

## **Avaliação do nível glicêmico em retalho miocutâneo do reto abdominal monopediculado após oclusão venosa: estudo experimental em ratos.**

### **Glucose level evaluation in monopedicled *rectus abdominis* myocutaneous flap after venous occlusion: experimental study in rats.**

Gustavo Levacov Berlim<sup>1</sup>; Antônio Carlos Pinto Oliveira<sup>2</sup>; Ciro Paz Portinho<sup>2</sup>; Emerson Morello<sup>3</sup>; Carolina Barbi Linhares<sup>1</sup>; Marcus Vinicius Martins Collares<sup>1</sup>.

1. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Faculdade de Medicina, Porto Alegre, RS, Brasil.
2. Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Serviço de Cirurgia Plástica, Porto Alegre, RS, Brasil.
3. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Programa de Pós-Graduação em Ciências Cirúrgicas, Faculdade de Medicina, Porto Alegre, RS, Brasil.

## **RESUMO**

**Objetivo:** validar um modelo experimental para mensuração de níveis glicêmicos em retalhos cirúrgicos com a utilização de glicosímetros comuns, e analisar os critérios diagnósticos para hipoperfusão destes retalhos. **Métodos:** foram realizados retalhos miocutâneos verticais de reto abdominal com pedículos superiores, bilateralmente, em 20 ratos Wistar machos, divididos em dois grupos: com e sem oclusão venosa do pedículo. Os níveis de glicose foram mensurados nos retalhos e na circulação sistêmica com glicosímetros comuns. A acurácia de critérios diagnósticos alternativos foi testada para a detecção de hipoperfusão. **Resultados:** a partir de 15 minutos de oclusão venosa, houve uma redução significativa dos níveis de glicose medidos no retalho congestionado ( $p < 0,001$ ). Utilizando como critério diagnóstico uma diferença mínima de 20mg/dl nos níveis glicêmicos do retalho e do sangue sistêmico, 30 minutos após a oclusão, a sensibilidade foi de 100% (intervalo de confiança de 95% - 83,99 a 100%) e especificidade de 90% (intervalo de confiança de 95% - 69,90 a 97,21%) para o diagnóstico de congestão do retalho. **Conclusão:** os resultados demonstraram que é possível medir níveis de glicose

em retalhos miocutâneos verticais de reto abdominal de ratos Wistar, perfundidos ou congestos, utilizando um glicosímetro comum. Os critérios diagnósticos que comparam os níveis de glicose nos retalhos com os níveis sistêmicos foram mais precisos na avaliação da perfusão tecidual.

**Descritores:** Modelos Animais. Perfusão. Retalhos Cirúrgicos. Glucose. Diagnóstico.

## INTRODUÇÃO

Uma das complicações mais comuns de cirurgias com retalhos é a oclusão dos vasos do pedículo com subsequente necrose do retalho, o que ocorre em 3% a 7% dos casos, mesmo com técnicas cirúrgicas avançadas<sup>1-8</sup>. Portanto, o monitoramento da perfusão é essencial, visto que a reoperação precoce é a melhor opção para recuperar um retalho com baixa perfusão, cujo diagnóstico geralmente é realizado através da avaliação clínica do retalho por um membro da equipe cirúrgica<sup>2,4-8</sup>. Muitos métodos foram testados com o intuito de se obter o diagnóstico precoce de hipoperfusão, capazes também de permitir uma avaliação objetiva por outros profissionais não especialistas. Entre essas avaliações estão medição de temperatura, dopplerfluxometria, oximetria transcutânea e níveis teciduais de glicose e metabólitos<sup>6,7,9-16</sup>. Estes últimos são altamente eficientes na avaliação da perfusão de retalhos, embora alguns métodos de medição tenham alto custo e requeiram a utilização de equipamentos especiais<sup>14,15,17-20</sup>. O glicosímetro comum, que utiliza uma gota de sangue, é um método de baixo custo para a medição da glicose e encontra-se facilmente disponível na maioria das unidades hospitalares. Trata-se de um método fácil, rápido, objetivo e de baixo custo para medir os níveis glicêmicos.

Embora os níveis glicêmicos sejam uma forma amplamente aceita de monitorar retalhos, não há consenso quanto aos níveis adequados para o diagnóstico de hipoperfusão. Sitzman *et al.*<sup>19</sup> observaram que a taxa de redução dos níveis glicêmicos é mais precisa no diagnóstico de hipoperfusão do que a medida isolada da glicose.

O objetivo deste estudo é validar um modelo experimental que usa um glicosímetro comum para medir a glicose em retalhos miocutâneos verticais de reto abdominal (vertical rectus abdominis myocutaneous, VRAM) em ratos Wistar. Também foi testada a acurácia de critérios diagnósticos que comparam os níveis de glicose nos retalhos com os níveis sistêmicos.

## MÉTODOS

Estudo experimental, comparativo e controlado, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sob o número 130448.

O tamanho da amostra foi calculado com base nos resultados de estudo anterior realizado por Sitzman *et al.*<sup>19</sup>. Considerando um nível de significância de 5% e poder de 80% para detectar uma diferença de 150mg/dl de glicose entre os grupos, com o mesmo desvio padrão obtido 15 minutos após a intervenção no estudo citado anteriormente, o tamanho da amostra foi estimado em 16 ratos (32 retalhos). A fim de evitar eventuais perdas e comprometimento da análise estatística, decidimos incluir mais quatro animais. Selecionamos, assim, 20 ratos Wistar machos com quatro meses de idade e peso entre 400 e 500 g, divididos em dois grupos: grupo intervenção (n=20), com ligadura da veia epigástrica superior do retalho, e grupo controle (n=20), sem ligadura da veia epigástrica superior.

Os animais receberam hidrocloreto de tramadol (5mg/kg) por via intraperitoneal e foram submetidos à anestesia geral inalatória com isoflurano vaporizado em oxigênio a 100%. As doses especificadas no protocolo da instituição são de 100ml/min para indução e 30ml/min para manutenção da anestesia. Os ratos foram colocados em decúbito dorsal sobre placas térmicas e realizada tricotomia abdominal. Foram dissecados retalhos VRAM bilaterais, conforme descrito anteriormente<sup>21-24</sup>. Os retalhos foram pediculados exclusivamente pelos vasos epigástricos superiores, que são o pedículo dominante do músculo reto abdominal em ratos<sup>22,23</sup>. A cavidade abdominal foi protegida com um campo plástico para reduzir a perda de calor e ressecamento das vísceras. Foi realizada dissecação do pedículo contendo os vasos epigástricos superiores com instrumentos microcirúrgicos e sob magnificação (5x). O lado em que foi realizada a ligadura e divisão da veia epigástrica foi escolhido com base em uma sequência aleatória previamente definida. Essa sequência foi gerada no site [www.sealedenvelope.com](http://www.sealedenvelope.com). O pedículo vascular do retalho controle foi dissecado e mantido íntegro (Figura 1).

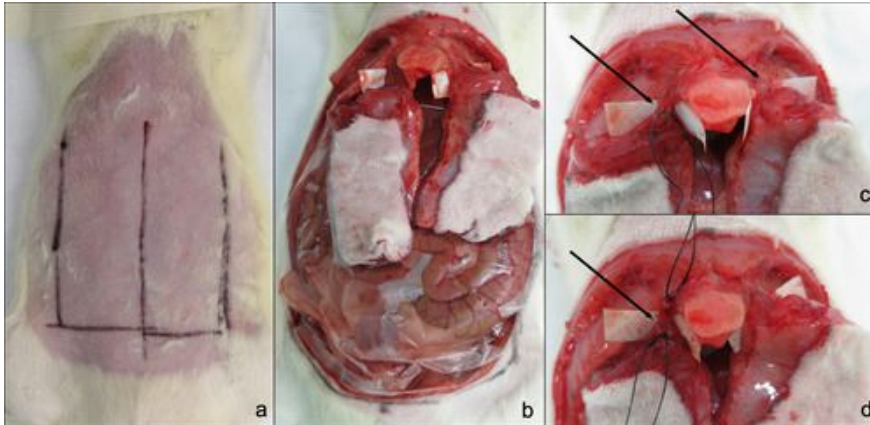


Figura 1. a) Retalhos demarcados; b) Retalhos dissecados; c) Veia epigástrica superior dissecada; d) Veia epigástrica superior ligada e seccionada.

A glicose intersticial foi aferida nos retalhos a cada 15 minutos, desde o tempo zero (antes da ligadura e divisão da veia epigástrica superior) até 60 minutos, através da punção de veia localizada na face posterior do retalho. A glicemia também foi medida nos mesmos intervalos de tempo em veia da cauda de todos os ratos (controle sistêmico, n=20). Os níveis de glicose foram medidos com o glicosímetro *MediSense Optimum*.

A eutanásia foi realizada ao final do experimento com overdose anestésica de isoflurano, capaz induzir parada cardíaca, seguida por exanguinação. Todas as regulamentações de biossegurança foram seguidas, assim como os aspectos éticos relevantes para a pesquisa em animais.

A análise estatística foi realizada através de um modelo de equações de estimativas generalizadas<sup>25</sup>, comparando tempos de medição e grupos (retalho congesto, retalho controle e controle sistêmico) e a interação entre tempos de medição e grupos. Os níveis glicêmicos foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Para análise diagnóstica, foi utilizada a curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC) para determinar pontos de corte. Para estes pontos, foram calculados valores de sensibilidade e especificidade, assim como seus intervalos de confiança de 95% (IC 95%). Valores de p menores que 5% foram considerados significativos. Os cálculos foram realizados utilizando o *SPSS v.22* e o *WinPEPI v.11.39*.

## RESULTADOS

A glicose sistêmica permaneceu estável durante o experimento em todos os animais. Os níveis glicêmicos caíram rapidamente após a oclusão venosa no grupo intervenção e permaneceram estáveis no grupo controle. A partir dos 15 minutos após a oclusão venosa, os níveis glicêmicos dos retalhos do grupo intervenção foram

significativamente menores que os dos retalhos do grupo controle e do sangue sistêmico (Figura 2).

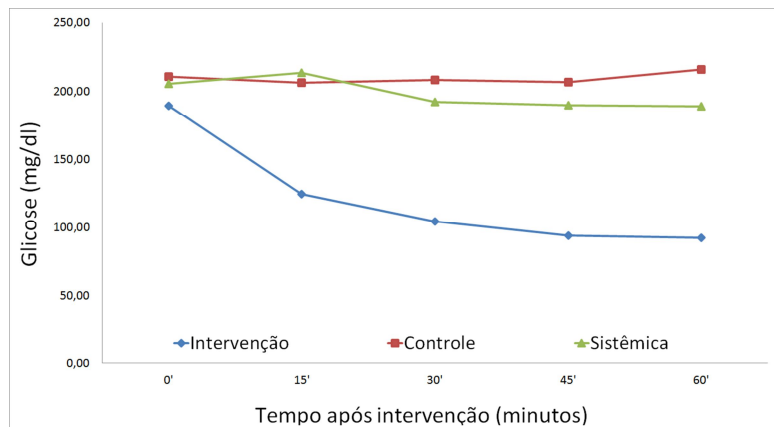


Figura 2. Média dos níveis de glicose.

Foi realizada uma análise intragrupo para comparar os níveis glicêmicos antes da oclusão venosa (tempo zero) aos dos tempos de medição posteriores. Foram encontradas diferenças significativas apenas no grupo intervenção.

Para a avaliação dos critérios diagnósticos de congestão, foram utilizados os valores glicêmicos de 30 minutos após a oclusão venosa, porque nesse momento os níveis começaram a se estabilizar nos retalhos submetidos à intervenção. Foram calculadas três curvas ROC: níveis glicêmicos, diferença entre os níveis de glicose nos retalhos e sistêmicos (valor medido no retalho menos aquele medido na cauda) e relação entre os níveis de glicose nos retalhos e sistêmicos (valor medido no retalho dividido pelo valor medido na cauda). As áreas sob a curva foram, respectivamente, 0,925, 0,975 e 0,980 (Figura 3).

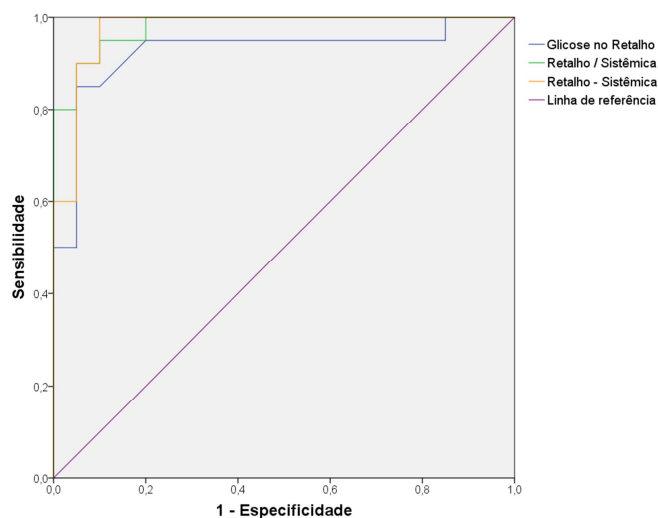


Figura 3. Curva ROC.

A partir das curvas ROC foram determinados os pontos de corte. Utilizando os níveis glicêmicos no retalho como teste diagnóstico, com um valor de corte de 153mg/dl, a sensibilidade foi de 90% (IC 95%, 69,90% a 97,21%) e especificidade de 85% (IC 95%, 63,96% a 94,76%). Utilizando a diferença entre os níveis de glicose no retalho e sistêmicos, com um valor de corte de 20mg/dl, a sensibilidade foi de 100% (IC 95%, 83,89% a 100,00%) e a especificidade de 90% (IC 95%, 69,90% a 97,21%). Utilizando a relação entre os níveis de glicose no retalho e sistêmicos, com um valor de corte de 0,8773, a sensibilidade foi de 95% (IC 95%, 76,39% a 99,11%) e a especificidade foi de 90% (IC 95%, 69,90% a 97,21%).

## DISCUSSÃO

A medição dos níveis glicêmicos em retalhos VRAM de ratos Wistar foi possível utilizando um glicosímetro comum, assim como a detecção da queda nos níveis glicêmicos nos retalhos congestos. Os resultados foram comparáveis aos obtidos por Sitzman *et al.*<sup>19</sup> com um medidor de glicose implantável. Contudo, glicosímetros encontram-se facilmente disponíveis em todas as unidades hospitalares. Durante o estudo, observou-se que houve pouco sangramento, ou mesmo nenhum, nas lesões cutâneas. Para obter uma gota de sangue para a medição do nível de glicose no retalho, foi realizado ferimento punctório em uma veia na face interna do retalho.

Os resultados obtidos neste estudo são comparáveis aos observados em estudos anteriores que mediram os níveis glicêmicos dos retalhos utilizando medidores de glicose implantáveis<sup>19</sup> ou microdiálise<sup>14,15,17,18,20</sup>. Não foram identificados estudos experimentais prévios com aferição da glicose por glicosímetros, sendo este aspecto inédito neste trabalho. Isto valida o presente modelo experimental como uma alternativa àqueles que utilizaram medidores implantáveis<sup>14</sup>.

Na maioria dos estudos clínicos, os valores glicêmicos no retalho são utilizados isoladamente para seu monitoramento. Neste estudo, critérios que utilizaram níveis comparativos de glicose foram mais precisos que o uso isolado dos níveis glicêmicos no diagnóstico da congestão do retalho. Esta maior precisão pode ser observada pelos valores de sensibilidade e especificidade e pela curva ROC, na qual os critérios comparativos apresentaram uma maior área sob a curva.

Em uma série de 33 retalhos, Hara *et al.*<sup>26</sup> utilizaram glicosímetros para monitorar os níveis pós-operatórios de glicose. Foi estipulado um valor de corte de 62mg/dl para o diagnóstico de obstrução vascular no pedículo, resultando em uma sensibilidade de 88% e uma especificidade de 82%. Utilizando o mesmo valor de corte, Bashir *et al.*<sup>27</sup> obtiveram

uma sensibilidade de 90% e uma especificidade de 78%, em um estudo prospectivo com 127 retalhos. Em um estudo multicêntrico francês, Henault *et al.*<sup>28</sup> avaliaram retalhos livres em 37 pacientes. Foram mensurados os níveis teciduais de glicose e lactato e hipoperfusão foi diagnosticada utilizando os valores de corte de 69,37mg/dl para glicose e 57,66mg/dl para lactato. Com base nesses critérios, foi obtida uma sensibilidade de 98,5% e uma especificidade de 99,5%, e a hipoperfusão foi diagnosticada, aproximadamente, 5,4 horas antes do diagnóstico com base na avaliação clínica.

Akita *et al.*<sup>29</sup> realizaram um estudo em que compararam oximetria tecidual e níveis teciduais de glicose em retalhos. Para ambas as avaliações foram utilizados índices que compararam os valores obtidos nos retalhos com os obtidos em outro local não operado do corpo. Nesse estudo, ambas as avaliações foram eficientes, porém a oximetria tecidual proporcionou um diagnóstico mais precoce.

A principal limitação quanto ao uso de glicosímetros é o fato de não funcionarem em retalhos isquêmicos. O retalho isquêmico recebe menos sangue e, portanto, não sangrará. Como resultado, a ferida punctória da agulha no retalho não produzirá a gota de sangue necessária para medir os níveis glicêmicos. Se uma gota de sangue for produzida no retalho isquêmico, ela é proveniente do fluxo retrógrado de sangue venoso, que não refletirá os níveis glicêmicos no retalho<sup>15,19,20</sup>.

Poderia também ser considerada uma limitação do estudo o não acompanhamento dos animais por um período mais prolongado para verificar o desfecho clínico nos retalhos estudados. Entretanto, como os retalhos estavam pediculados exclusivamente pelos vasos epigástricos superiores, é razoável supor que todos os retalhos do grupo intervenção sofreriam necrose completa.

Concluimos que os níveis teciduais de glicose de retalhos VRAM perfundidos e congestos em ratos Wistar podem ser adequadamente mensurados com um glicosímetro comum. A comparação dos níveis de glicose do retalho com os sistêmicos parece ser mais acurada no diagnóstico de congestão que os níveis do retalho isolados.

## **ABSTRACT**

**Objective:** to validate an experimental model for the measurement of glycemic levels in surgical flaps with the use of common glucometers, and to analyze the diagnostic criteria for hypoperfusion of such flaps. **Methods:** we performed vertical myocutaneous abdominal rectal flaps with upper pedicles bilaterally in 20 male Wistar rats, divided into two groups: with and without venous occlusion of the pedicle. We measured glucose levels in the flaps and in the systemic circulation with standard glucometers. We tested the accuracy of

alternative diagnostic criteria for the detection of hypoperfusion. **Results:** from 15 minutes of venous occlusion on, there was a significant reduction in glucose levels measured in the congested flap ( $p < 0.001$ ). Using a minimum difference of 20mg/dl in the glycemic levels between the flap and systemic blood, 30 minutes after occlusion, as a diagnostic criterion, the sensitivity was 100% (95% CI 83.99-100%) and specificity of 90% (95% CI 69.90-97.21%) for the diagnosis of flap congestion. **Conclusion:** It is possible to measure glucose levels in vertical myocutaneous abdominal rectal flaps of Wistar rats, perfused or congested, using a common glucometer. The diagnostic criteria that compare the glucose levels in the flaps with the systemic ones were more accurate in the evaluation of tissue perfusion.

**Keywords:** Models, Animal. Glucose. Perfusion. Surgical Flaps. Diagnosis.

## REFERÊNCIAS

1. Glicksman A, Ferder M, Casale P, Posner J, Kim R, Strauch B. 1457 years of microsurgical experience. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100(2):355-63.
2. Bui DT, Cordeiro PG, Hu QY, Disa JJ, Pusic A, Mehrara BJ. Free flap reexploration: indications, treatment, and outcomes in 1193 free flaps. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119(7):2092-100.
3. Gill PS, Hunt JP, Guerra AB, Dellacroce FJ, Sullivan SK, Boraski J, et al. A 10-year retrospective review of 758 DIEP flaps for breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2004;113(4):1153-60.
4. Kroll SS, Schusterman MA, Reece GP, Miller MJ, Evans GR, Robb GL, et al. Timing of pedicle thrombosis and flap loss after free-tissue transfer. *Plast Reconstr Surg.* 1996;98(7):1230-3.
5. Brown JS, Devine JC, Magennis P, Sillifant P, Rogers SN, Vaughan ED. Factors that influence the outcome of salvage in free tissue transfer. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2003;41(1):16-20.
6. Jallali N, Ridha H, Butler PE. Postoperative monitoring of free flaps in UK plastic surgery units. *Microsurgery.* 2005;25(6):469-72.
7. Disa JJ, Cordeiro PG, Hidalgo DA. Efficacy of conventional monitoring techniques in free tissue transfer: an 11-year experience in 750 consecutive cases. *Plast Reconstr Surg.* 1999;104(1):97-101.
8. Chubb D, Rozen WM, Whitaker IS, Acosta R, Grinsell D, Ashton MW. The efficacy of clinical assessment in the postoperative monitoring of free flaps: a review of 1140 consecutive cases. *Plast Reconstr Surg.* 2010;125(4):1157-66.



9. Kraemer R, Lorenzen J, Knobloch K, Papst S, Kabbani M, Koennecker S, et al. Free flap microcirculatory monitoring correlates to free flap temperature assessment. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2011;64(10):1353-8.
10. Kind GM, Buntic RF, Buncke GM, Cooper TM, Siko PP, Buncke HJ Jr. The effect of an implantable Doppler probe on the salvage of microvascular tissue transplants. *Plast Reconstr Surg.* 1998;101(5):1268-73; discussion 1274-5.
11. Gimbel ML, Rollins MD, Fukaya E, Hopf HW. Monitoring partial and full venous outflow compromise in a rabbit skin flap model. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124(3):796-803.
12. Keller A. A new diagnostic algorithm for early prediction of vascular compromise in 208 microsurgical flaps using tissue oxygen saturation measurements. *Ann Plast Surg.* 2009;62(5):538-43.
13. Russell JA, Conforti ML, Connor NP, Hartig GK. Cutaneous tissue flap viability following partial venous obstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(7):2259-66; discussion 2267-8.
14. Contaldo C, Plock J, Djonov V, Leunig M, Banic A, Erni D. The influence of trauma and ischemia on carbohydrate metabolites monitored in hamster flap tissue. *Anesth Analg.* 2005;100(3):817-22.
15. Setälä LP, Korvenoja EM, Härmä MA, Alhava EM, Uusaro AV, Tenhunen JJ. Glucose, lactate, and pyruvate response in an experimental model of microvascular flap ischemia and reperfusion: a microdialysis study. *Microsurgery.* 2004;24(3):223-31.
16. Jyränki J, Suominen S, Vuola J, Bäck L. Microdialysis in clinical practice: monitoring intraoral free flaps. *Ann Plast Surg.* 2006;56(4):387-93.
17. Röjdmarm J, Ungerstedt J, Blomqvist L, Ungerstedt U, Hedén P. Comparing metabolism during ischemia and reperfusion in free flaps of different tissue composition. *Eur J Plast Surg.* 2002;24(7):349-55.
18. Röjdmarm J, Hedén P, Ungerstedt U. Microdialysis - a new technique for free flap surveillance: methodological description. *Eur J Plast Surg.* 1998;21(7):344-8.
19. Sitzman TJ, Hanson SE, King TW, Gutowski KA. Detection of flap venous and arterial occlusion using interstitial glucose monitoring in a rodent model. *Plast Reconstr Surg.* 2010;126(1):71-9.
20. Röjdmarm J, Hedén P, Ungerstedt U. Comparison of flap ischemia induced by arterial or venous occlusion in pigs with the aid of microdialysis. *Eur J Plast Surg.* 2000;23(5):278-82.
21. Dunn RM, Mancoll J. Flap models in the rat: a review and reappraisal. *Plast Reconstr Surg.* 1992;90(2):319-28.

22. Ozgentas HE, Shenaq S, Spira M. Development of a TRAM flap model in the rat and study of vascular dominance. *Plast Reconstr Surg.* 1994;94(7):1012-7; 1025-6 discussion.
23. Hallock GG, Rice DC. Physiologic superiority of the anatomic dominant pedicle of the TRAM flap in a rat model. *Plast Reconstr Surg.* 1995;96(1):111-8.
24. Dunn RM, Huff W, Mancoll J. The rat rectus abdominis myocutaneous flap: a true myocutaneous flap model. *Ann Plast Surg.* 1993;31(4):352-7.
25. Guimarães LS, Hirakata VN. Uso do Modelo de Equações de Estimativas Generalizadas na análise de dados longitudinais. *Rev HCPA.* 2012;32(4):503-11.
26. Hara H, Mihara M, Iida T, Narushima M, Todokoro T, Yamamoto T, et al. Blood glucose measurement for flap monitoring to salvage flaps from venous thrombosis. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2012;65(5):616-9.
27. Bashir MM, Tayyab Z, Afzal S, Khan FA. Diagnostic accuracy of blood glucose measurements in detecting venous compromise in flaps. *J Craniofac Surg.* 2015;26(5):1492-4.
28. Henault B, Pluvy I, Pauchot J, Sinna R, Labruère-Chazal C, Zwetyenga N. Capillary measurement of lactate and glucose for free flap monitoring. *Ann Chir Plast Esthet.* 2014;59(1):15-21.
29. Akita S, Mitsukawa N, Tokumoto H, Kubota Y, Kuriyama M, Sasahara Y, et al. Regional Oxygen Saturation Index: a novel criterion for free flap assessment using tissue oximetry. *Plast Reconstr Surg.* 2016;138(3):510e-8e.

Recebido em: 03/08/2017

Aceito para publicação em: 17/09/2017

Conflito de interesse: nenhum.

Fonte de financiamento: Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (número: 130448).

**Endereço para correspondência:**

Gustavo Levacov Berlim

E-mail: [gustavoberlim@gmail.com](mailto:gustavoberlim@gmail.com) / [formato@scientific.com.br](mailto:formato@scientific.com.br)