

Efeitos do sildenafil pela via intraperitoneal na viabilidade de retalhos cutâneos de ratos

Effects of intraperitoneal application of sildenafil on the viability of mice's skin flap

Sumara Marques Barral¹, Ivana Duval Araujo², Paula Vieira Teixeira Vidigal³, Cláudio Alvarenga Campos Mayrink⁴, Felipe Guimarães e Garcia de Carvalho⁴, Gisele Novais Matias⁴, Henrique Rodrigues Amado Leite⁴, Adriana Duval Araujo⁵

RESUMO

Introdução: o sildenafil pertence a uma classe relativamente nova de medicamentos, cujo mecanismo de ação ocorre por inibição da fosfodiesterase-5, que é responsável pela degradação intracelular da guanosina monofosfato cíclica (GMPc). A GMPc promove vasodilatação, alteração no perfil de granulação plaquetária e angiogênese. Nesse contexto, seus efeitos vasoativos podem aumentar o fluxo sanguíneo de retalhos, melhorando a sua viabilidade. Este estudo tem como objetivo avaliar a viabilidade de retalhos cutâneos de ratos à McFarlane após a administração de sildenafil pela via intraperitoneal. **Métodos:** 20 ratos Wistar foram distribuídos em dois grupos - controle (confeção do retalho cutâneo dorsal, aplicação intraperitoneal de solução salina a 0,9%) e estudo (confeção do retalho cutâneo dorsal, aplicação intraperitoneal de sildenafil). Sete dias após a operação, os retalhos foram fotografados e representados graficamente, para serem analisados com o programa AutoCad. Três biópsias (cranial, média e caudal) foram coletadas de cada retalho, para análise histológica. **Resultados:** à análise macroscópica, o uso do sildenafil pela via intraperitoneal esteve associado à maior contração tecidual ($p=0,019$). O estudo histológico evidenciou menos granulação associada a polimorfonucleares no terço distal dos retalhos ($p=0,001$) e mais necrose interpondo os locais de granulação no terço médio dos retalhos ($p=0,011$). **Conclusão:** o sildenafil intraperitoneal não se mostrou eficaz para melhorar a viabilidade de retalhos à McFarlane em ratos. Outros estudos talvez possam esclarecer o seu mecanismo de ação para a contração tecidual.

Palavras-chave: Cicatrização de Feridas; Retalhos Cirúrgicos; Ácido 5'-Guanfílico; Óxido Nítrico; Ratos.

ABSTRACT

Introduction: Sildenafil belong to a relatively new class of drugs. Its mechanism of action consists of inhibiting phosphodiesterase-5, which is responsible for the intracellular degradation of cyclic monophosphate guanosine (CMPG). CMPG leads to vasodilation, platelet granulation change, and angiogenesis. CMPG vasoactive effects can increase the blood flows of the flaps, improving their viability. This study aims to assess the viability of McFarland skin flaps after intraperitoneal sildenafil administration. **Methods:** In total, 20 Wistar mice were distributed in two groups: control (production of dorsal skin flap, intraperitoneal application of 0.9 % salt solution), and study (production of dorsal skin flap with intraperitoneal application of sildenafil). Skin flaps were photographed seven days after operation and represented graphically with a view to AutoCad-based analysis. Three biopsies (cranial, middle, and caudal) were collected for histological analysis of each flap. **Results:** The macroscopic analysis showed that intraperitoneal application of sildenafil was associated with stronger tissue contraction ($p=0.019$). The

¹ Cirurgiã Plástica. Professora auxiliar de ensino do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, MG – Brasil.

² Cirurgiã Geral. Professora Adjunta do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG. Subcoordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia. Belo Horizonte, MG – Brasil.

³ Médica Patologista. Chefe do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da UFMG. Belo Horizonte, MG – Brasil.

⁴ Acadêmicos do Curso de Medicina da Faculdade de Medicina da UFMG. Belo Horizonte, MG – Brasil.

⁵ Arquiteta. Cia Urbanizadora e de Habitação de Belo Horizonte – URBEL. Belo Horizonte, MG – Brasil.

Recebido em: 20/02/2012

Aprovado em: 22/04/2012

Instituição

Departamento de Cirurgia, Laboratório de Experimentação Animal, Faculdade de Medicina da UFMG
Belo Horizonte, MG – Brasil

Endereço para correspondência:

Sumara Marques Barral.
Rua Santa Rita Durão, 321/308
Bairro: Funcionários
Belo Horizonte, MG – Brasil
CEP: 30 140-110
E-mail: sumara@terra.com.br

histological study showed less granulation associated with polymorphonuclears in the distal third of the flaps ($p=0.001$) and more necrosis in granulation sites in the middle third of the flaps ($p=0.011$). Conclusion: The intraperitoneal application of sildenafil was not effective in improving the viability of McFarlane skin flaps in mice. Other studies may shed light into its mechanism of action for tissue contraction.

Key words: Cicatrization; Surgical flaps; 5'-Guanylic Acid; Nitric Oxide; Mice.

INTRODUÇÃO

A confecção de retalhos para o tratamento de perdas teciduais constitui um dos procedimentos cirúrgicos de maior relevância na história da cirurgia plástica, com referências nas descrições de Sushruta, nos estudos de Celsus durante o Classicismo greco-romano e no legado deixado por Gaspare Tagliacozzi¹. A partir daí, o estabelecimento de novas estratégias para garantir mais viabilidade de retalhos impulsiona pesquisas que objetivam não somente a redução dos efeitos deletérios, mas a amplificação dos mediadores que atuam positivamente na cicatrização de feridas.

Alguns recursos terapêuticos auxiliares foram propostos na tentativa de melhorar a sobrevida dos retalhos, tais como a autonomização²⁻⁴, o uso intramuscular de quetoralato⁵, de corticoesteroides e de carnitina⁶, da oxigenoterapia hiperbárica⁷, da pentoxifilina⁸, do buflomedil⁹ e até mesmo do sildenafil isoladamente ou associado ao fator de crescimento vascular do endotélio ou à cola de fibrina¹⁰⁻¹⁵. Contudo, a resposta a esses tratamentos pode estar associada a efeitos colaterais, entre os quais se destacam hipotensão, amnésia, angina, distúrbios visuais, migrânea, alterações auditivas e até mesmo acidentes vasculares.

Inibidores da fosfodiesterase, como o sildenafil, pertencem a classe relativamente nova de medicamentos, cujas aplicações clínicas ainda não foram completamente exploradas pela literatura. Em linhas gerais, o sildenafil é um composto aromático solúvel em água. Seu mecanismo de ação ocorre pela inibição da fosfodiesterase tipo 5, estimulando a vasodilatação mediada pela via óxido nítrico (NO)/guanil-ciclase (GC)/ guanosina monofostato cíclico (GMPc). O óxido nítrico induz vasodilatação, inibe a agregação plaquetária e promove angiogênese.¹⁵

De fato, os efeitos vasoativos do sildenafil podem aumentar o fluxo sanguíneo de retalhos, melhorando a sua sobrevida. Ademais, uma vez que as plaquetas apresentam receptores para a fosfodiesterase

tipo 5, esse medicamento poderia atuar sobre o seu perfil de ativação, acelerando a cicatrização. Nesse contexto, é correto supor que o sildenafil pode ser utilizado com o intuito de melhorar a sobrevida de retalhos cutâneos.

Este estudo tem como objetivo avaliar a viabilidade de retalhos cutâneos de ratos à McFarlane após a administração de sildenafil pela via intraperitoneal.¹⁶

MÉTODO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), consoante a Declaração de Helsinkí revisada em 2000. Foram utilizadas 20 ratas Wistar adultas, pesando entre 215 e 255 g, fornecidas pelo Biotério do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Todos os animais passaram por período de observação de 15 dias, sob temperatura, umidade e ciclo de luz ambiente controlados.

Os animais foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos: controle (confecção do retalho cutâneo dorsal, aplicação intraperitoneal de solução salina a 0,9%) e estudo (confecção do retalho cutâneo dorsal, aplicação intraperitoneal de sildenafil).

Após terem sido submetidos à anestesia com a associação de quetamina e de xilazina, pela via intraperitoneal, confeccionaram-se retalhos cutâneos dorsais retangulares de 3 por 7 cm (21 cm²), com base tangencial aos ângulos inferiores das escápulas e cujo ponto médio coincidia com uma linha interescapular equidistante do rebordo ósseo, tomando como referência um molde confeccionado com filme de acetato (Figura 1). O retalho foi dissecado do pânículo carnoso e reposicionado no leito com sutura contínua com náilon monofilamentar 4.0 (Figura 2). O procedimento foi realizado utilizando-se técnica asséptica, com imersão do instrumental em glutaraldeído durante 30 minutos.

Os animais do grupo-estudo receberam sildenafil em solução aquosa administrado por via intraperitoneal (dose de 0,5 mg/kg) uma vez ao dia. A primeira dose foi administrada imediatamente ao término da operação e a segunda, 48 horas depois. A solução salina a 0,9% foi administrada nos animais do grupo-controle por via intraperitoneal, no volume de 5 mL/kg, uma vez ao dia, seguindo o mesmo intervalo entre doses que o grupo-estudo.



Figura 1 - Fotografia do animal em decúbito ventral, com as patas em extensão. Observar a marcação do retalho dorsal, baseado cefalicamente, tomando-se como referência o ponto médio entre os ângulos inferiores das escápulas.



Figura 2 - Fotografia do retalho dorsal dissecado do seu leito, no plano do panículo carnoso. Animal em decúbito ventral com as patas dianteiras estendidas.

No sétimo dia de observação, os animais foram mortos com sobredose anestésica de pentobarbital sódico na dose de 150 mg/kg, administrado pela via intraperitoneal.

Os retalhos foram representados graficamente, utilizando-se lâminas de acetato transparentes e caneta marcadora permanente. Os desenhos foram feitos por avaliador que desconhecia a que grupo pertencia cada animal. Os critérios para a classificação foram baseados na inspeção e na palpação. Os retalhos foram delimitados de acordo com as suas características em:

1. região de necrose: identificada com o sinal "+". Caracterizada por coloração que variou entre tons de marrom e preto e por consistência cadavérica à palpação.

2. região de isquemia: identificada com o sinal "-", que apresentava cor violácea e com maleabilidade palpatória.
3. região de viabilidade tecidual: identificada com o sinal "Ø", com coloração e textura habituais de pele murina.

As figuras foram colocadas sobre papel milimetrado e digitalizadas com a resolução de 600 ppi. O documento digital foi trabalhado no programa AutoCAD Release (versão 13.1, 1995) de maneira a se plotar os perímetros de cada região do retalho (necrose, isquemia e viabilidade tecidual) com cores diferentes e, a partir daí, calcular-se as respectivas áreas, com até quatro casas decimais de aproximação. Foram calculados os valores das áreas de necrose, de isquemia e de pele viável. Os valores absolutos das áreas referem-se àqueles calculados em centímetros quadrados com o programa AutoCAD. Os valores percentuais significam a porcentagem que cada um das áreas de necrose, de isquemia e de viabilidade tecidual representam em relação ao tamanho final do retalho (Figura 3).

Essa etapa do estudo foi conduzida por pesquisador que desconhecia a que grupo pertenciam as representações gráficas dos retalhos cutâneos.

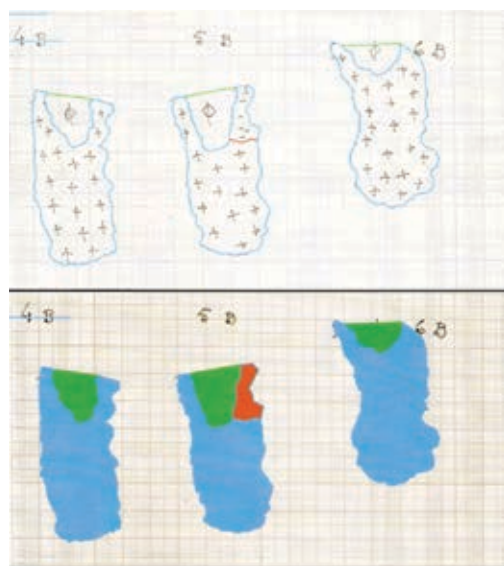


Figura 3 - (I): Imagem digitalizada das lâminas de acetato transparentes, representando com o sinal "+" as regiões de necrose, com sinal "-" a região de isquemia e com o sinal "Ø" as regiões de viabilidade tecidual. (II): Imagem reproduzida do programa AutoCAD Release, na qual as áreas de cada retalho foram preenchidas por cores diferentes para representar as regiões de necrose (em azul), isquemia (em vermelho) e viabilidade tecidual (em verde).

A coleta das amostras de pele foi realizada no sétimo dia pós-operatório. Foram traçadas linhas imaginárias dividindo-se o retalho simetricamente em três partes no sentido crânio-caudal e em metade direita e esquerda. Na extremidade caudal de cada uma das regiões delimitadas foi coletada uma amostra de 0,5 cm X 0,5 cm, margeando a borda medial da metade direita do retalho (Figura 4).

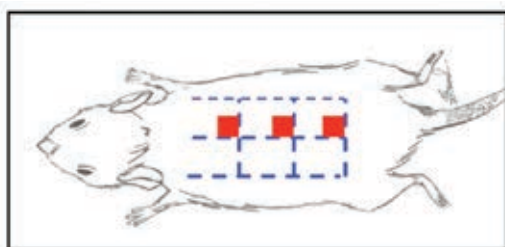


Figura 4 - Esquema gráfico representado o retalho dorsal do animal dividido em três regiões no sentido crânio-caudal e os três fragmentos de 0,5 X 0,5 cm localizados na extremidade de cada uma das regiões, margeando a borda direita do retalho.

As amostras de tecido foram embebidas em formol tamponado neutro a 10%, submetidas a: desidratação com álcool, diafanização em xilol e inclusão em parafina. Os blocos de parafina foram cortados em micrôtomos com espessura variando de 4 a 6 micrômetros e as lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina.

As lâminas foram estudadas por um patologista que desconhecia a que grupo pertencia a amostra. Os critérios histológicos foram transformados em variáveis categóricas e analisados em relação à ocorrência de granulação isoladamente, granulação associada à existência de células polimorfonucleares ou granulação associada à necrose, respectivamente, para o terço proximal, médio e distal do retalho (n=10 para cada grupo).

Para a comparação dos dados da avaliação macroscópica, o teste de Mann-Whitney e a soma dos postos de Wilcoxon foram utilizados. Os dados obtidos a partir da avaliação histológica foram analisados pelo teste exato de Fisher ou pelo teste qui-quadrado de Pearson, conforme o número de células com valor esperado abaixo de cinco. Considerou-se significativo o valor correspondente a $p < 0,05$.

RESULTADOS

Em valores absolutos, as áreas de necrose, de isquemia e de viabilidade tecidual não foram diferentes entre os grupos estudo e controle. As médias e as medianas das áreas de necrose, de viabilidade e de isquemia podem ser analisadas na Tabela 1.

Os animais do grupo-estudo apresentaram áreas finais dos retalhos significativamente menores do que aqueles do grupo-controle ($p=0,019$) (Figura 5).

Os percentuais das áreas de necrose, de viabilidade e de isquemia não apresentaram diferença comparando-se o grupo-estudo com o grupo-controle.

À avaliação do terço proximal dos retalhos cutâneos, não se observou granulação associada à necrose ou granulação associada a células polimorfonucleares. A ocorrência de granulação isoladamente foi observada em todas as amostras avaliadas do terço proximal dos retalhos, independentemente do grupo aos quais pertenciam os animais. Quando avaliado o terço médio, verificou-se que o grupo-estudo apresentou mais granulação associada à necrose do que o grupo-controle ($p=0,011$) (Figura 6, Tabela 2). A análise do terço distal dos retalhos evidenciou menos granulação associada a polimorfonucleares no grupo-estudo do que no controle ($p=0,001$) (Figura 7, Tabela 2).

Tabela 1 - Medidas das áreas de viabilidade, de isquemia e de necrose, no sétimo dia após a confecção de retalhos dorsais à McFarlane em ratos Wistar, que receberam sildenafil (grupo-estudo) ou solução salina (grupo-controle) pela via intraperitoneal

Parâmetro avaliado	Grupo-estudo		Grupo-controle		P
	Média ± EPM	Mediana (mínimo – máximo)	Média ± EPM	Mediana (mínimo – máximo)	
Necrose	8,02 ± 3,09	7,85 (2,94 – 13,56)	8,99 ± 3,44	8,94 (2,73 – 13,78)	0,529
	0,79 ± 1,04	0,00 (0,00 – 2,51)	1,80 ± 2,98	0,00 (0,00 – 7,66)	
Isquemia	5,52 ± 4,46	3,74 (1,59 – 15,08)	6,86 ± 2,63	5,90 (3,91 – 13,35)	0,089

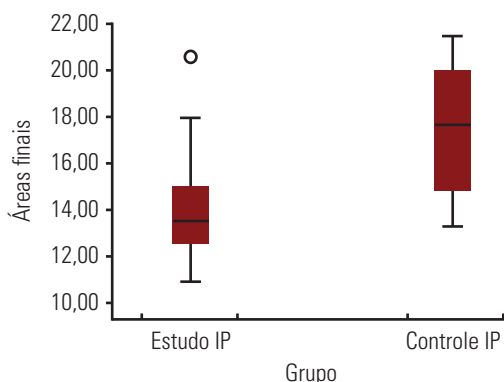


Figura 5 - Comparação das áreas finais dos retalhos dorsais entre os grupos estudo IP e controle IP, (p=0,019).

Tabela 2 - Número absoluto de casos de granulação, granulação (Gr) associada à necrose (Nc) ou granulação associada a células polimorfonucleares (PMNs) em biópsias coletadas no sétimo dia pós-operatório, dos terços proximal, médio e distal de retalhos à McFarlane após injeção de sildenafil (grupo-estudo – E) ou de solução salina (grupo-controle – C) pela via intraperitoneal

Parâmetro avaliado	Terço proximal		Terço médio		Terço distal		p
	E	C	E	C	E	C	
Granulação	10	10	4	6	0	0	
Gr/Nc	0	0	6*	0*	3	0	* 0,011
Gr/PMNs	0	0	0	1	0†	8†	† 0,001

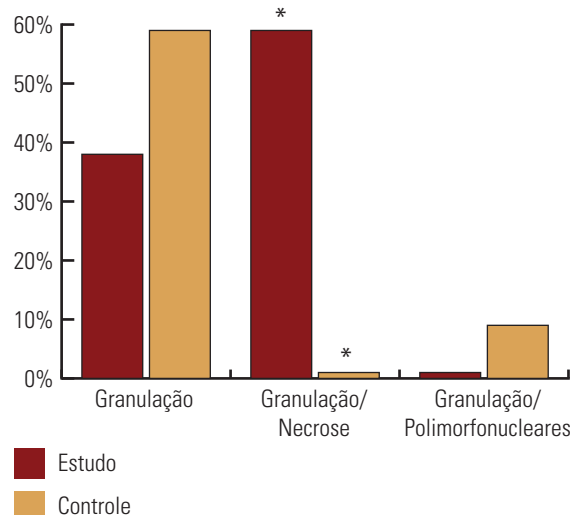


Figura 6 - Casos de granulação, granulação associada à necrose e granulação associada a células polimorfonucleares, no terço médio de retalhos à McFarlane, em ratas que receberam (estudo) ou não (controle) sildenafil por via intraperitoneal, p=0,011.

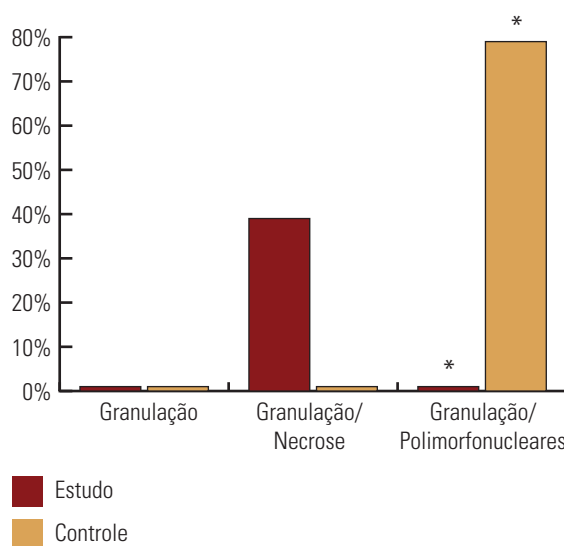


Figura 7 - Casos de granulação, granulação associada à necrose e granulação associada a células polimorfonucleares, no terço distal de retalhos à McFarlane, em ratas que receberam (estudo) ou não (controle) sildenafil por via intraperitoneal, p=0,001.

DISCUSSÃO

A viabilidade de retalhos cutâneos apresenta importância fundamental tanto para operações com finalidade reconstrutora como para os procedimentos estéticos. Embora o sucesso dessas cirurgias esteja intrinsecamente ligado à sua programação adequada e à sua execução técnica^{2,3}, vários estudos estão sendo realizados com o objetivo de avaliar os fatores que interferem na vascularização desses retalhos, além de propor substâncias que possam intervir positivamente na sua viabilidade.^{5-14,17,18}

Em função dos seus efeitos vasoativos e de sua ação sobre o perfil de ativação plaquetária, é correto supor que o sildenafil pode ser indicado clinicamente para o tratamento de retalhos cutâneos com debilidade perfusional.¹⁵ Ademais, estudos em retalhos cutâneos de ratos com base caudal corroboraram essa suposição, a partir da utilização dessa substância de maneira isolada ou associadamente a fatores de crescimento, evidenciando melhora na sua viabilidade.¹⁰⁻¹⁴ Nesse contexto, o presente estudo baseou-se na escolha de um modelo experimental de retalho randômico cujas características já foram estabelecidas e nos efeitos vasoativos e plaquetários do sildenafil, para avaliar a viabilidade de retalhos que evoluem distalmente com isquemia.

No entanto, o sildenafil administrado pela via intraperitoneal não promoveu aumento das áreas de viabi-

lidade tecidual, nem diminuição das áreas de necrose, como era esperado, em função da sua capacidade de induzir vasodilatação, inibir a agregação plaquetária e promover a angiogênese, contradizendo o que fora observado anteriormente para seu uso sistêmico.¹⁰⁻¹³

Por outro lado, Hart *et al.*¹¹ avaliaram retalhos cutâneos dorsais de ratos tratados com sildenafil pela via intraperitoneal, comparando-os com o grupo que recebeu somente o veículo de diluição, pela mesma via, e com o grupo no qual não foi administrada alguma substância.¹¹ Os achados obtidos por meio da análise de imagem espectral de polarização ortogonal revelaram menores áreas de necrose nos animais que receberam o sildenafil, no intervalo do 1º ao 3º dias pós-operatórios. No entanto, as áreas de necrose foram semelhantes entre todos os grupos, no período entre o 5º e o 7º dias de observação, corroborando os resultados do nosso estudo.

A contração cicatricial é um processo fisiológico que resulta no fechamento da ferida pela redução de sua superfície de exposição. Esse processo de reparo acelera o tempo de cicatrização, quando comparado com a sutura ou com a epitelização isoladamente. Além disso, a cicatriz resultante é menor. Em ratos, o pânículo carnoso facilita a mobilidade da pele e, conseqüentemente, a contração da ferida.¹⁹ A análise das áreas totais dos retalhos mostrou que a contração tecidual foi mais eficaz nos animais que receberam o sildenafil pela via intraperitoneal do que naqueles do grupo-controle. Como os estudos acerca da viabilidade de retalhos cutâneos de ratos tratados com sildenafil encontrados na literatura não avaliavam essa variável, investigações futuras serão necessárias para estabelecer se o uso sistêmico dessa substância poderia alterar a expressão de α -actina e de microfilamentos pelos fibroblastos em seu citoplasma, favorecendo a contração cicatricial.¹⁰⁻¹⁴

Por meio da análise microscópica dos terços distais dos retalhos, detectou-se que o uso intraperitoneal do sildenafil esteve associado à menor formação de tecido de granulação permeado por células polimorfonucleares, quando comparado ao controle. Supõe-se que polimorfonucleares interpostos à granulação estejam relacionados a alguma contaminação, cujo significado clínico seja, de fato, a diminuição da viabilidade dos retalhos tratados com o sildenafil pela via intraperitoneal.

Acredita-se que a análise histológica do terço distal dos retalhos apresente mais importância clínica do que o estudo dos terços médio e proximal, uma vez que as

amostras das porções distais representam os fenômenos fisiológicos esperados para um retalho com debilidade perfusional.^{16,20} Entretanto, dependendo do grau de diminuição do aporte sanguíneo, alterações teciduais podem ser observadas não somente nas porções distais dos retalhos, atingindo, inclusive, o seu terço médio. Mesmo sem correlação com a avaliação macroscópica, a necrose interpondo a formação de tecido de granulação, significativamente mais frequente no terço médio dos retalhos dos animais que receberam o sildenafil pela via intraperitoneal, pode ter sido causada pela diminuição da pressão de perfusão, decorrente da associação do agente anestésico utilizado com o sildenafil. Talvez essas alterações não tenham sido detectadas à macroscopia, em função de terem ocorrido no nível da microcirculação, comprometendo as fístulas artério-venosas que acometeram a derme.³ Da mesma forma, era de se esperar que não fossem observadas diferenças entre os grupos, à análise do terço proximal dos retalhos, independentemente da via de administração e/ou das substâncias utilizadas, a não ser que a resposta sistêmica do animal fosse intensa o bastante para comprometer o aporte sanguíneo na base dos retalhos ou que fosse utilizado um modelo experimental para debilidade cicatricial, como o uso de nicotina, de radiação ou do diabetes induzido.

As alterações histológicas relacionadas ao uso intraperitoneal do sildenafil sugerem que o fármaco tenha sido associado a pior resposta tecidual, interferindo negativamente na viabilidade dos retalhos. Por outro lado, outros estudos deverão ser conduzidos para avaliar se elas não foram resultantes da associação do sildenafil com um agente anestésico cujas propriedades vasodilatadoras sistêmicas possam ter contribuído para piora do aporte sanguíneo através das artérias perfurantes cutâneas. Além disso, é possível que os resultados de uma avaliação mais precoce dos retalhos pudessem evidenciar resposta positiva relacionada ao uso do sildenafil de modo semelhante ao que fora observado por Hart *et al.*¹¹. Esses autores constataram que, por volta do terceiro de dia de observação, os retalhos cutâneos apresentavam-se mais viáveis do que no período entre o quinto e o sétimo dia pós-operatórios, sugerindo que o sildenafil intraperitoneal possa atuar inicialmente na indução de vasodilatação arterial e permitir conseqüente afluxo de células e de mediadores. É provável, contudo, que esse mecanismo não se perpetue nas fases finais da cicatrização, o que poderia ser contornado com a associação do fármaco a fatores de crescimento.

CONCLUSÃO

O sildenafil pela via intraperitoneal não se mostrou eficaz para melhorar a viabilidade de retalhos à McFarlane em ratos. Outros estudos talvez possam esclarecer o seu mecanismo de ação para a contração tecidual.

REFERÊNCIAS

- Morain WD. Historical Perspectives. *In: Mathes SJ. Plastic surgery: general principles*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier; 2006. v.1, p.27-34.
- Mathes SJ, Hansen SL. Flap classification and applications. *In: Mathes SJ. Plastic Surgery: General Principles*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier; 2006. v.1, p.365-481.
- Vedder NB. Flap Physiology. *In: Mathes SJ. Plastic surgery: general principles*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier; 2006. v. 1, p.483-506.
- Payement G, Cariou JL, Arcila M, Arrouvel C, Banzet P. Arterial phenomenon of autonomization of vascularized island flaps reviewed by expansion of the vascular pedicle. An experimental study in the rat. *Ann Chir Plast Esthet*. 1994; 39(6):779-84.
- Davis RE, Cohen JI, Robinson JE, Urben SL, Cook TA. Ketorolac (Toradol) and acute random-pattern skin flap survival in rat. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1995; 121(6):673-7.
- Kargi E, Deren O, Babuccu O, Hosnuter M, Erdogan B. Dual synergistic effect: the effect of dexamethasone plus carnitine on skin flap survival. *Ann Plast Surg*. 2004; 53(5):488-91.
- Thackham JA, McElwain DL, Long RJ. The use of hyperbaric oxygen therapy to treat chronic wounds: a review. *Wound Repair Regen*. 2008; 16(3):321-30.
- Isken T, Serdaroglu I, Ozgentas E. The effects of the pentoxifylline on survival of the skin flaps in streptozotocin-diabetic rats. *Ann Plast Surg*. 2009; 62(4):446-50.
- Mauad RJ Jr, Shimizu MH, Mauad T, de Tolosa EM. Buflomedil and pentoxifylline in the viability of dorsal cutaneous flaps of rats treated with nicotine. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2006; 59:387-92.
- Ayyildiz A, Uysal A, Koçer U, et al. Effect of sildenafil citrate on viability of flaps: an experimental study in rats. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 2005; 39(4):204-8.
- Hart K, Baur D, Hodam J, et al. Short- and long-term effects of sildenafil on skin flap survival in rats. *Laryngoscope*. 2006; 116(4):522-8.
- Sarifakioglu N, Gokrem S, Ates L, Akbuga UB, Aslan G. The influence of sildenafil on random skin flap survival in rats: an experimental study. *Br J Plast Surg*. 2004; 57: 769-72.
- Tsai JW, Ayubi FS, Hart KL, et al. Evaluation of the effect of sildenafil and vascular endothelium growth factor combination treatment on skin flap survival in rats. *Aesthetic Plast Surg*. 2008; 32(4): 624-31.
- Ulusoy MG, Uysal A, Koçer U, et al. Improved flap viability with site-specific delivery of sildenafil citrate using fibrin glue. *Ann Plast Surg*. 2005; 55 (3):292-6.
- Uthayathas S, Karuppagounder SS, Thrash BM, Parameshwaran K, Suppiramaniam V, Dhanasekaran M. Versatile effects of sildenafil: recent pharmacological applications. *Pharmacol Repts*. 2007; 59: 150-63.
- McFarlane, Deyoung G, Henry RA. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plast Reconstr Surg*. 1965; 35(2):177-82.
- Esteves Junior I, Ferreira LM, Liebano RE. Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina por iontoforese na viabilidade de retalho cutâneo randômico em ratos. *Acta Cir Bras*. 2004; 19(6): 626-9.
- Kim TK, Oh EJ, Chung JY, Park JW, Cho BC, Chung HY. The effects of botulinum toxin A on the survival of a random cutaneous flap. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2009; 62(7):906-13.
- Lorenz H, Longaker MT. Wound Healing: repair biology and wound and scar treatment. *In: Mathes, SJ. Plastic surgery general principles*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier; 2006. v.1, p.209-34.
- Briggs PC. The McFarlane flap. *Plast Reconstr Surg*. 1987; Sep; 80(3):472-3.