreção, própria de uma superfície exposta, porém sem caracterizar um quadro infeccioso.

V.2.2.- Medida das áreas cruentas

A partir dos dados obtidos com as medidas das áreas cruentas, foi realizada a tabela anexa, ((pág.51) com a qual foi realizada a análise estatística.

V.2.3.- Análise estatística

A análise dos resultados, mostrada a seguir, foi realizada através do ajuste dos modelos de crescimento exponencial com erros correlacionados.

O ajuste do modelo foi realizado através do pro-

cedimento **SYSLIN DO SAS***.

A hipótese de erros correlacionados foi necessária porque a diferença de cicatrização de um rato em relação à média do grupo, num período, depende desta mesma diferença no período anterior.

Na hipótese de igualdade entre os grupos tratados e os controles, diferenças de média da ordem de grandeza verificada no experimento, podem ocorrer com probabilidade maior que 10%, ou seja, as diferenças observadas podem ser creditadas às variações experimentais, não podendo rejeitar a hipótese (nula) de igualdade entre os tratados e os controles, em favor da hipótese alternativa de que o oxigênio hiperbárico acelera a cicatrização.

(ANÁLISE ESTATÍSTICA ANEXA, Págs. 56 a 65).

* Sistema de equações lineares (SYSLIN) do STATISTAL ANALYSIS SYSTEM (Programa de procedimentos para manipulação e análise de dados)

VI.- DISCUSSÃO

O uso de câmaras hiperbáricas (com ar), na medicina, já data de alguns séculos, sendo testadas nas mais diversas patologias, e sempre com a idéia de que, ao aumentarmos o suprimento de oxigênio, facilitamos a cura.

O uso de **OHB** em queimados é mais recente, a partir dos anos 60, com a observação empírica em vítimas de explosão de mina de carvão no Japão.

Ketchum⁽²⁷⁾, observou cicatrização mais rápida em queimados, usando **OHB**, mas seu critério de cicatrização era subjetivo e não definido.

Com os trabalhos de Shulman⁽⁴⁹⁾, Benichoux (3), Bornside e Nance⁽⁹⁾, verificamos que apresentavam resultados contraditórios, o que, acrescido da falta de informações específicas acerca da ação do **OHB**, chegaram a levar, numa certa época, a um ceticismo quanto à sua eficácia na terapia de queimados.

Muitos trabalhos têm sido realizados, analisando os mais diferentes aspectos envolvidos nas queimaduras (controle hídrico, eletrólitos, alterações vasculares e sanguíneas, **OHB** associado com tratamentos tópicos, uso de enxertos, ...).

Em muitos estudos, há falta de controles comparativos, talvez pelas próprias características da patologia.

Myers⁽³⁹⁾, em 1984, situou as queimaduras entre as doenças efetivamente tratadas pela **OHB**, embora saliente que não hajam estudos controlados.

Optamos por realizar um estudo utilizando apenas **OHB**, sem nenhum tratamento adicional (hidratação, medicamentos tópicos, uso de antibióticos, ...), e procuramos definir e documentar objetivamente os critérios de avaliação da cicatrização. Tendo em vista que nas queimaduras de 3º grau, quase sempre há uso de enxer -

tia de pele, introduzimos esse elemento terapêutico entre as variáveis a serem estudadas.

Os passos iniciais de todas as fases do nosso experi - mento, foram no sentido de uniformizar as condições dos animais , variando apenas quanto à profundidade.

São muito diversas as lesões térmicas sofridas pelos ' indivíduos, já que elas variam quanto ao agente etiológico, quan - to à extensão da superfície corporal atingida, quanto à idade do indivíduo, e quanto à profundidade.

Adotamos a classificação em profundidade, de 1º, 2º e 3º graus:

1º grau: mais superficial, atinge a epiderme.

2º grau: atinge a derme, em profundidades variáveis.

3º grau: atinge totalmente a derme, podendo ir a planos mais profundos.

Os estudos foram realizados apenas, nas de 2º e 3º graus, visto que as de 1º grau têm cura espontânea, poucas vezes necessitando de cuidados adicionais.

Nas queimaduras de 2º grau, houve seguimento clínico e histológico. Nas de 3º grau, houve seguimento clínica, também com mensuração da progressão das áreas cruentas, com os grupos dividi dos em tratados ou não, com **OHB**, e subdivididos naqueles em que foi ou não utilizada enxertia de pele.

Quanto à técnica da queimadura, as primeiras dificulda des com que nos deparamos, são relacionadas à execução de uma ' queimadura-padrão, que seja fácil de reproduzir em extensão, pro - fundidade e localização, que não seja pequena(limitada), que leve a cura espontânea, e que não seja tão grave que leve a alta morta lidade e complicações.

Há 4 fatores que podem influenciar a gravidade de uma queimadura experimental em ratos: a) localização, b) superfície, c) temperatura, e d) duração da exposição.

Queimaduras de cabeça e pescoço causam dificuldades respiratórias e de alimentação; as de períneo causam dificuldades de excreção; as dos membros, dificuldade de locomoção e acesso a água e alimentos; no dorso e flancos, além de serem irregulares, pelo relevo costal, podem causar dificuldades de locomoção e respiração, se as crostas forem constrictivas.

A queimadura experimental ideal em ratos deve produzir uma destruição uniforme da pele, e permitir que hajam as reações do organismo, nos tecidos vizinhos.

Optamos por produzir uma queimadura na parede ventral abdominal, uniformemente reproduzida em todos os animais, e a profundidade foi confirmada por exame histológico e comportamento clínico dos animais.

Vários estudos-piloto foram realizados, até que obtivéssemos as condições ideais de tempo de exposição e temperatura, para produzir uma queimadura de 2º grau, e que foi de 70°C, com 7 segundos de exposição.

O modo como foram feitas as queimaduras, aplicando o próprio peso do aparelho, tem a vantagem de evitar a variação na extensão da área queimada, durante a queimadura, causada pelo espasmo panicular (músculo panniculus carnosus, que é análogo ao platisma, e fica abaixo da derme).

A temperatura é o fator mais fácil de padronizar, e não avaliamos a margem de erro, devido às características próprias do instrumento utilizado, (seria para medir antes e após a aplicação), e também porque as condições de aplicação são facilmente controláveis e reproduzíveis.

A medida do tempo de exposição é um pouco mais difícil, porém reduzimos este fator de risco, diminuindo a temperatura do cilindro, e aumentando o tempo de exposição, controlado por outra pessoa, utilizando cronômetro. Para fins práticos, pequenas margens de erro não são importantes, pois sabe-se que a transferência de calor para a pele, e através dela, atinge um nível estável num pequeno espaço de tempo, após o contacto.

Há uma retração no local da queimadura, que foge ao nosso controle, porém devemos imaginar que ela seja uniforme em todos os grupos analisados.

A superfície corporal atingida, em média, foi de 4,75%, já que a superfície corporal média é de 223 cm², a base do cilindro tem 5,30 cm², e foram provocadas 2 lesões em cada rato.

Julgamos que esta extensão seria suficiente, já que a epitelização nas queimaduras de 2º grau se faz por 3 vias, (de baixo para cima, na derme; a partir das bordas da lesão; e por proliferação das células epiteliais dos anexos cutâneos), e uma área maior não alteraria o tempo de cicatrização.

O fato de existirem 2 queimaduras ventrais, permitiu que realizássemos 2 análises histológicas em cada animal, nos tratados e nos controles, com as peças para exame sendo retiradas sempre aos pares, e nas mesmas datas (por exemplo, se 2 ratos, um tratado e um controle, tiveram o lado direito retirado no 11º dia, os mesmos animais terão o lado esquerdo retirado no 28º dia). Ao retirarmos a peça de um lado, a sutura era feita de tal forma que não tensionasse, e portanto não interferisse, na evolução da queimadura contralateral. Observamos que o lado esquerdo, que foi biopsiado na 2ª vez, estava sempre livre de reações inflamatórias teciduais que ocorriam no lado direito, após a 1ª biópsia.

A retirada de peças para exame ocorreu até o 36º dia, mesmo estando clinicamente cicatrizados no 20º dia. O objetivo dessa

persistência, foi tentar constatar alguma diferença microscópica (epitélio mais espesso, melhor arranjo,...etc) entre os grupos tratados e controles, o que não ocorreu.

Para as queimaduras de 3º grau, os detalhes técnicos gerais são semelhantes às de 2º grau, com alguns aspectos a serem salientados:

- procuramos realizar uma queimadura mais extensa, com cerca de 15% de superfície corporal atingida, de tal forma que não provocasse mortalidade significativa, de tão grave, ou que não fosse tão pequena, que levasse a cura rápida e espontânea. Se a área queimada é pequena, sofre interferência do fator retração da área cruenta.

- vários estudos-piloto foram realizados, até que obtivéssemos as condições de tempo, temperatura e área, que provocassem queimaduras de 3º grau, e que foi de uma placa metálica a 75°C, aplicada durante 15 segundos.

Previamente ao experimento, vários estudos-piloto foram realizados, para verificação da melhor técnica para aplicação de curativos nos ratos enxertados. Na maneira escolhida, houve 100% de integração, em animais sadios. Como não houve integração em nenhum dos animais queimados e enxertados, atribuímos o fato ao estado deficiente na superfície da queimadura.

A mortalidade de 7 animais em 100, não foi significativa, ainda mais que observamos serem acidentais (reação de stress, com autofagia ou canibalismo). A medida das áreas cruentas foi realizada em 64 animais (2 séries onde não houve óbitos, de 32 cada), mas isso não interferiu na análise estatística do universo pesquisado.

A mortalidade foi maior entre os ratos enxertados, (assim como um pequeno aumento nas áreas cruentas entre a 2ª e 3ª semana), e atribuímos isso ao fato de esses grupos terem sofrido uma lesão adicional (o ato cirúrgico da enxertia de pele), embora esperas-

semos que com o enxerto aplicado, o ferimento ficasse mais protegido contra infecção e perdas hidrías.

Na avaliação final, não observamos diferenças entre os grupos tratados e os controles, assim como não houve diferenças entre os grupos enxertados e não enxertados, (seja nos tratados ou nos não tratados com **OHB**), para as queimaduras de 3º grau. Nas queimaduras de 2º grau, concluindo, também não observamos diferenças entre os grupos não tratados e os tratados com **OHB**.

O senso comum nos leva a imaginar que o oxigênio seria benéfico à evolução das queimaduras. Observamos que ele, se não acelera, também não retarda a cicatrização.

Talvez utilizando **OHB** a outras pressões, ou tempos maiores de exposição, pudesse alterar os resultados. Ocorre que procuramos utilizar a **OHB** na pressão e tempo preconizados, para evitar suas complicações, pois essas complicações alterariam o resultado final.

VII. CONCLUSÕES

A partir dos resultados clínicos, histológicos, e análise estatística, concluimos que o uso de **OHB**, isoladamente, não interfere na evolução da cicatrização das queimaduras de 2º e 3º graus, em ratos.

VIII. RESUMO

Um experimento controlado, em ratos, foi realizado, para estudar a atuação do oxigênio hiperbárico nas queimaduras de 2º e 3º graus. Foi observado que **OHB**, isoladamente não interfere na evolução da cicatrização das queimaduras.

IX. SUMMARY

A controlled experiment in rats was performed, to study the effect of intermittent hyperbaric oxygen on 2nd and 3rd burns degrees. It was observed that HBO, alone, don't interfere in the evolution of the healing of the burns.

X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anexo, páginas 66 a 70.

TRATADOS

NÃO TRATADOS

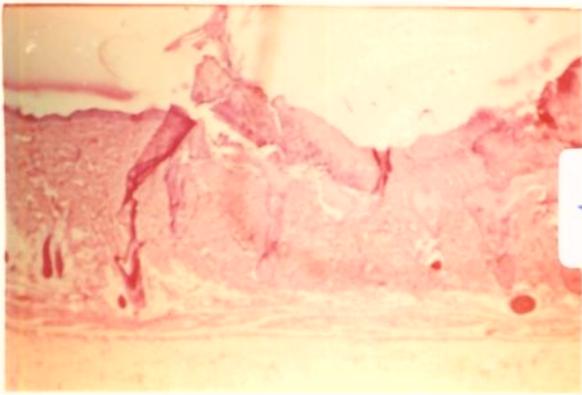


Fig.14 - Microscopia 1- HE 2,5x
Lâmina 1D-tratado - 7º dia após
-epitélio preservado de um lado
-necrose de 2º grau, com epitélio
de folículo piloso
-hipoderme acima "muscularis mucosae"
inicia infiltrado inflamatório.

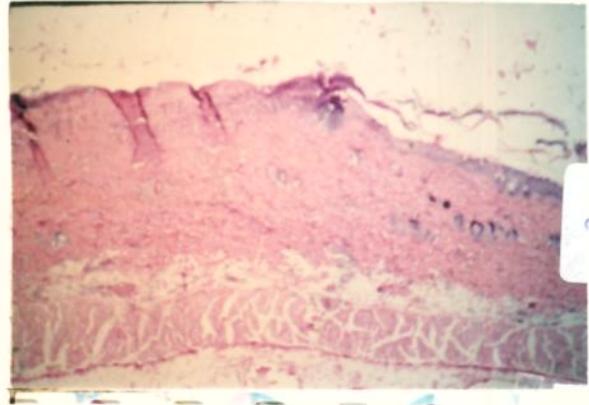


Fig.17 - Microscopia 4 - HE 2,5x
Lâmina 3D - não tratado - 7º dia pós-
-descrição idem à microscopia 1

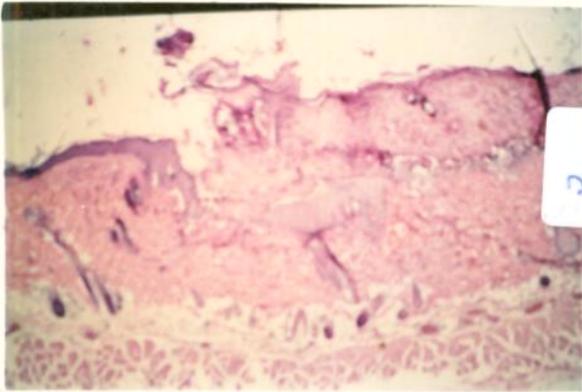


Fig.15 - Microscopia 2 - HE 2,5x
Lâmina 2D - tratado - 7º dia pós
-descrição idem à microscopia 1.

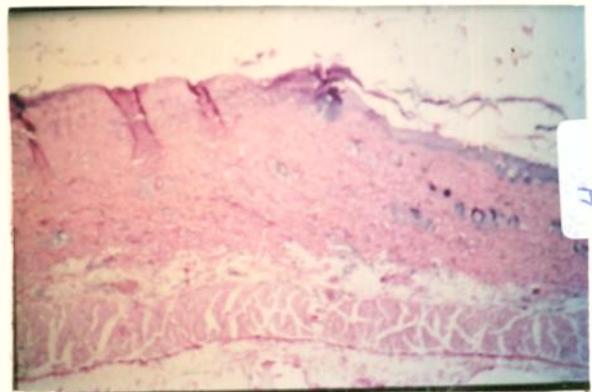


Fig.18 - Microscopia 5 - HE 2,5x
Lâmina 3D- não tratado - 7º dia pós
-descrição idem à microscopia 1.

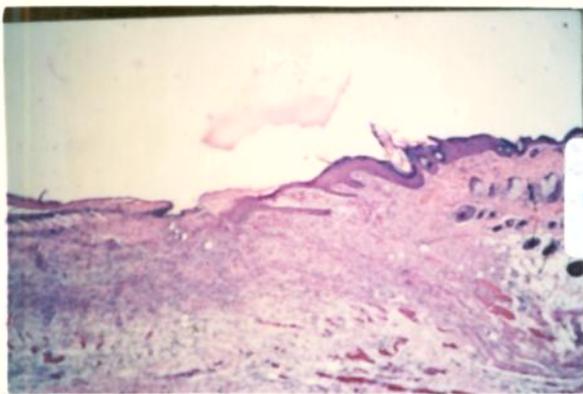


Fig.16 - Microscopia 3 - HE 2,5x
Lâmina 6D - tratado - 11º dia
-tecido de granulação excelente,
muitos vasos e fibroblastos jovens
direita: tecido normal.
centro: início de re-epitelização, com
epiderme mais espessa que o
normal.
esquerda: ainda cruenta, com exsudato
fibrino-purulento na super-
fície.

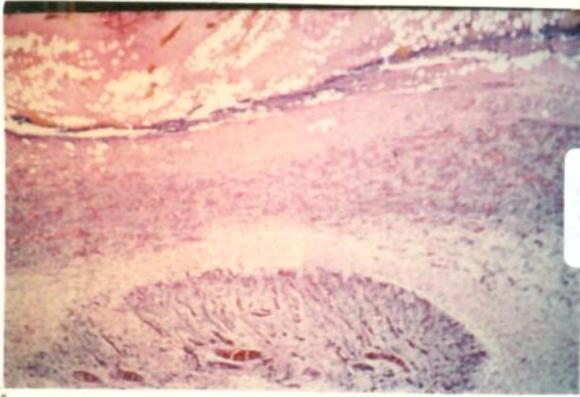


Fig. 19 - Microscopia 6 - HE 6,3x
Lamina 6D - tratado 11º dia
-detalhe do tec.de granulação na
porção central da area cruenta.

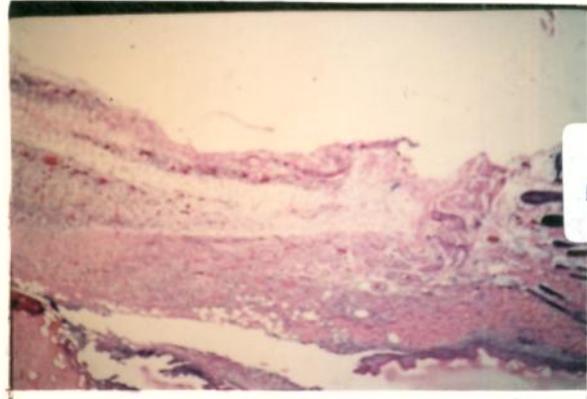


Fig. 22 - Microscopia 9 - HE 2,5x
Lamina 8D - não tratado - 11º dia
-folículo "deitado" pela dobra no
corte-
-área cruenta com tec.granulação
abaixo.
-início de reepitelização.

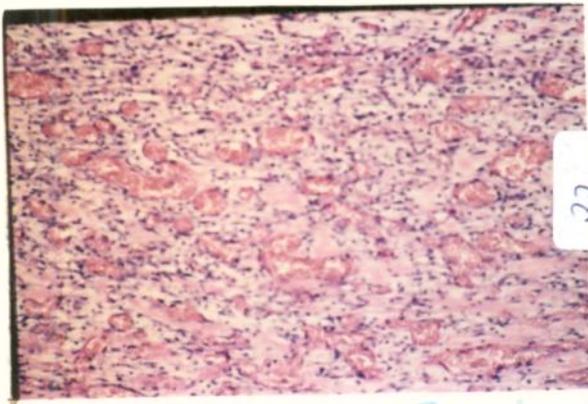


Fig. 20 - Microscopia 7 - HE 10x -close
Lamina 6D -tratado 11º dia pós
-tecido de granulação jovem



Fig. 23- Microscopia 10 - HE 2,5x
Lamina 8D -não tratado - 11º dia
-tecido de granulação, semelhante
à foto microscopia 6.

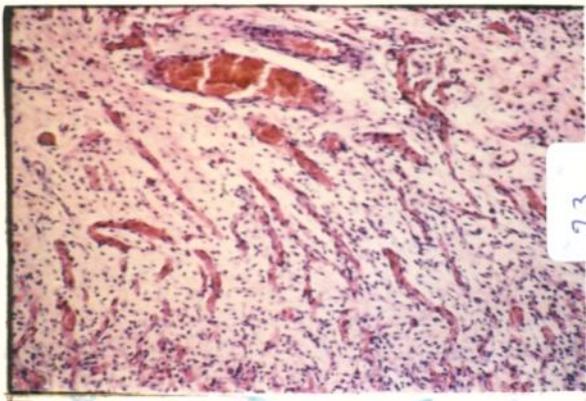


Fig.21 - Microscopia 8 - HE 10x close
Lamina 6D - tratado - 11º dia pós
-tecido de granulação jovem.

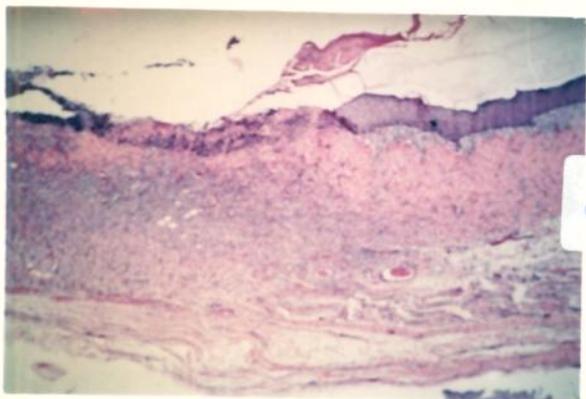


Fig.24 - Microscopia 11 - HE 2,5x
 Lâmina 9D - tratado - 15º dia
 - área cruenta com tecido granulação exuberante, que se estende atéo músculo.
 - epitelização na margem, é espessa, mais de 3 v̄ezes maior que o normal do rato.

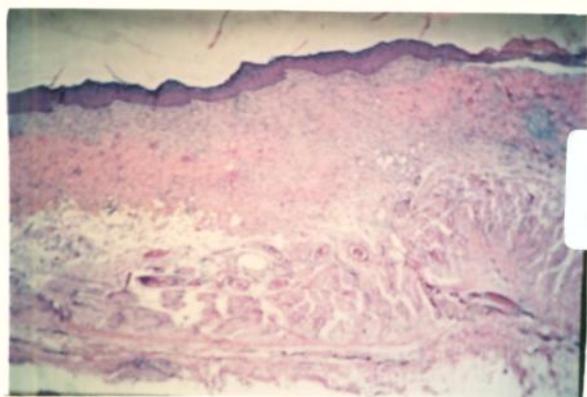


Fig.25 - Microscopia 12 - HE 2,5x
 Lâmina 9D - tratado - 15º dia
 -epitelização da epiderme, tecido de granulação maduro abaixo da epiderme e parte da derme(poucos vasos, tecido de granulação é mais fibroso).
 -marco à esquerda é epiderme com crosta

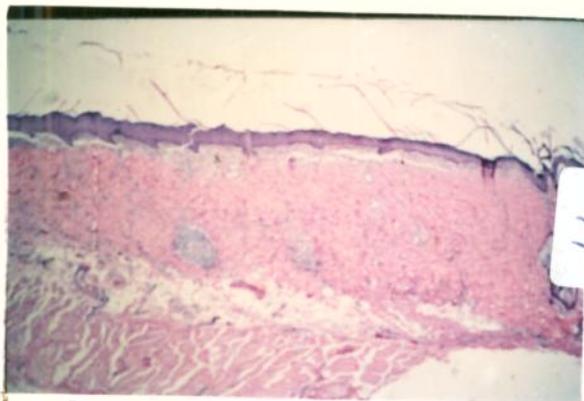


Fig.26 - Microscopia 13 - HE 2,5x
 Lâmina 9D- tratado 15º dia
 -epiderme regenerado, abaixo dela há tec.fibroso mais maduro, restrito a estreita faixa. A esq.há folículo piloso preservado, 2 granulomas de corpo estranho.
 -ausência de anexões, em todas as Lâminas vistas até aqui.

TRATADOS

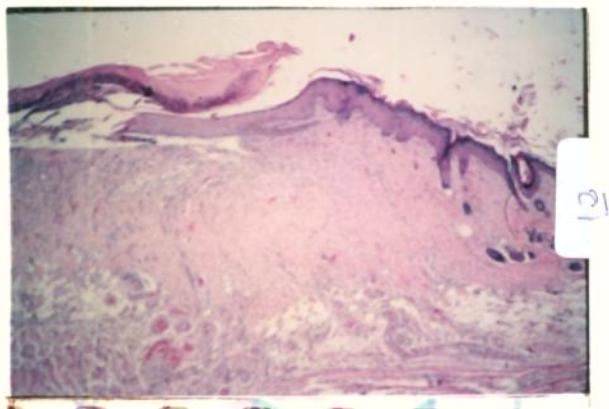


FIG. 27.- Microscopia 14 - HE 2,5x
Lamina 10D - tratado - 150 dia
- corte mais tangencial que o
9D, mostra área sadia (esq), reepi-
telizada (centro) e cruenta (direi-
ta).

NÃO TRATADOS

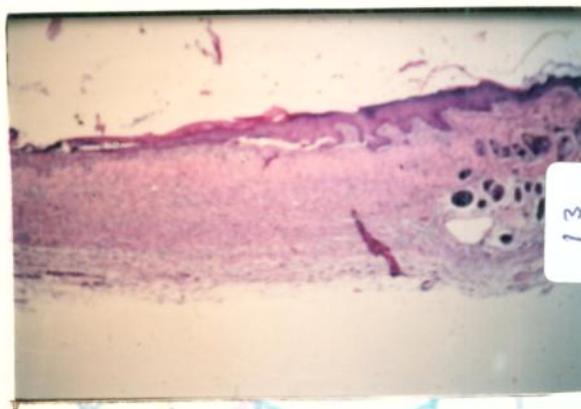


Fig. 30.- Microscopia 17 - HE 2,5x
Lamina 12D - não tratado - 150 dia
- cruento(esq), reepitelizado (centro)
e normal (direita)

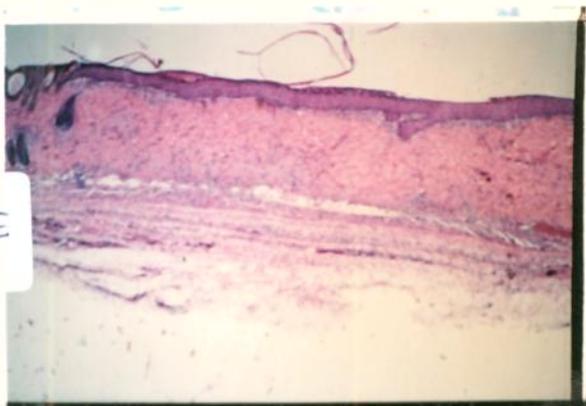


Fig. 28.- Microscopia 15 - HE 2,5x
Lamina 13D - tratado - 200 dia

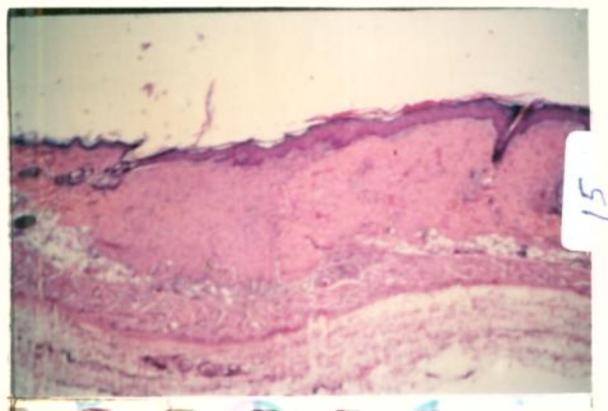


Fig. 29.- Microscopia 16 - HE - 2,5x
Lamina 14D - tratado - 200 dia
- totalmente cicatrizado
(Lado esquerdo da mostragem)

TRATADOS

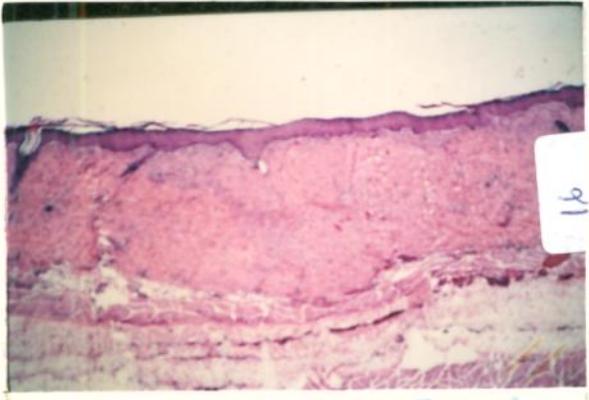


Fig. 31.- Microscopia 18 - HE 2,5x
Lamina k4D - tratado - 20º dia
- totalmente cicatrizado (porção média da montagem)

NÃO TRATADOS



Fig. 34.- Microscopia 21 - HE 2,5x
Lamina 15D - não tratado - 20º dia
- pele normal e pele reepitelizada
- tecido de granulação

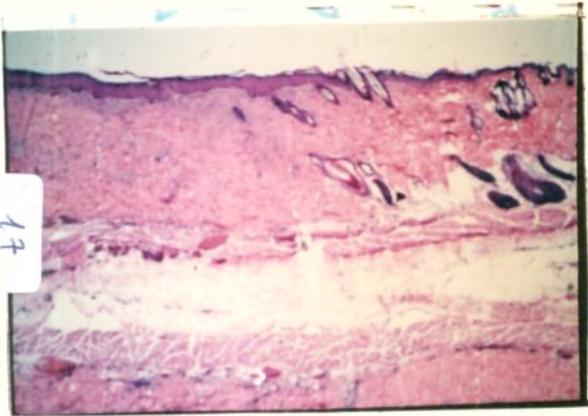


Fig. 32.- Microscopia 19 - HE 2,5x
Lamina 14D - tratado - 20º dia
- totalmente cicatrizado
(lado direito da montagem)

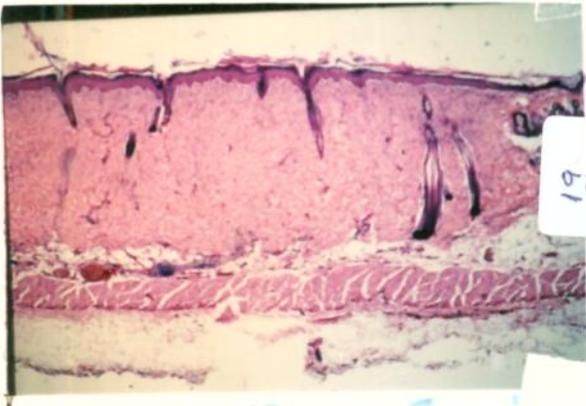


Fig. 33.- Microscopia 20 - HE 2,5x
Lamina 1E- tratado - 24º dia
- lado direito, normal
- centro: pele totalmente epitelizada, prolif. de fibroblastos é mais madura (menor nº) e restrita à porção superior de derme, e colágeno maduro mais abaixo (acima do músculo). Foliculos pilosos regenerados.

TRATADOS

NÃO TRATADOS

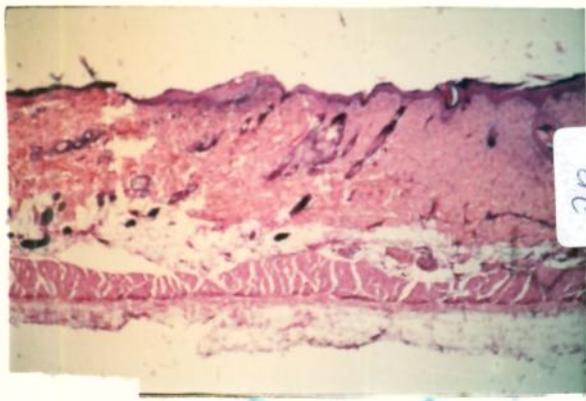


Fig. 35.- Microscopia 22 - HE - 2,5x
Lamina 1E - tratado - 24º dia
- sequência da anterior, lado esq.
normal, centro idem.

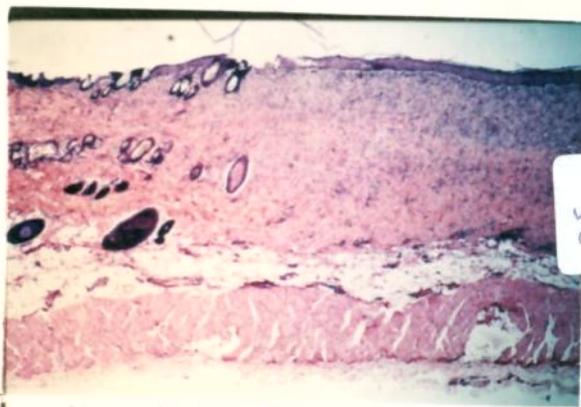


Fig. 38.- Microscopia 25 - HE - 2,5x
Lamina 4E - não tratado - 24º dia
- total/epitelizado, espessado
- derme com fibrose celular
- não há folículo piloso

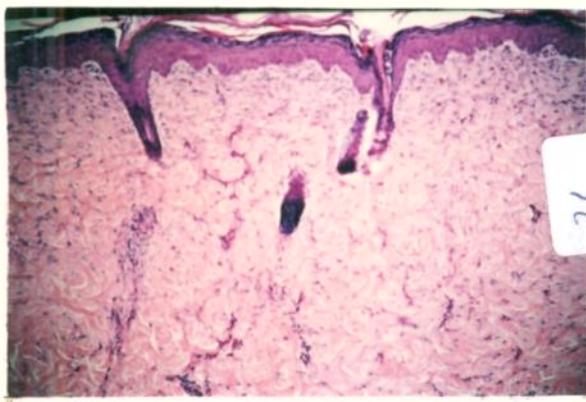


Fig. 36.- Microscopia 23 - HE 6,3x - close
Lamina 1E - tratado - 24º dia
- disposição do colágeno em várias di-
reções (na pele normal é paralela à
pele), epiderme já com extrato córneo,
diminui nº de fibroblastos.



Fig. 39.- Microscopia 26
-(idem à 25).

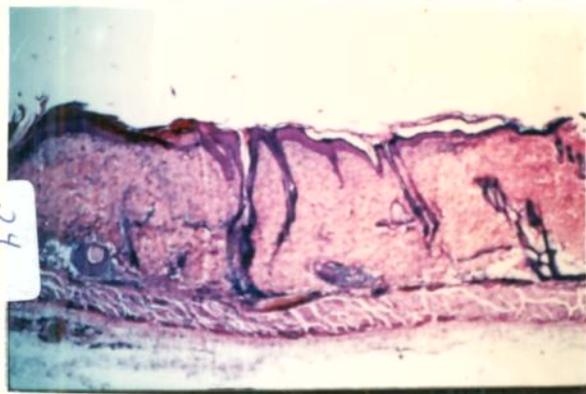


Fig. 37.- Microscopia 24 - HE 2,5x
Lamina 2E - tratado - 24º dia
- transição entre pele normal e cica-
trizada
- espessura da pele reepitelizada
- colágeno celular (mais jovem)

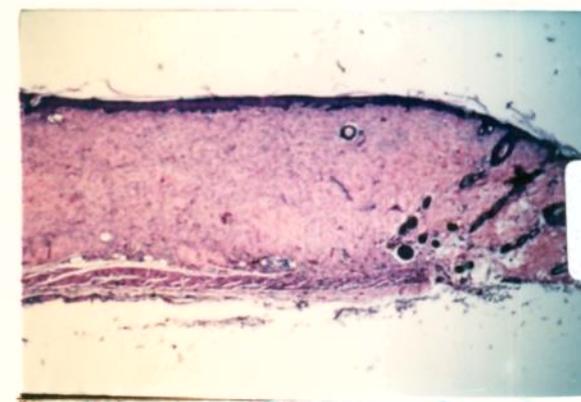


Fig. 40.- Microscopia 27 - HE 2,5x
Lamina 8E - não tratado - 28º dia
- total/epitelizado, espessado
- derme com fibrose celular
- início de folículo piloso

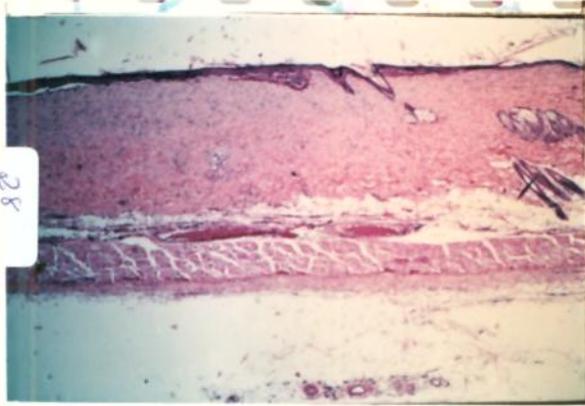


Fig. 41.- Microscopia 28 - HE 2,5x
Lamina 10E - tratado - 320 dia
- total/epitelizado, espessa/menor
- epiderme retificada

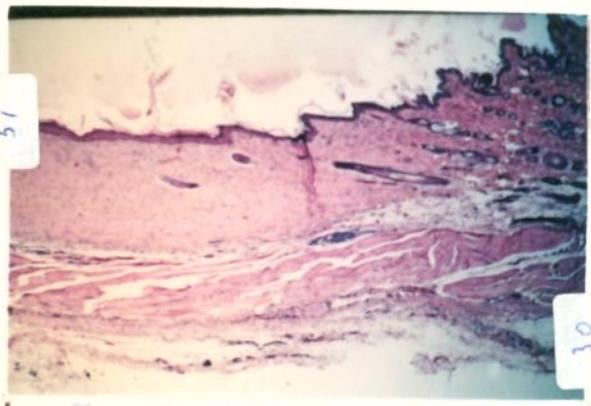


Fig. 44.- Microscopia 31 - HE - 2,5x
Lamina 11E - não tratado - 320 dia
- semelhante à anterior, já com folículo

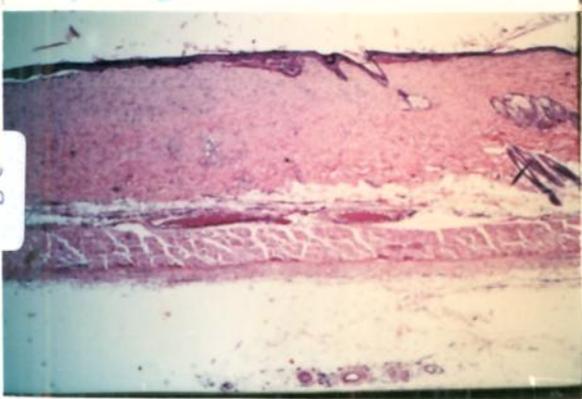


Fig. 42.- Microscopia 29 -
- (idem à 28).

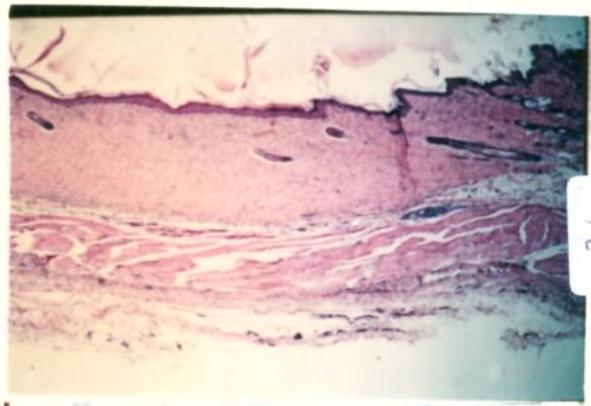


Fig. 45.- Microscopia 32 - HE - 2,5x
Lamina 11E - não tratado - 320 dia
- semelhante à anterior, há mais área lesada.

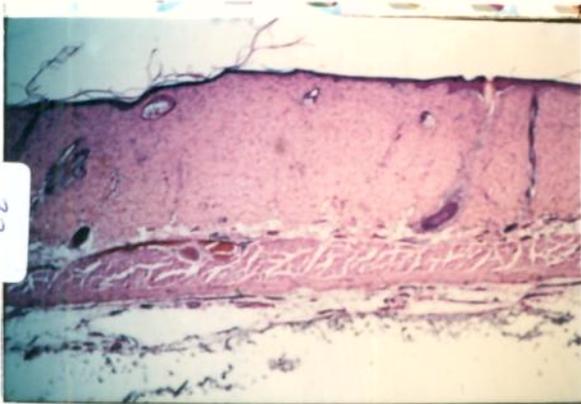


Fig. 43.- Microscopia 30 - HE 2,5x
Lamina 13E - tratado - 360 dia
- cicatrizado, epitélio mais fino

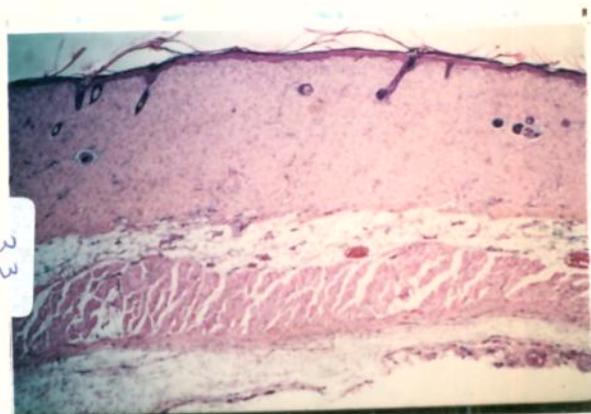


Fig. 46.- Microscopia 33 - HE 2,5x
Lamina 16E - não tratado - 360 dia
- folículos crescendo (só área reepitelizada).

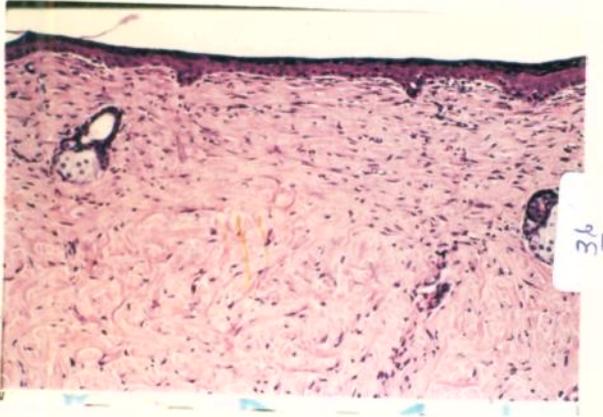


Fig. 47.- Microscopia 34 - HE 10x
Lamina 13E - tratado - 36º dia
- epiderme retificada, anexos

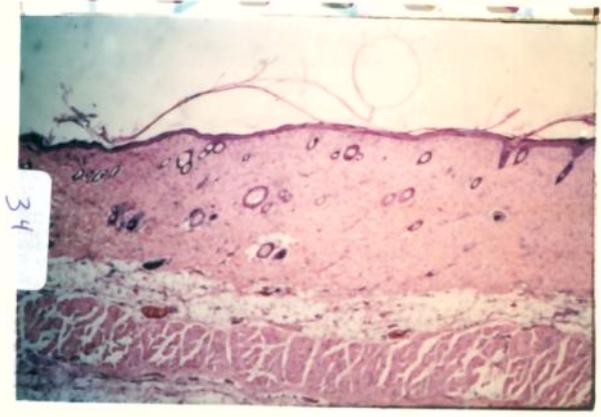


Fig. 50.- Microscopia 37 - HE " ; %X
Lamina 37 - HE 2,5x
- folículos crescendo, comparação com
pele normal.

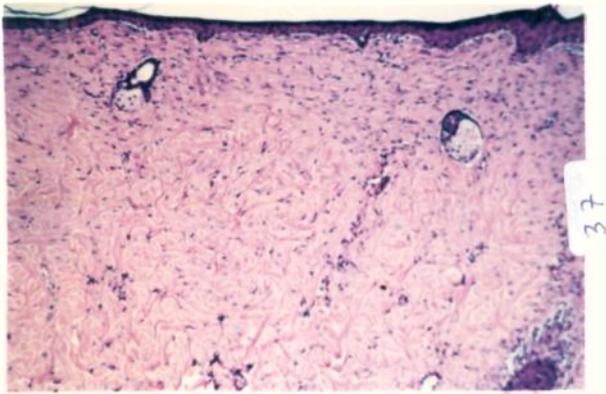


Fig. 48.- Microscopia 35 - HE 6,5x
Lamina 13E - tratado - 36º dia
- epiderme retificada, anexos

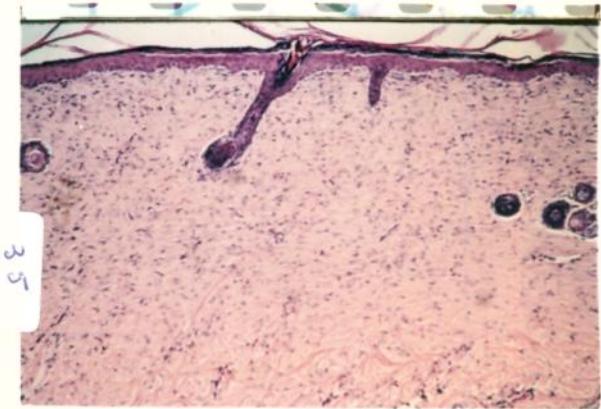


Fig. 51.- Microscopia 38 - HE 6,5x
Lamina 16E - não tratado - 36º dia
- epiderme retificada, anexos

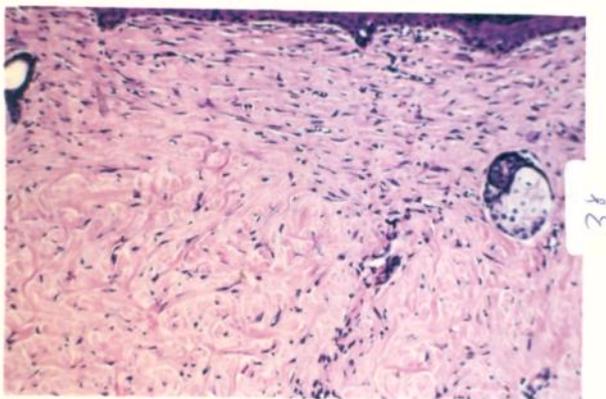


Fig. 49.- Microscopia 36 - HE 10x
Lamina 13E - tratado - 36º dia
- epiderme retificada, anexos

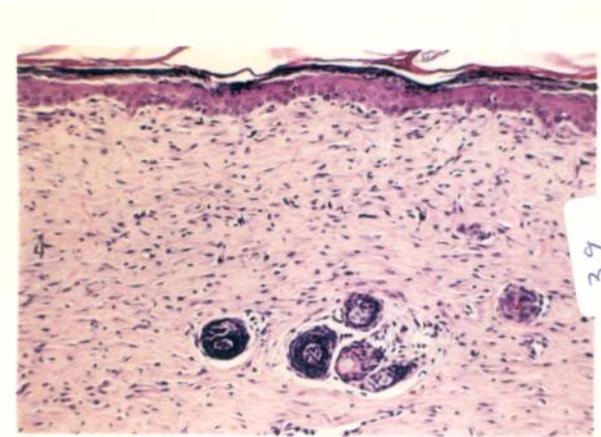


Fig. 52.- Microscopia 39 - HE 10x
Lamina 16E - não tratado - 36º dia
- close.



Fig. 53.- 70 dia



Fig. 54.- 140 dia



Fig. 55.- 170 dia



Fig. 56.- 200 dia.

QUEIMADURA DE 2º GRAUSEQUÊNCIA FOTOGRÁFICA DOS ANIMAIS NÃO TRATADOS COM OHB

47

Fig.- 57.- 7º dia



48

Fig. 58.- 14º dia



49

Fig.- 59.- 17º dia



50

Fig. 60.- 20º dia

QUEIMADURAS DE 3º GRAU - MEDIDA DAS ÁREAS CRUENTAS

nº	peso	área inicial	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	5ª semana
33	175 g	35 cm ²	17,90	8,05	4,07	0,60	-
34	200	"	18,40	9,03	3,78	0,40	-
35	219	"	16,12	7,06	0,07	-	-
36	227	"	17,30	9,40	3,20	0,10	-
37	190	"	15,30	4,28	0,30	-	-
38	195	"	18,20	4,13	2,10	0,06	-
39	227	"	14,30	6,28	1,35	0,05	-
40	200	"	19,28	7,40	0,38	-	-
41	226	"	14,70	4,99	1,91	0,21	-
42	185	"	18,20	14,20	2,76	0,87	-
43	173	"	17,30	5,43	1,14	-	-
44	209	"	18,50	6,19	1,15	-	-
45	253	"	16,10	3,92	1,13	-	-
46	237	"	17,80	3,05	0,93	-	-
47	266	"	16,40	4,23	1,03	-	-
48	249	"	21,30	11,14	1,37	0,73	-

grupo 3
(tratado, e
com enxerto)

49	185	"	15,30	4,70	0,44	-	-
50	205	"	14,40	4,12	0,32	-	-
51	216	"	18,50	8,10	2,65	0,30	-
52	221	"	17,10	8,10	3,20	0,38	-
53	190	"	16,60	6,80	2,10	0,15	-
54	180	"	15,42	5,03	0,12	-	-
55	225	"	14,68	4,00	1,12	0,03	-
56	192	"	13,18	3,67	0,38	-	-
57	243	"	16,00	3,15	1,00	-	-
58	255	"	13,00	3,05	0,92	-	-
59	250	"	18,10	3,11	1,53	0,13	-
60	225	"	17,20	4,91	1,85	0,06	-
61	257	"	16,00	3,85	0,66	-	-
62	262	"	17,00	5,36	1,24	0,27	-
63	266	"	14,00	3,19	0,74	-	-
64	270	"	13,00	3,45	0,98	-	-

grupo 4
(tratado e
sem enxerto)

nº	peso	área inicial	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	5ª semana
1	190 g	35 cm ²	13,10	3,83	1,32	0,05	-
2	180	"	16,23	5,92	0,80	-	-
3	236	"	17,44	5,25	1,10	-	-
4	185	"	15,82	5,80	1,42	0,30	-
5	215	"	15,70	5,20	1,44	-	-
6	210	"	14,92	7,15	3,20	1,30	-
7	245	"	18,27	9,20	3,85	0,80	-
8	217	"	19,13	9,32	2,03	0,07	-
9	265	"	16,20	6,30	1,32	-	-
10	262	"	18,50	8,04	1,79	0,25	-
11	257	"	19,10	9,78	1,43	0,16	-
12	276	"	17,40	5,08	1,02	0,09	-
13	272	"	17,80	5,16	1,61	0,72	-
14	286	"	19,70	10,13	4,12	1,03	-
15	281	"	14,70	3,53	0,96	-	-
16	255	"	13,80	2,76	0,80	-	-

grupo 1
(não tratado,
e com enxerto)

17	180	"	17,10	6,30	0,18	-	-
18	195	"	13,24	3,86	1,12	0,07	-
19	204	"	18,70	8,20	0,24	-	-
20	185	"	14,15	3,02	0,40	-	-
21	210	"	16,80	7,40	2,13	0,10	-
22	165	"	15,70	4,40	0,40	0,40	-
23	215	"	17,10	6,12	0,07	-	-
24	215	"	18,40	6,80	2,10	0,38	-
25	276	"	17,30	3,47	1,96	0,12	-
26	250	"	18,20	4,28	1,44	0,08	-
27	274	"	16,50	3,86	1,16	-	-
28	226	"	17,10	4,75	2,17	0,91	-
29	266	"	13,70	4,03	1,08	-	-
30	263	"	14,60	3,21	1,15	-	-
31	245	"	15,00	3,67	0,71	-	-
32	245	"	18,10	4,10	1,90	-	-

grupo 2
(não tratado,
e sem enxerto)

- GRUPO 1.- NÃO TRATADOS, E COM ENXERTO - SEQUÊNCIA FOTOGRÁFICA



Fig. 61.- 14º dia



Fig. 62.- 21º dia



Fig. 63.- 28º dia



Fig.- 64.- 35º dia



Fig. 65.- 42º dia



Fig.- 56º dia

- GRUPO 2 - NÃO TRATADOS, E SEM ENXERTO - SEQUÊNCIA FOTOGRÁFICA



73

Fig. 67.- 14º dia



74

Fig. 68.- 21º dia



75

Fig. 69.- 28º dia



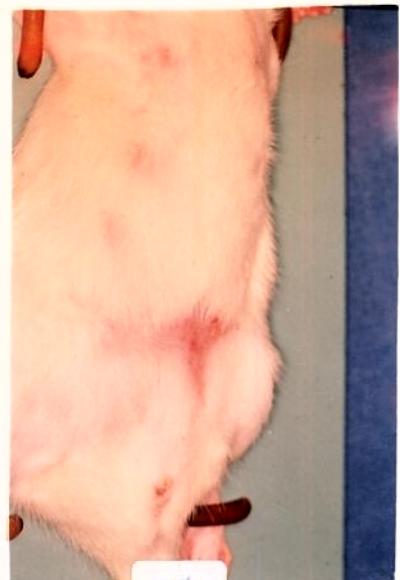
76

Fig.- 70.- 35º dia



77

Fig. 71.- 42º dia



78

Fig. 72.- 56º dia

- GRUPO 3 - TRATADOS, e COM ENXERTO - SEQUÊNCIA FOTOGRÁFICA



Fig.- 73.- 140 dia



Fig. 74.- 210 dia



Fig. 75.- 280 dia



Fig.- 76.- 350 dia



Fig. 77.- 420 dia



Fig. 78.- 560 dia

- GRUPO 4 - TRATADOS, E SEM ENXERTO - SEQUÊNCIA FOTOGRÁFICA



61

Fig. 79.- 14º dia



62

Fig. 80.- 21º dia



63

Fig. 81.- 28º dia



64

Fig. 82.- 35º dia



65

Fig. 83.- 42º dia



66

Fig. 84.- 56º dia

ANÁLISE ESTATÍSTICA

(USO DO OXIGÊNIO HIPERBÁRICO NO TRATAMENTO DE QUEIMADURAS)

Neste apêndice serão apresentadas as análises do efeito do tratamento utilizando o oxigênio hiperbárico, na cicatrização de queimaduras do 3^o grau.

Durante o experimento foram acompanhados 100 ratos divididos em quatro grupos. A distribuição dos ratos nos diferentes grupos foi realizada de forma totalmente aleatória. Por razões técnicas os grupos eram divididos em sub-grupos, quando da realização do experimento. Um resumo do número de ratos utilizados em cada grupo é dado na Tabela A.1

Tabela A.1 - Distribuição dos ratos no experimento segundo a utilização de enxerto (Sim/Não) e tratamento através de oxigênio (Sim/Não)

Grupo	Enxerto	Oxigênio	Total	Óbitos	Aproveitados
1	S	N	25	2	16
2	N	N	25	1	16
3	S	S	25	3	16
4	N	S	25	1	16

Os óbitos observados foram consequentes mais a causas acidentais (reação de stress, com autofagia e canibalismo,...), do que devido às queimaduras ou ao tratamento, daí não serem considerados na análise.

Os 16 ratos foram escolhidos nos sub-grupos em que não houve óbitos por serem considerados aqueles que não sofreram influência externa indesejável.

Os valores das áreas cruentas ao longo do período de 5 semanas, dos 64 ratos aproveitados, estão apresentadas na página 46.

As distribuições e evolução das percentagens da área cruenta, ao longo do período de observação estão representadas na

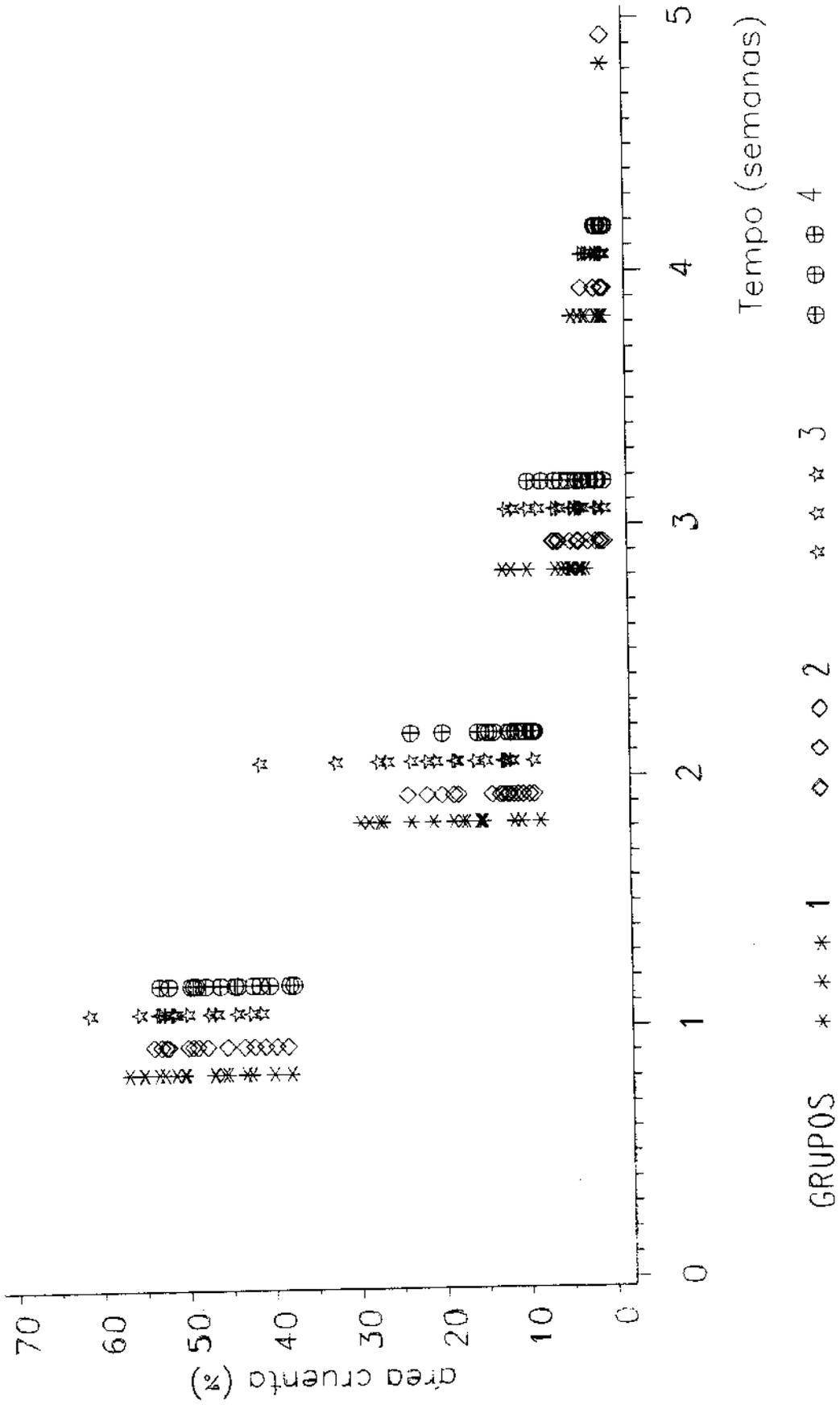


Figura A.1 – Gráfico da porcentagem de área cruenta para os grupos: 1 – controle/enxerto, 2 – controle/sem enxerto 3 – tratado/enxerto 4 – tratado/sem enxerto, entre a primeira e a quinta semana

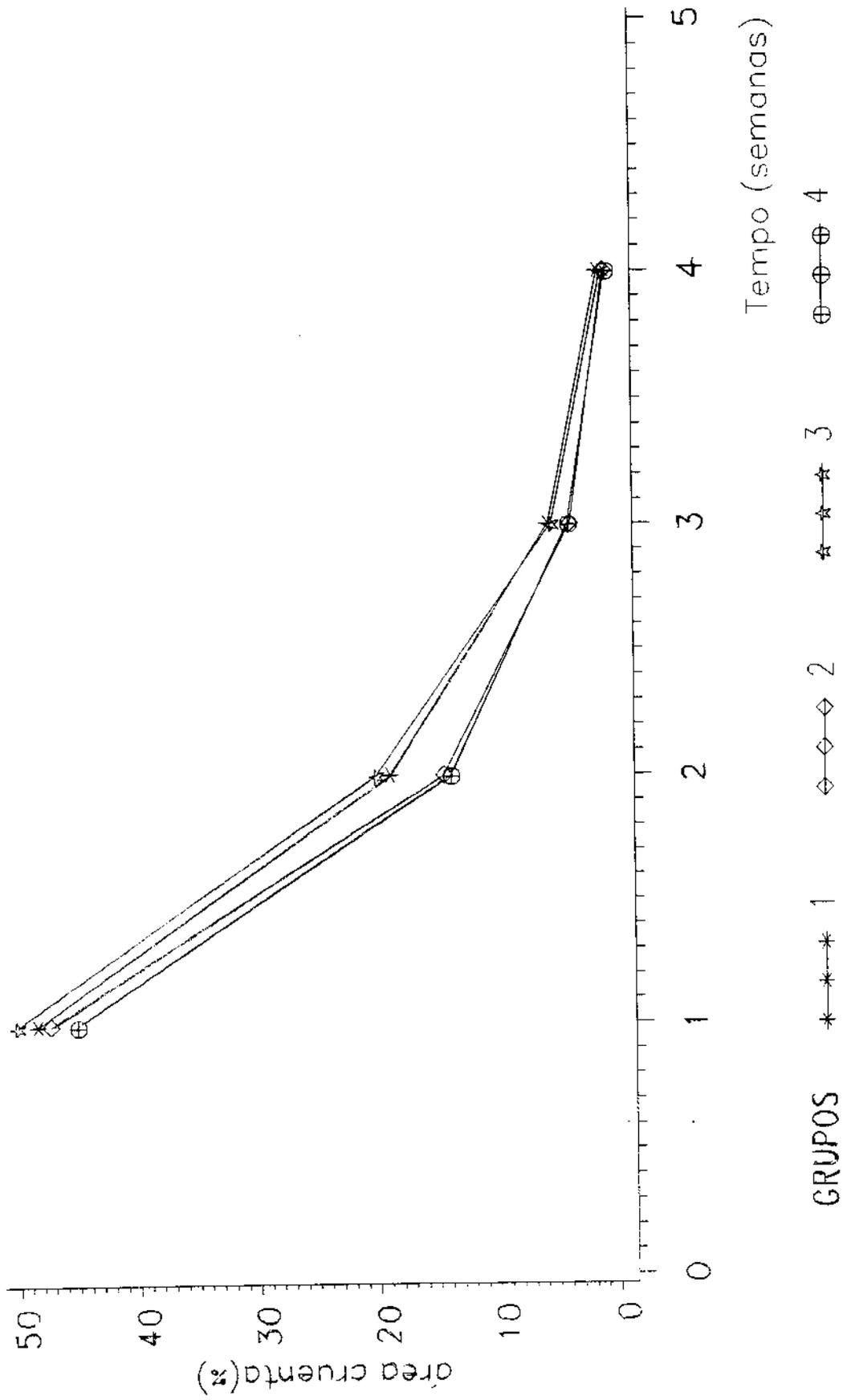


Figura A.2 – Gráfico de médias da porcentagem de área cruenta para os grupos: 1 – controle/enxerto, 2 – controle/sem enxerto 3 – tratado/enxerto 4 – tratado/sem enxerto entre a primeira e a quinta semana

Figura A.1, separados pelos 4 grupos. A Figura A.2 apresenta a evolução do valor médio da percentagem da área cruenta ao longo do período, nos quatro grupos.

Uma análise dos gráficos e tabelas indica que já no final da terceira semana praticamente todos os ratos tinham uma percentagem de cicatrização maior que 90%, e que no final da quarta semana, 51 dos 64 ratos (78 %) já estavam totalmente cicatrizados. Esta percentagem chega a 100% no final da quinta semana.

Pelos gráficos podemos comparar o efeito do tratamento hiperbárico entre os grupos que tiveram (grupos 1 e 3) e não tiveram enxertos (grupos 2 e 4). Podemos perceber que não existe nenhuma diferença significativa: enquanto a média de cicatrização foi maior nos dois primeiros períodos para o grupo que teve tratamento entre os que tiveram enxerto, ela foi menor no grupo de tratamento entre os que não tiveram enxerto. Estas diferenças, no entanto, não são significativas estatisticamente (valor $p > 0.10$), dada a grande variabilidade experimental. A mesma conclusão pode ser tirada para o efeito do enxerto entre os grupos controle e tratamento. A diferença entre as médias entre o grupos com e sem enxerto pode ser explicada pela variabilidade experimental.

A Figura A.1 indica uma possível diferença de variabilidade entre os grupos que sofreram enxerto, pequena no final do primeiro período e maior no final do segundo período, sendo a variabilidade maior nos grupos que sofreram enxerto. Como os ratos sofreram enxertos apenas após a primeira semana, o enxerto não pode ser o responsável pela dispersão no primeiro período, ou seja, existe efeito do grupo e não da utilização de oxigênio e/ou enxerto. Desta forma, a maior dispersão no período 2 poderia ser explicado pela variação ocorrida anteriormente à aplicação dos enxertos, e um possível efeito casual (infecção, ataques dos outros ratos).

Embora os gráficos não mostrem nenhum efeito evidente pode ser que haja uma pequena influência dos fatores enxerto e tratamento, apenas detectável com a aplicação de técnicas estatísticas que envolvam uma modelagem para a cicatrização. Isto será realizado na próxima seção.

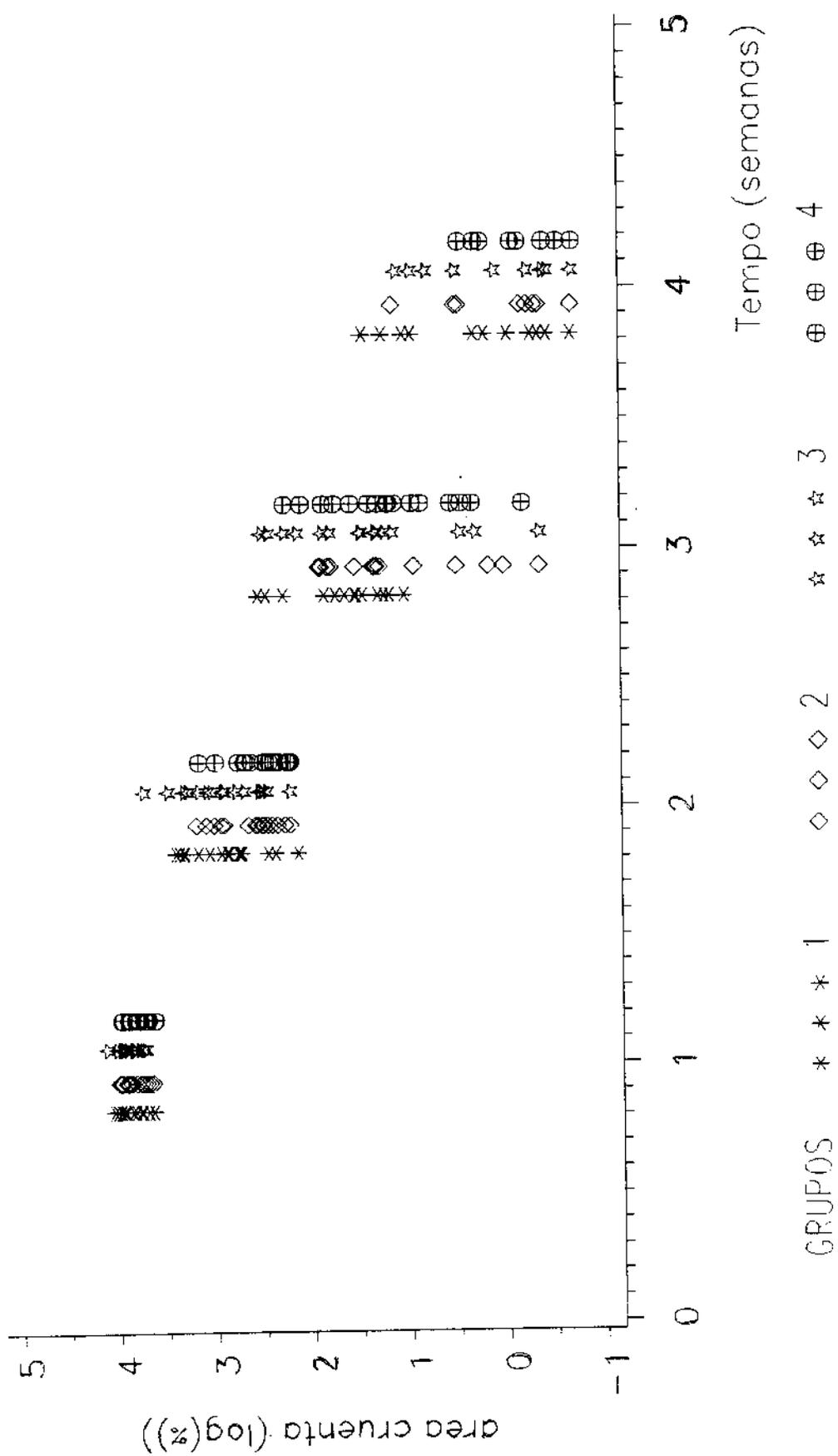


Figura A.3 – Grafico da transformação logarítmica da porcentagem de área cruenta para os grupos:
 1—controle/com enxerto, 2—controle/sem enxerto
 3—tratado/com enxerto 4—tratado/sem enxerto ao longo das cinco semanas

1 - Modelo de crescimento para a área cruenta

Uma análise das Figuras A.1 e A.2 mostra que a evolução da média da área cruenta tem aproximadamente uma forma exponencial. Para testar se esta transformação é adequada foram desenhados gráficos análogos aos apresentados nas Figuras A.1 e A.2 com a transformação logarítmica. A hipótese é validada se for possível ajustar uma reta para o conjunto de pontos. Uma análise das Figuras A.3 e A.4 mostra que uma reta se ajusta muito bem aos dados, indicando ser um modelo do tipo exponencial adequado para modelar os dados. Além disto temos uma variância mais homogênea entre os diferentes períodos. Observe que nestes gráficos não estão representados os dados relativos à última semana, já que não sabemos ao certo quando houve cicatrização total.

A análise dos dados indica, portanto, que um possível modelo para explicar a média de cicatrização pode ser dada pela equação:

$$E\{Y_{ijt}\} = \exp[-\beta_1(t - \gamma_1)],$$

onde:

$E\{.\}$ indica esperança (média),

Y_{ijt} a proporção da área cruenta no rato j dentro do grupo i no período t . Existem 4 grupos distintos dados pela combinação de controle/tratamento e de enxerto/sem enxerto,

t , o período e

β_1 e γ_1 parâmetros.

Este modelo pode ser reescrito de forma um pouco modificada como :

$$E\left\{\log(Y_{ijt})\right\} = E\left\{Y_{ijt}^*\right\} = \alpha_1 - \beta_1 \cdot t,$$

onde Y_{ijt}^* é o logaritmo da percentagem da área cruenta. Para evitar o problema com o zero, na verdade, foi tomado o valor do logaritmo de $(Y_{ijt} + 0.005)$, ajustando-se o modelo entre a primeira e quarta semana. Nas Figuras A.3 e A.4 estão representadas exatamente esta transformação. Observe que, como foi dito antes, o modelo é coerente

pois após esta transformação os pontos podem ser ajustados aproximadamente por uma reta.

O modelo ajustado aos dados será, portanto, dado por :

$$Y_{ijt}^* = \alpha_1 - \beta_1 \cdot t + \mu_{ijt} \quad (1.a),$$

onde μ_{ijt} dá a influência de fatores não considerados e de efeitos puramente aleatórios, e indica o quanto o valor observado está distante da média do grupo.

Se observarmos os sete maiores valores no segundo período (área cruenta maior que 27%) veremos que todos eles vieram de ratos que tinham uma área cruenta no período anterior maior que 48%, ou sejam eles tinham área cruenta maior do que a média dos outros ratos. Para visualizar melhor esta dependência, a Figura A.5 acompanha a evolução de 4 ratos do grupo 1. Observe que se um rato tem uma área cruenta maior do que o grupo em um certo período (μ_{ijt} positivo), no período seguinte a área cruenta também tende a ser maior no período seguinte. Além disso ela tende a chegar mais próximo da média no período seguinte. Desta forma, μ_{ijt} 's não serão independentes como nos modelos usuais de regressão. Uma forma adequada de representá-los é através de um modelo autoregressivo de ordem igual a 1, i.e., através de:

$$\mu_{ijt} = \phi_1 \mu_{ij,t-1} + \varepsilon_{ijt} \quad (1.b),$$

onde ε_{ijt} são não correlacionados.

O resultado do ajuste de tal modelo dado pelas equações (1.a) e (1.b) é mostrado na Tabela A.2. A significância dos parâmetros autoregressivos, com exceção do grupo 2 (controle e sem enxerto) mostra que a hipótese de que o tamanho da área cruenta depende não só do tempo, mas também do tamanho da área cruenta no período anterior é correta. Os altos valores do coeficiente de determinação (R^2) para os quatro grupos (0,94; 0,92; 0,90 e 0,95) mostram que o modelo explica grande parte da variação dos dados.

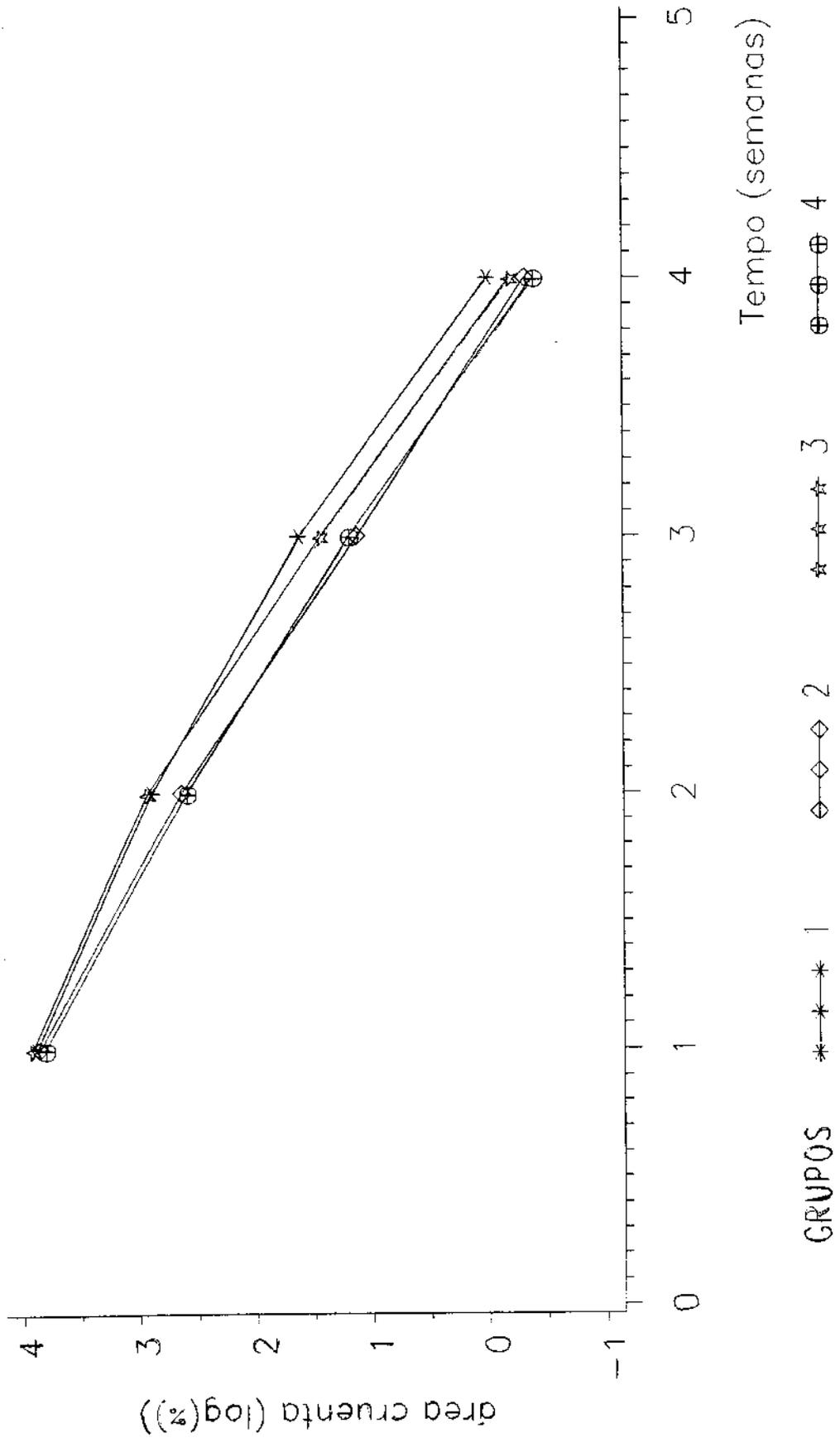


Figura A.4 - Gráfico das médias da transformação logarítmica da porcentagem de área cruenta para os grupos:
 1 - controle/com enxerto, 2 - controle/sem enxerto
 3 - tratado/com enxerto 4 - tratado/sem enxerto, entre a primeira e a quinta semana

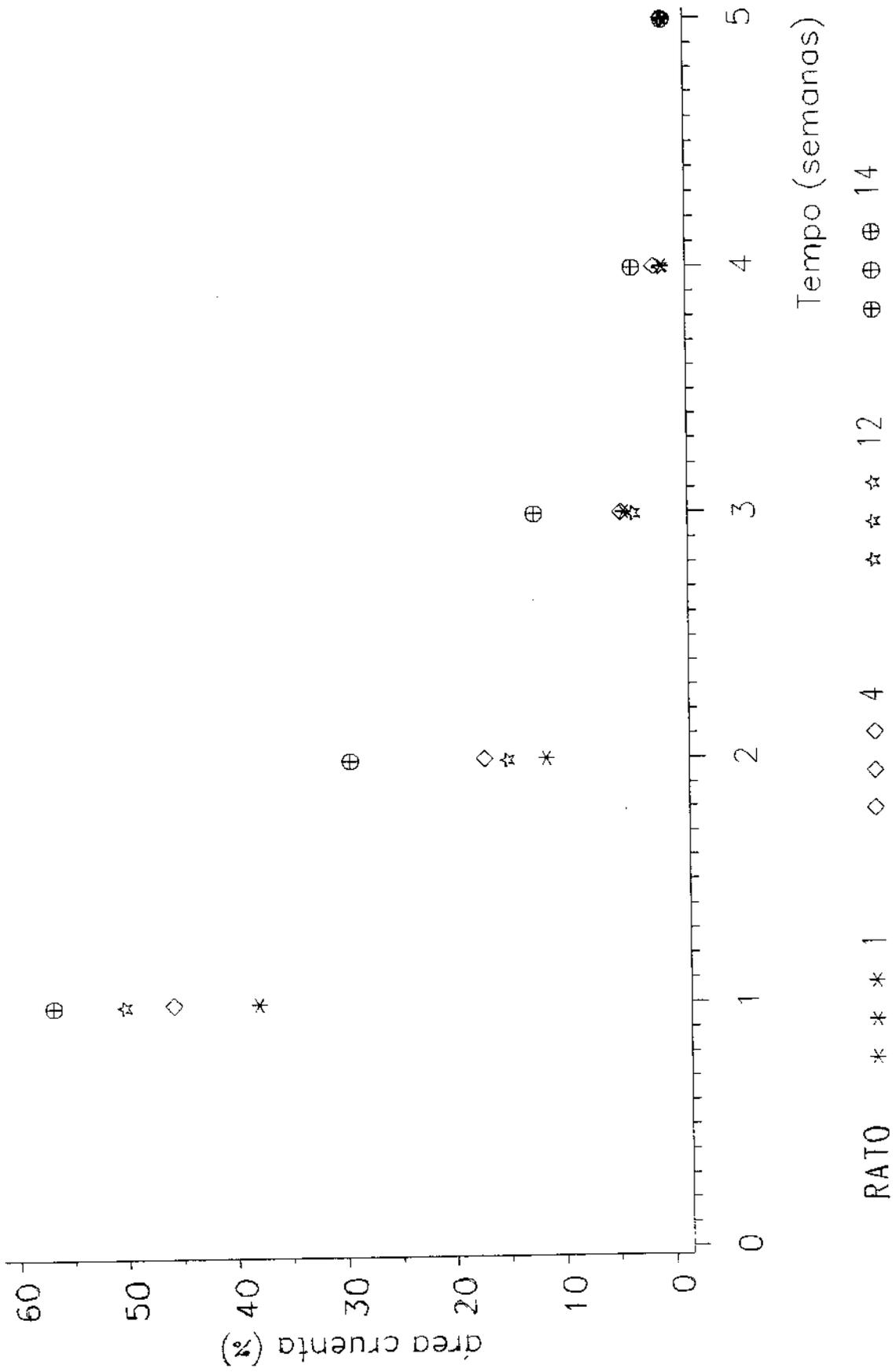


Figura A.5 – Grafico da porcentagem de área cruenta para 4 ratos do grupo 1

Tabela A.2 - Estimativa dos parâmetros no modelo

	Estimativa	Desv. Padrão	Valor t	Valor p
α_1	0.243	0.050	4.83	0.0001
α_2	0.300	0.068	4.42	0.0001
α_3	0.350	0.078	4.47	0.0001
α_4	0.273	0.054	5.07	0.0001
β_1	0.562	0.027	20.48	0.0001
β_2	0.606	0.024	20.82	0.0001
β_3	0.603	0.029	21.11	0.0001
β_4	0.606	0.019	30.45	0.0001
ϕ_1	0.992	0.151	6.55	0.0001
ϕ_2	0.191	0.154	1.24	0.2181
ϕ_3	0.426	0.150	2.83	0.0062
ϕ_4	0.581	0.128	4.52	0.0001

A hipótese de que os parâmetros α 's e β 's são iguais para os quatro períodos não foi rejeitada ao nível de significância de 10%. Entretanto, não se pode dizer que os parâmetros ϕ 's sejam iguais para os quatro grupos. Podemos dizer então que existem pequenas diferenças entre os grupos, mas que em termos de média não existe evidência estatística de que eles sejam diferentes.

Salientamos que, embora nas áreas médicas seja mais utilizado o valor de $p=0,05$, utilizamos o valor de $p=0,10$ para enfatizar a falta de evidência estatística para rejeitar a hipótese nula. Se mesmo com $p=0,10$ não rejeitamos a hipótese nula, com maior razão não rejeitaremos com $p=0,05$.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **BEAN, J.W.**:- Effect of high oxygen pressures on blood acidity, oxygen consumption, volume flow respiration. Proc. Soc. Exp. Biol., N.Y., 1929, 26:832.
2. **BEAN, J.W.**:- Effects of high oxygen pressure on carbon dioxide transport, on blood and tissue acidity, and on oxygen consumption and pulmonary ventilation. J.Physiol., Lond., 1931 , 72:27.
3. **BENICHOUX, R.; MARCHAL, C.H.; THIBAUT, G. et BERTRAND, J.P.**:- L'oxigène hyperbare dans le traitement des brûlures graves expérimentales. J.Chir. (paris) 96:(5) 445-52, nov. 68.
4. **BERT, P.**:- La pression barométrique. Libraire de L'Académie de Médecine, Paris, 1878.
5. **BLESER, F.J.; SZTUKA, C.L. and MULLER, J.P.**:- Effect of hyperbaric oxygen, THAM, and antibiotics on experimental burns in rats. Eur. Surg. Res. 3:409-420, 1971.
6. **BLESER, F.; BENICHOUX, R.**:- Le traitement des brûlures graves par l'oxigène hyperbare. J.Chir. - (Paris) 106:281-90. Sep., 1973.
7. **BOEREMA, I.; KROLL, J.A.; MELJNE, N.G.; LOKIN, E.; BROON, B. and HUISKES, J.W.**, Arch Chir. Neerl., 8:193, 1956.
8. **BOEREMA, I.; MELJNE, N.G.; BRUMMELKAMP, W.H.; BOUMA, S. MENSCH, M.H.; KAMERMANS, F.; STERN, HANF, M. and AALDERN, W. van.**:- Life without blood: a study of the influence of high atmospheric pressure and hypothermia on dilution of blood. J.Cardiovasc. Surg., 1:133-46, 1960.
9. **BORNSTIDE, G.H.; NANCE, F.C.**:- High pressure oxygen combined with antibiotics in the therapy of experimental burn wounds. Antimicrob Agents Chemother A.: 497-500, 1968.
10. **BULLOUGH, W.S.; JOHNSON, M.**:- Epidermal Mitotic activity and oxygen tension. Nature 167:488 , 1951.
11. **DAVIS, J.C.**:- Hyperbaric oxygen therapy: A committee report. Bethesda Md, Undersea Medical Society, 1983, pp.1.
12. **DICKENS, F.**:- The toxic effects of oxygen on brain metabolism and on tissue enzymes-I, brain metabolism. Biochem. J., Lond., 1946, 40:145.
13. **DICKENS, F.**:- The toxic effects of oxygen on brain metabolism and on tissue enzymes-II, tissue enzymes. Biochem., J., London, 1946, 40:171.
14. **GRUBER, R.P.; BRINKLEY, F.B.; AMATO, J.J.; MENDELSON, J.A.**:- Hyperbaric oxygen and pedicle flaps, skin grafts and burns. Plast. Reconstr. Surg. 45:24-30, Jan., 1970.
15. **GUARINO, A.; BARNINI, C.; GAJETTA, T.; ORIANI, G.; PEDESINI, G.**:- Momenti di intervento dell'OTI nel processo di guarigione delle lesioni dei tessuti di rivestimento. Minerva Med. 1982, nov., 73(42): 2965-7.
16. **HALDANE, J.S.**:- J.Physiol., 18:201, 1895.
17. **HARRIS, M.; YOUNG, D.**:- Hyperbaric medicine. Indiana Med. 1987. Mar., 80(3): 258-61.
18. **HART, G.B.; O'REILLY, R.R.; BROUSSARD, N.D.; CAVE, R.H.; GOODMAN, D.B.; YANDA, R.L.**:- Treatment of burns with hyperbaric oxygen. Surg. Gynecol. Obst., 139 (5): 693-6, nov., 1974.

19. **HART, G.B.; O'REILLY, R.R.; CAVE, R.H. et al.:-** The treatment of burns with hyperbaric oxygen: A progress report, in Trapp W.G., Banister EW, Davison AJ et al (eds): Proceedings of the Fifth International Hyperbaric Congress, Canada, Simon Fraser, 1974, pp. 293-299.
20. **HART, G.B.; THOMPSON, R.E.; DEPENBUSCH, F.L.:-** The treatment of thermal burns with hyperbaric oxygen: A retrospective study. *J. St. Barnabas Med. Center* 9:16-19. 1972.
21. **HUNT, T.K.; ZEDERDELDT, BENGT; GOLDSTUCH, T.K.:-** Oxygen and healing. *Am. J. Surg.* 118, 521, 1969.
22. **ILLINGWORTH, C.F.W.; SMITH, G.; LAWSON, D.D.; LEDINGHAM, I.; McA, SHARP, G.R.; GRIFFITHS, J. C., and HENDERSON, C.I.:-** *Brit J. Surg.*, 49: 222, 1961.
23. **LEWIN, T.T.; NORMAN, J.N.; SOWUNAGUL, A. and SMITH, G.:-** Hyperbaric oxygen in the treatment of infections by aerobic microorganisms. *Lancet*, 1:392-394, 1966.
24. **IWA, T.:-** Contribution to discussion. Transactions of the Third International Conference on Hyperbaric Medicine. National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1966, pg. 612.
25. **JACOBSEN, E.:-** The theory and indications of hyperbaric oxygen. A review. *Laval Med.* 42:291-300, Mar., 1971.
26. **JACOBSEN, J.H.; MORSCH, J.H.C. and RENDELL-BAKER, L.:-** The historical perspective of hyperbaric therapy, in Boerema I., Brummelkamp, W.H. and Meijene, N.C., *Clinica aplicacion* of hyperbaric oxygen, Elsevier, Amsterdam. 1964, pg. 7.
27. **KETCHUM, S.A.; ZUBRINI, J.R.; THOMAS, A.N. et al.:-** Effect of hyperbaric oxygen on small first, second, and third degree burns. *Surg. Forum* 18:65-7, 1967.
28. **KETCHUM, S.A. III.; ZUBRIN, J.R.; THOMAS, A.N. and HALL, A.D.:-** Angiographic studies of the effect of hyperbaric oxygen on burn wound revascularization. *Clin. Res.* 17:105, 1969.
29. **KETCHUM, S.A.; THOMAS, A.N.; HALL, A.D.:-** Angiographic studies of the effect of hyperbaric oxygen on burn wound revascularization, in Wada J, Iwa T (eds): Proceedings of the Fourth International Congress on Hyperbaric Medicine. Baltimore, Williams & Wilkins Co, 1970, pg. 338-394.
30. **KORN, H.N.; WHEELER, E.S.; MILLER, T.A.:-** Effect of hyperbaric oxygen on second degree burn wound healing. *Arch Surg.* 112(6): 732-7, Jun, 1977.
31. **LINDERNBERG, R.B.; MONCRIEF, J.A.; SWITZER, W.E.; ORDER, S.E. and MILLS, W.Jr.:-** The successful control of burns wound sepsis. *J. Trauma*, 5:601, 1965.
32. **MARCHAL, C.; THIBAUT, G.; COMBEGLAS, J.F.; BARLIER, J. and BENICHOUX, R.:-** Effects of OHP and THAM on experimental burns of rats. *Ibid.*, p. 606. National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1966.
33. **MELJNE, N.G.:-** Hyperbaric oxygen and its clinical value. P.5, Springfield, III:- Charles C. Thomas, 1970.
34. **MELINO, G.; CAMPANELLA, M.:-** Stato attuale delle conoscenze in medicina iperbarica. *Clin. Ter.* 115: 211-215, 1985.
35. **MELTZER, T.; MIEKS, B.:-** The effect of hyperbaric oxygen on the bursting strength and rate of vascularization of skin wounds in the rat. *Am. Surg.*, 1986, Dec. 52(12):659-62.

36. MENDELSON, J.A. and LINDSEY, D.:— Sulfamylon (mafenide) and penicillin as expedient treatment of experimental massive open wounds with *C. perfringens* infection. *J. Trauma*, 2:239, 1962.
37. MILLER, J.H.; MENDOZA, S.A.:— Protection against the toxic effects of Hyperbaric oxygen by intermittent exposure to reduced oxygen pressures. *Pediat. Res.* 12: 283-287, 1978.
38. MYERS, R.A.M.; BAKER, T.; COWLEY, R.A.:— Hyperbaric medicines: State of the art, 1979. *Am. Surg.*, 1982, Sep., 48(9): 487-94.
39. MYERS, R.A.M.; SCHNITZER, B.M.:— Hyperbaric oxygen use. Update 1984. *Post. Grad. Med.*, 1984, Oct., 76(5): 83-6, 89-91, 94-95.
40. NELSON, B.S.; STANSELL, G.B. and KRAMER, J.G.:— Hyperbaric oxygen in experimental burns. *Transactions of the Third International Conference on Hyperbaric Medicine*, p. 604, National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1966.
41. NICOLLE, M.W.; THORNTON, J.W.; DANET, R.T.; BARTLETT, R.H.; TAVIS, M.J.:— Hyperbaric oxygen in burn management: a controlled study. *Surgery* 82(5): 727-33, nov., 1977.
42. NORMAN, J.N.; SMITH, G.; DOUGLAS, T.A.:— The effect of oxygen at elevated atmospheric pressure and hypothermia on tissue metabolism. *Surg. Gynecol. Obstet.*, April, 1966, pp. 778-784.
43. ORDER, S.E.; MASON, A.D.Jr.; WALKER, H.L.; LINDBERG, R.B.; SWITZER, W.E.; MONCRIEF, J.A. : — Arterial vascular occlusion and devitalization of burns wounds. *Ann. Surg.*, 161-502, 1965.
44. PAI, M.P.; HUNT, T.K.:— Effect of varying oxygen tensions on healing of open wounds. *Surg. Gynecol. Obstet.* 135: 756-758, 1972.
45. PERRINS, D.J.D.:— A failed attempt to limit tissue destruction in scalds of pig skin with hyperbaric oxygen, in Wada, J., Iwa T. (eds): *Proceedings of the Fourth International Congress on Hyperbaric Medicine*. Baltimore, Williams & Wilkins Co, 1970, pp 381-387.
46. PERRINS, D.J.D.:— A failed attempt to limit tissue destruction in scalds of pig skin with hyperbaric oxygen. In *proceedings of the Fourth International Congress of Hyperbaric Medicine*. Edited by Wada J. and Iwa, T., pp. 381, Tokio, Igatu Shain. Ltda, 1970.
47. POLOK, W.J.; LARSON, D.L. and LEWIS, S.R.:— Tissue oxygen tension in pedicle flaps, local hypertrophy, and thermal burns. *Surg. Forum*, 6:471, 1965.
48. RIBEIRO, I.J.:— Oxigenioterapia hiperbárica. *Rev.Ass. Med. Brasil.* vol. 24, nº 12, Dez., 1978.
49. SHULMAN, A.G.; KROHN, H.L.:— Influence of hyperbaric oxygen and multiple skin allografts on the healing of skin wounds. *Surgery* 62:1051-8, Dec., 1987.
50. STADIE, W.C. and HAUGAARD, N.:— Oxygen poisoning-V the effect of high oxygen pressure upon enzymes; succinic dehydrogenase and cytochrome oxidase. *J. Biol. Chem.*, 1954, 161:153.
51. STADIE, W.C.; RIGGS, B.C. and HAUGAARD, N.:— Oxygen poisoning-VI, the effect of high oxygen pressure upon enzymes; pepsin, catalase, and carbonic anhydrase. *J. Biol. Chem.*, 1945, 161: 175.
52. STADIE, W.C.; RIGGS, B.C. and HAUGAARD, N.:— Oxygen poisoning. *Am. J.M.Sc.*, 1944, 207:84.
53. TABARIE, E.C.R., *Acad. Sci.*, 11:26, 1840.
54. ZAWACKI, B.E.:— The natural history of reversible burn injury. *Surg. Gynecol. Obstet.* 139: 867-872, 1974.

55. **ZAWACKI, B.E.:-** Reversal of capillary stasis and prevention of necrosis in burns. *Ann.Surg.* 180:98-102, 1974.

OUTRAS REFERÊNCIAS

56. **ACKERMAN, N.B.:-** engineering problems in design and utilization of hyperbaric oxygenation equipment. *Am.J.Surg.* 114:77-86, Jul, 67.
57. **BAILEY, N.B.; LEWIS, S.R. and BLOCKER, T.G.Jr.:-** Standardization of experimental burns in the laboratory rat. *Texas Repts Biol. Med.* 20:20-29.
58. **BANISTER, E.W.; DAVISON, A.J.; BHAKTHAN, N.M.G., and ASMUNDSON, C.:-** Biochemical effects of oxygen at high pressure in rats. *Can J. Physiol Pharmacol* 51:673-8, Sep., 1973.
59. **BOEREMA, I.:-** L'Oxigénation Hyperbaric. *Mem.Acad.Chir. (Paris)* 93:469-73, 10 May, 1967.
60. **CORREA RIBEIRO, R.:-** Hyperbaric Oxygen. *Rev. Brasil. Anest.*, 18:299-309, Jul.Sep., 1968.
61. **CURRIE, W.D.; GELEIN, R.M.Jr., and SANDERS, A.P.:-** Comparison of protective agents against hyperbaric oxygen in large animals. *Aerosp. Med.* 44:996-8, Sep. 1973.
62. **DALY, B.:-** Hyperbaric nursing. *Nurs Times* 69:203, 15 Feb., 1973.
63. **DENISON, D.M.; ERNSTING, J.; CRESSWELL, A.W.:-** Fire and hyperbaric oxygen. *Lancet.*, 2:1404-4, 24 Dec., 1966.
64. **FUSON, R.L.; SALTZMAN, H.A.; STARMER, C.F.; SMITH, W.W.:-** Nomogram for oxygen content, saturation and pressure at hyperbaric conditions. *Anesthesiology*, 27:176-9. Mar-Apr., 66.
65. **HARTWIG von J.; KIRSTE, G.:-** Experimental studies on revascularization of burns during hyperbaric oxygen therapy. *Zentralbl. Chir.* 99(35): 1112-7, 30, Aug., 1974.
66. **HENG, M.C.Y.; PILGRIM, J.P.; BEEK, F.W.J.:-** A simplified hyperbaric oxygen technique for leg ulcers. *Arch. Dermatol.*, 1984, May, 120(5): 640-5.
67. **LICHTENSTEIN, I.L.; HERZIKOFF, S.; SHORE, J.M.; JIRON, M.W.; STUART, S.; MIZUNO, L.:-** The dynamics of wound healing *Surg. Gynecol. Obstet.*, 130:685, 1970.
68. **LIEVEN, T. von.; WALTER, G.; MAILLOT, K. von:-** Disorders of acid-base balance in intermittent hyperbaric oxygenation of the rat. *Anaesthesist.*, 20:98-102, Mar., 1971.
69. **MACKENZIE, I.C.; FUSENING, N.E.:-** Regeneration of organized epithelial structure. *J. Invest. Dermatol.* 1983, Jul., 81(1 suppl.): 189s-194s.
70. **MONIGOMERY, H., and HORWITZ, O.:-** Oxygen tension of tissues by the polarographic method, I. , Introduction: oxygen tension and blood flow of the skin of human extremities. *J. Clin. Invest.*, 29: 1120-30, 1950.
71. **MYERS, R.A.M.; BAKER, R.; COWLEY, R.A.:-** 14 years of experience with hyperbaric oxygen therapy at MIEMSS, M.D. State Med. J., 1981, May 30(5): 85-8.
72. **NILNIKOSKI JUHA:-** Viability of ischemic skin in hyperbaric oxygen. *Acta Chir. Scand* 136:567-568, 1970.
73. **ORDER, S.E.; MASON, A.D.JR.; WALKER, H.A.; LIND. BERG, R.B.; SWITZER, W.E.; MONCRIEF, J.A.:-** Vascular destructive effects of thermal injury and its relationship to burn wound sepsis. *J.Trauma*, 1965, 5:62.

74. **PEIRUM, N.M.:-** Wrotch Delo, 11:101, 1962.
75. **RAVINA, A.; MINUCHIN, O.; KHERMAN, H.:-** A simple, disposable, hyperbaric oxygen device for the treatment of wounds. *Isr J. Med. Sci.*, 1983, Sep., 19(9): 845-7.
76. **ROSS, M.C.:-** Healing under pressure. *Am. J. Nurs.*, 1986, Oct. 86(10): 1118-20.
77. **SPINADEL, V.L.; VYMOLA, F.:-** Influence of hyperbaric oxygenation and antibiotics on burns in animal experiments. *Zbl. Chir.* 94:296-9, 1969.
78. **TALTON, I.H.; THOMPSON, L.W.; FERRARI, H.A.:-** Investigation of changes in bloods gases, EEG an vigilance behavior during increases oxygen pressure in old and young community volunteers. *Anaesthesist* 19:241-4, Jul., 1970.
79. **TAN, C.M.; MICHAEL, J.I.; MYERS, R.A.M.; HOOPES, J.E.:-** Effects of hyperbaric oxygen and hyperbaric air on the survival of island skin flaps. *Plast. Reconst. Surg.*, 1984, Jan., 73(1): 27-30.
80. **TORELLI, M.:-** Topical hyperbaric oxygen for decubitus ulcers. *Am. J. Nurs.* 73:494-6, Mar.
81. **TRAPP, W.C.:-** Hazards of hyperbaric chambers. *Canad. Med. Ass. J.*, 97:227-8, 29 Jul., 1967.
82. **UNSWORTH, I.P.:-** Charlatanism and hyperbaric oxygen. *Med. J. Aust.*, 1983, Oct., 29:2(9): 418-9.