

Isabela Leite Ferraz

A punção subaracnoidea sobre tatuagem determina alterações histológicas sobre o tecido nervoso medular e as meninges?

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do título de Mestre em Anestesiologia.

Orientadora: Prof^ª Titular Eliana Marisa Ganem

Coorientadora: Prof^ª Dr^ª Lais Helena Navarro

Botucatu

2014



Aos meus pais, José e Maria Carmelita, pelo amor incondicional que me impulsiona a lutar pelos meus sonhos com alegria, força e esperança. Aqueles que, na graça de Deus, me deram e me dão vida todos os dias.

À minha irmã, Maria Cristina, por tantas vezes me incentivar e sempre acreditar nas minhas conquistas.

Ao meu esposo, Lucas, pelo amor, compreensão e companheirismo que me fazem crescer todos os dias. O maior dos meus sonhos, a indescritível sensação de paz e a felicidade que eu quero ter por toda a minha vida.



Agradecimientos

Agradecimentos Especiais

À Profª Drª Eliana Marisa Ganem

Mais do que mostrar o caminho a seguir, esteve sempre segurando a minha mão. Exemplo perfeito do que é ser professor e amigo, que me fez aprender muito mais do que o que está escrito nos livros. Meu carinho, meu respeito e minha admiração não cabem em palavras. Ser-lhe-ei eternamente grata!

À Profª Drª Lais Helena Navarro

Sempre muito presente em toda a minha formação, dona de uma inteligência admirável e fonte de inspiração para mim e para muitos ao seu redor. Grande professora e amiga, na qual encontrei não apenas conhecimento, mas também o carinho, a força e a alegria para aprender melhor.

Agradecimentos

A todos os docentes do Departamento de Anestesiologia de Botucatu e, em especial, à Profa. Titular Yara Marcondes Machado Castiglia, pelo apoio durante a pós-graduação e ao Professor Emérito Pedro Thadeu Galvão Vianna, pelas brilhantes idéias para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus colegas de residência pela compreensão e apoio durante as aulas de pós-graduação, em especial, Ana Lygia Rochitti de Carvalho, pela amizade, carinho e cuidado que ultrapassam a distância geográfica que nos separa.

Aos funcionários da secretaria e serviço de computação do Departamento de Anestesiologia de Botucatu, Joana e André, pela paciência e ajuda na digitação final do texto, Neli e Sônia, pela presteza e eficiência.

À Profa^a Dra^a Vania Maria de Vasconcelos Machado, do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, pelo auxílio com a ultrassonografia.

À Prof^a Adjunta Mariângela Esther Alencar Marques, do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, pelo auxílio na leitura das lâminas histológicas.

À FAPESP pelo Auxílio à Pesquisa (Processo 2011/08906-3), pela concessão de Bolsa de Iniciação Científica (Processo 2011/05782-1) à graduanda Patrícia Gomes Ferreira Netto.

*“Foi o tempo que dedicastes à tua rosa
que a fez tão importante”*



Antoine de Saint-Exupéry



Resumo e Abstract

Ferraz IL. A punção subaracnoidea sobre tatuagem determina alterações histológicas sobre o tecido nervoso medular e as meninges? Botucatu, 2014. 54p. Dissertação (Mestrado em Anestesiologia). Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP-Univ. Estadual Paulista.

RESUMO

O hábito de tatuar o corpo faz parte da cultura de muitos povos no mundo. A partir de 1990, passou a ser utilizado como forma de arte no corpo. Os pigmentos da tatuagem podem conter componentes orgânicos e inorgânicos, metais e solventes. Pouco se conhece sobre as implicações da realização de anestesia regional sobre pele tatuada. Não existem evidências documentadas ou provas científicas de que os pigmentos da tatuagem possam causar aracnoidite ou outras complicações neurológicas.

Objetivos: avaliar se a punção subaracnoidea realizada sobre a pele tatuada de coelhos determinaria alterações histológicas no tecido nervoso medular e nas meninges. Analisar presença de fragmentos de tinta no interior das agulhas de punção.

Metodologia: foram utilizados 36 coelhos randomizados em 3 grupos (G): G1 punção sobre tatuagem, G2 punção subaracnoidea sobre tatuagem e injeção de solução fisiológica e G3 punção subaracnoidea e injeção de solução fisiológica. A punção (agulha de Quincke 22G 21/2) foi realizada sob anestesia no espaço entre a primeira e a segunda vértebra sacral guiada por ultrassom. Os animais de G2 e G3 receberam soluções em volume de 5 µL/cm de coluna vertebral (0,2 mL) e nos de G1 foi realizado somente punção sacral e, após esta, foi injetado, através da agulha, 1 mL de solução fisiológica sobre lâmina histológica para realização de esfregaço para possível identificação do tecido. Os animais foram avaliados clinicamente por 6 meses, após os quais foram decaptados sob anestesia e retiradas as porções lombar e sacral da medula espinhal para exame histológico por microscopia óptica.

Resultados: presença de pigmentos de tinta em todos os esfregaços dos materiais das agulhas de punção do G1. Infiltrado linfoplasmocitário perivascular em áreas focais das

meninges em 33% dos coelhos de G2. Tecido nervoso, meninges e vasos sanguíneos normais em G3.

Conclusão: a punção subaracnoidea sobre a pele tatuada determinou alterações histológicas nas meninges, mas não no tecido nervoso medular. Foram encontrados fragmentos de tinta da tatuagem no interior das agulhas de punção apesar da presença do estilete.

Palavras-chave: anestesia regional, punção subaracnoidea, tatuagem, pigmento, complicações

Ferraz IL. Does the neuroaxial blockade in the presence of tattoos cause histological changes on the spinal nerve tissue and meninges? Botucatu, 2014. 54p. Dissertation (MS in Anesthesiology), Botucatu Medical School, UNESP-Univ. Estadual Paulista.

ABSTRACT

Body tattooing is part of many peoples culture in the world. Since 1990, it has been used as a body art. The tattoo pigments may contain organic and inorganic compounds, metals and solvents. The implications of performing regional anesthesia on tattooed skin are poorly known. There are no documented evidence or scientific proof that tattoo pigments can cause arachnoiditis or other neurological complications.

Objectives: to assess whether spinal puncture performed on the tattooed skin of rabbits determine histological changes in the spinal nerve tissue and meninges. To analyze the presence of fragments of ink inside of needles.

Methods: 36 rabbits were randomized in 3 groups (G). G1 puncture on tattoos, G2 spinal puncture on tattoos and injection of saline, G3 spinal puncture and injection of saline. The spinal puncture was ultrasound guided and performed under anesthesia in the space between the first and second sacral vertebra (a 22G 21/2 Quincke needle was used). The animals in the groups 2 and 3 received a 5 µl/cm spine volume solution (0,2 cc). The animals in the group 1 underwent only sacral puncture and, after that, was injected through the needle 1 cc of saline. The goal was to obtain histological material for conducting smear and possible identification of the tissue. The animals were evaluated clinically for 6 months. After this time they were sacrificed and have the lumbar and sacral portions of the spinal cord removed under anesthesia for histological examination by light microscopy.

Results: pigments of ink was noted in all G1 smears material of needles. Perivascular lymphocytic infiltrate was noted in focal areas of the meninges in 33% of rabbits in group 2. Nervous tissue, meninges and blood vessels were normal in G3.

Conclusion: subarachnoid puncture on the tattooed skin caused histological changes in the meninges, but not in the spinal nervous tissue. Fragments of tattoo ink were found inside of needles, despite the presence of the stylus.

Keywords: regional anesthesia, neuroaxial blockade, tattoo, pigment, complications



**Lista de Figuras, Tabelas,
Quadros e Sumário**

Lista de Figuras

Figura 1	Pigmentos de tinta. Esfregaço de material coletado da agulha de punção dos animais de G1. Coloração: Giemsa.....	37
Figura 2	Esfregaço de solução fisiológica 0,9% corado com Giemsa.....	37
Figura 3	Tecido nervoso normal (A), vaso sanguíneo com infiltrado linfoplasmocitário na pia-máter (B), HE 100X. Coelho 5 do G2.....	38
Figura 4	Tecido nervoso normal (A), vaso sanguíneo com infiltrado linfoplasmocitário na pia-máter (B), HE 400x. Coelho 5 do G2.....	38
Figura 5	Tecido nervoso normal (A), infiltrado inflamatório perivascular focal em aracnóide (B), HE 100x. Coelho 9 do G2.....	39
Figura 6	Tecido nervoso normal (A), infiltrado inflamatório perivascular focal em aracnóide (B), HE 400x. Coelho 9 do G2.....	39
Figura 7	Tecido nervoso (A), vasos sanguíneos (B) e meninges normais (C). HE 40X. Coelho do G3.....	40
Figura 8	Tecido nervoso (A), vasos sanguíneos (B) e meninges normais (C). HE 100X. Coelho do G3.....	40

Lista de Tabelas

Tabela 1	Peso e comprimento de coluna dos animais dos três grupos experimentais. Resultados expressos em média e desvio padrão.....	35
Tabela 2	Resultados histológicos do tecido nervoso, de vasos sanguíneos e meninges dos animais pertencentes ao G2.....	36

Sumário

1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS.....	23
2.1 Principal.....	23
2.2 Secundário.....	23
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
3.1 Animais utilizados.....	25
3.2 Grupos experimentais.....	25
3.3 Sequência experimental.....	26
3.3.1 Fase 1 – Tatuagem	26
3.3.2 Fase 2 – Sequência de estudo.....	27
3.3.2.1 No G1.....	27
3.3.2.2 No G2 e G3.....	27
3.4 Técnicas utilizadas	28
3.4.1 Preparo do animal	28
3.4.2 Anestesia subaracnoidea.....	29
3.4.2.1 Técnica de punção.....	29
3.4.2.2 Volume injetado.....	30
3.4.2.3 Solução administrada	30
3.5 Coleta de fragmentos de tecido das agulhas.....	30
3.6 Observação clínica.....	30
3.7 Sacrifício.....	31
3.8 Exame histológico.....	31
3.9 Comissão de Ética em Experimentação Animal.....	32
3.10 Modelo de estudo.....	33
3.11 Método estatístico.....	33
4 RESULTADOS.....	35
5 DISCUSSÃO.....	42
6 CONCLUSÃO.....	46
7 REFERÊNCIAS.....	48

1 Introdução

O hábito de tatuar o corpo faz parte da cultura de muitos povos ao redor do mundo, há muito tempo. Na Itália, em 1991, foi encontrada a múmia mais antiga do mundo, que viveu 5300 anos antes de Cristo (a.C.) e permaneceu congelada desde então. Esta apresentava tatuagens em toda a coluna vertebral, além de uma cruz e desenhos tribais nas pernas.

As tatuagens também foram encontradas em múmias no Egito, que viveram entre 4000 a.C. e 2000 a.C.. Estas se relacionavam a rituais médicos, mágicos, de guerra e também marcavam etapas da vida, como o nascimento, a puberdade, a fase reprodutiva e a morte^{1,2}.

Assim, desde os primórdios da civilização, tatuar o corpo tem conotações cerimoniais, religiosas, tribais e estéticas para indivíduos e sociedades. Contudo, a partir do início da década de 1990 passou a ser utilizada por alguns grupos sociais e em faixa etária determinada como uma forma de arte no corpo^{1,3}.

A técnica da tatuagem consiste em depositar o pigmento da tinta ao longo do caminho que a agulha percorre na epiderme até o interior da derme⁴. Os aparelhos utilizados para tatuar penetram a pele em profundidade que varia entre 0,6 e 2,2 mm⁵.

Após sua introdução na pele os pigmentos são rapidamente englobados pelos fagossomas dos queratinócitos e de outras células fagocíticas, como os fibroblastos, os macrófagos e os mastócitos. Uma parte da tinta é eliminada por via linfática. As estruturas da epiderme, da junção dermo-epidémica e da derme papilar, perdem a sua organização estrutural e passam a apresentar aspecto inflamatório. Em aproximadamente um mês a camada basal se reconstitui e os pigmentos ficam contidos no interior das células basais. Finalmente as células fagocitárias são reagrupadas na junção dermo-epidémica sob coxim de tecido de granulação que contém colágeno. A eliminação das partículas que restaram sob a epiderme faz-se por descamação. Ao final de um mês a tatuagem é considerada estável e as partículas de tinta permanecem exclusivamente no interior de fibroblastos da derme, aprisionadas em conglomerado de tecido conjuntivo⁶⁻⁹.

O pigmento que permanece no tecido fibroso da derme é o responsável pela coloração da tatuagem⁵.

Os pigmentos utilizados na tatuagem podem conter componentes orgânicos e inorgânicos, metais e solventes¹⁰. Dentre os diversos agentes inorgânicos foram identificados o dióxido de titânio, o óxido de ferro, o sulfato de cádmio, o óxido crômico, o carbono^{1,10-13}.

Há grande variação na composição química dos pigmentos das tatuagens que dá origem às diferentes cores. Como exemplo, os pigmentos podem conter o alumínio, o cádmio (que colore de amarelo), o carbono (coloração preta), o cromo (coloração verde), o cobalto (coloração azul), o cobre, o ferro, o magnésio, o mercúrio (coloração vermelha), o níquel, o nitrogênio, o oxigênio, a sílica, o titânio e o enxofre. Muitos pigmentos não foram destinados para serem administrados em seres humanos, outros sequer são regulamentados pelas agências federais para essa finalidade¹⁴.

Atualmente têm sido utilizados pigmentos orgânicos, porém pouco se conhece sobre a composição exata dessas tintas^{4,15}.

O corante dos pigmentos pode causar reações agudas ou crônicas na pele. As reações agudas podem ser alérgicas, eritematosas, pruriginosas, edematosas e infecciosas¹⁶⁻²². Normalmente a tatuagem que é antiga não apresenta processos inflamatórios e infecciosos, mas existe a possibilidade de ocorrer reação de hipersensibilidade crônica e hiperplásica²³. Não são incomuns as reações pseudolinfomatosas, as eczematosas, as granulomatosas e as liquenóides²⁴.

Nos Estados Unidos, 25% da população com idades entre 24 e 50 anos possuem tatuagens, sendo que, destes, aproximadamente 50% são mulheres³. Este fato é preocupante porque muitas mulheres estão em idade fértil e podem, em algum momento, ser submetidas à anestesia do neuroeixo. Como a localização das tatuagens é bastante variada não é raro que estas estejam situadas na região lombar e sacral²⁵.

Pouco se conhece sobre as implicações da introdução de uma agulha para realização de anestesia regional sobre uma pele tatuada.

Muito pouco é descrito sobre a possibilidade de complicações neurológicas que ocorreram após anestesia do neuroeixo cuja punção foi realizada em pele tatuada. Não existem evidências que sustentem a presença de efeitos tóxicos diretos da tinta proveniente de uma tatuagem já cicatrizada sobre o sistema nervoso central²⁵. Existe

apenas relato de caso de nódulo linfático axilar contendo tinta, mimetizando melanoma metastático, em paciente cuja tatuagem foi realizada há 30 anos²⁶.

Também foi publicado outro relato de paciente submetida à analgesia de parto, na qual a agulha de peridural foi introduzida em espaço peridural através de tatuagem. Algumas horas após, a parturiente queixou-se que o local em que havia sido introduzido o cateter estava dolorido e queimando. Como a tatuagem era vermelha, não foi possível detectar a presença de sinais inflamatórios. Os sintomas regrediram em 24 horas e como hipótese desencadeadora dos sintomas foi sugerido que a presença de fragmentos de tecido contendo pigmentos de tatuagem poderia ter causado irritação nos tecidos lombares profundos²⁷.

Pesquisa realizada em hospitais públicos e privados de Portugal envolvendo 162 anesthesiologistas, que responderam a questionário sobre qual seria a conduta que teriam ao se defrontarem com parturiente com tatuagem no local em que seria realizada a punção lombar para a anestesia do neuroeixo, mostrou que 92 médicos (56,8%) já haviam realizado punção raquidiana em pacientes tatuados e, destes, 84,4% em mais de uma ocasião. Todos os anesthesiologistas disseram que puncionavam a pele livre da tatuagem e tinham a sua conduta baseada em bibliografias. Contudo, não existe consenso nos estudos publicados na literatura sobre qual a conduta correta nesses casos²⁸.

Outra pesquisa similar, realizada em maternidades francesas da região do Languedoc-Roussillon, mostrou que 57 % dos anesthesiologistas que responderam ao questionário realizavam a punção sobre a pele tatuada²⁹.

Apesar de não existirem, até os dias atuais, evidências documentadas ou provas científicas que apoiem a hipótese de que os pigmentos da tatuagem possam causar aracnoidite ou outras complicações neurológicas³⁰⁻³², o princípio da precaução orienta que se evite a punção em cima de uma pele tatuada^{13,33-37}.

2 Objetivos

2.1 Principal

Avaliar se a punção subaracnoidea realizada sobre a pele tatuada de coelhos determinaria alterações histológicas no tecido nervoso medular e nas meninges.

2.2 Secundário

Avaliar a presença de fragmentos de tinta vermelha no interior das agulhas de punção subaracnoidea.

3 Materiais e Método

3.1 Animais utilizados

Após a aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu (Protocolo nº 883-2011) foram utilizados 36 coelhos adultos, jovens, machos, da raça Grupo Genético de Botucatu, com pesos entre 3.000 g e 4.200 g e comprimento de coluna vertebral entre 38 e 40 cm, fornecidos pelo Biotério do Campus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Na seleção dos animais foram excluídos aqueles que não apresentavam aspecto sadio e que tiveram necessidade de mais de uma punção subaracnoidea.

Os animais foram randomizados em três grupos experimentais.

3.2 Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos por lista gerada por computador e envelopes selados em três grupos experimentais, com 12 animais em cada grupo, submetidos, inicialmente, à anestesia venosa com xilazina e cetamina e, em seguida, à punção subaracnoidea. Os grupos diferenciaram-se pela presença ou não de tatuagem na pele através da qual foi realizada a punção subaracnoidea e pela administração ou não de solução fisiológica no espaço subaracnoideo, ou seja:

Grupo 1 (G1) – Coelho com tatuagem – punção sacral até o ligamento amarelo.

Grupo 2 (G2) – Coelho com tatuagem – punção subaracnoidea e injeção de solução fisiológica 0.9%.

Grupo 3 (G3) – Coelho sem tatuagem – punção subaracnoidea e injeção de solução fisiológica 0.9%.

O grupo 1, no qual foi realizada somente a punção sacral através da tatuagem até o ligamento amarelo do coelho, teve por objetivo avaliar a presença de fragmentos de tecido ou de pigmentos de tinta no interior da agulha de punção.

O grupo 2, que recebeu a solução salina por via subaracnoidea através da tatuagem, teve por finalidade estudar os efeitos que os possíveis fragmentos de tecido contendo tinta da tatuagem determinariam se injetados no espaço subaracnoideo.

Já o grupo 3, que apenas recebeu a solução fisiológica a 0.9% por via subaracnoidea, teve por objetivo avaliar os efeitos que o volume de solução administrada determinaria sobre o tecido nervoso.

Como o espaço subaracnoideo do coelho no local onde foi realizada a punção, que é o mais caudal que permite a passagem da agulha, é pequeno, visto que ainda contém o tecido medular³⁸, é imperativo que o volume da solução administrada não seja o fator desencadeador de lesões nervosas. Alguns autores aventaram a hipótese de que aumentos agudos no volume do líquido podem levar ao aumento na pressão líquórica, comprometer o fluxo sanguíneo medular e causar isquemia medular, com o surgimento de lesões neurológicas³⁹. Somando-se ao que já foi descrito, este grupo serviu também para excluir eventual injeção intraneural da solução. Está descrito na literatura que a injeção de solução salina em volume de 0.05 ml no interior dos fascículos de nervos periféricos de coelhos foi suficiente para degenerar os axônios^{40,41}.

3.3 Sequência experimental

O experimento foi realizado em duas fases.

3.3.1 Fase 1 – Tatuagem

Nos animais do G1 e G2, com cinco meses de idade, quando eles já são considerados adultos jovens, foi realizada a tatuagem com pigmento vermelho ao redor dos espaços intervertebrais S1-S2, com dois centímetros de diâmetro. Para possibilitar o procedimento, os animais foram submetidos à seqüência experimental descrita abaixo:

- Jejum alimentar de 12 horas com livre acesso à água
- Pesagem
- Anestesia com xilazina e cetamina
- Posicionamento do animal em decúbito ventral na mesa
- Limpeza local com água e sabão

- Tricotomia
- Limpeza do local com solução salina fisiológica estéril
- Antissepsia com gluconato de clorexidina a 2%
- Realização da tatuagem na região sacral nos animais dos G 1 e G2

Os coelhos foram mantidos em cativeiro por 30 dias para cicatrização da tatuagem

3.3.2 Fase 2 - Sequência de estudo

3.3.2.1 No G1

Nos animais do G1 foi realizada a seqüência experimental que segue:

- Jejum alimentar de 12 horas com livre acesso à água
- Pesagem
- Anestesia com xilazina e cetamina
- Posicionamento do animal em decúbito ventral na mesa
- Medida do comprimento da coluna vertebral
- Limpeza local com água e sabão
- Tricotomia
- Limpeza do local com solução salina fisiológica estéril
- Antissepsia com gluconato de clorexidina a 2%
- Colocação de campo estéril
- Palpação e identificação dos espaços intervertebrais
- Punção sobre pele tatuada sob orientação do ultrassom até o ligamento amarelo.

3.3.2.2 No G2 e G3

Nos animais do G2 e G3 foi realizada a seqüência experimental que segue:

- Jejum alimentar de 12 horas com livre acesso à água.
- Pesagem
- Anestesia com xilazina e cetamina

- Posicionamento do animal em decúbito ventral na mesa
- Medida do comprimento da coluna vertebral
- Limpeza local com água e sabão
- Tricotomia
- Limpeza do local com solução salina fisiológica estéril
- Antissepsia com gluconato de clorexidina a 2%
- Colocação de campo estéril
- Palpação e identificação dos espaços intervertebrais
- Punção subaracnoidea sob orientação de ultrassom e identificação do espaço subaracnoideo
- Injeção da solução fisiológica 0,9%
- Retirada do animal da mesa
- Observação clínica até a recuperação da anestesia
- Manutenção em cativeiro durante seis meses sob observação clínica
- Sacrifício do animal
- Remoção da medula espinhal em sua porção lombar e sacral
- Fixação da peça anatômica
- Análise da histologia

3.4 Técnicas utilizadas

3.4.1 Preparo do animal

- Após período de jejum de 12 horas com livre acesso à água, os animais foram pesados e anestesiados com injeção intravenosa de cloridrato de xilazina, na dose de 3 mg.kg^{-1} de peso corporal, e cloridrato de cetamina, na dose de 10 mg.kg^{-1} de peso corporal.
- Após a anestesia venosa, os animais foram posicionados em decúbito ventral sobre a mesa cirurgica e, para a obtenção do comprimento da

medula espinal, foi medida a distância da base do crânio ao espaço lombossacral.

- Foi realizada a limpeza da pele e pêlos da região da coluna vertebral com água e sabão seguida de tricotomia em área de 20 cm ao redor do local onde foi realizada a punção, correspondente ao espaço intervertebral S1 – S2. Esta região foi lavada com solução fisiológica a 0,9% e, após a antisepsia com solução tópica de gluconato de clorexidina a 2% foram colocados os campos estéreis.

3.4.2 Anestesia subaracnoidea

3.4.2.1 Técnica de punção

No coelho o espaço mais caudal que permite a abordagem do espaço subaracnoideo encontra-se entre as vértebras S1 e S2. Para a identificação deste espaço intervertebral e a determinação do local da punção subaracnoidea, palpam-se as duas tuberosidades do osso ilíaco e identifica-se o processo espinhoso da primeira vértebra sacral deslizando-se o dedo 1.5 cm a 2 cm em direção caudal. O espaço S1-S2 localiza-se 1 cm caudal ao processo espinhoso da primeira vértebra sacral⁴².

As punções foram guiadas com auxílio da ultrassonografia, utilizando o aparelho da marca SonoSite (USA), modelo M-turbo, que possui o recurso de Doppler tecidual de parede (TDI). Foi utilizado o transdutor micro-linear com frequência de 6.0 a 13 MHz.

As punções foram realizadas com agulha de Quincke, de calibre 22G 21/2”, por acesso mediano, com ângulo de inclinação de aproximadamente 45°. A agulha foi introduzida lentamente, em direção cefálica, guiada por ultrassom, até penetrar no espaço subaracnoideo dos animais do G2 e G3 e até o ligamento amarelo dos coelhos do G1.

Após a identificação do ligamento amarelo e do espaço subaracnoideo, os animais de G1 não receberam nenhuma solução e os de G2 e G3, a solução fisiológica 0,9%. Foram registradas as dificuldades na realização da punção.

3.4.2.2 Volume injetado

Foram administrados 5µl por centímetro de coluna vertebral (0,2 ml)⁴², injetados em um segundo, em seringa de 1 ml descartável.

3.4.2.3 Solução administrada

A solução fisiológica 0,9% (Grupos 2 e 3), foi sintetizada pela indústria farmacêutica Cristália.

3.5 Coleta de fragmentos de tecido das agulhas

Após a realização da punção sacral sobre a tatuagem, nos animais de G1 foi injetado, através da agulha, 1 ml de solução fisiológica 0,9%, sobre lâmina histológica para a realização de esfregaço, que posteriormente foi corado pelo método de Giemsa, para possível identificação do tecido caso estivesse presente.

3.6 Observação clínica

Após a punção subaracnoidea ou a injeção da solução, os animais do G2 e G3 foram retirados da mesa e, quando recuperados da anestesia venosa, foram avaliados clinicamente quanto à motricidade e à sensibilidade dolorosa. A motricidade foi avaliada pela observação clínica, baseado no critério estabelecido por Drummond & Moore⁴³, ou seja: 3-movimento livre das extremidades inferiores; 2-assimetria e limitação para sustentar o corpo e para deambular por alteração nas extremidades inferiores; 1- inabilidade para sustentar o corpo pelas extremidades inferiores; 0- paralisia das extremidades inferiores. Na seqüência, foi avaliada a sensibilidade dolorosa por meio de preensão nas extremidades inferiores e superiores, bem como a pele da região dos dermatomos sacrais, lombares, torácicos e da orelha, com auxílio de pinça dente de rato.

Os animais do G2 e G3 permaneceram em cativeiro durante 6 meses, sob observação clínica. Foram verificadas as alterações motoras, utilizando-se o critério de Drummond & Moore⁴³. A sensibilidade dolorosa foi avaliada pela observação dos

seguintes sinais indicativos de dor: retração da pata, mudança de postura e gemência após a aplicação dos estímulos dolorosos descritos anteriormente.

3.7 Sacrifício

O sacrifício dos coelhos pertencentes ao G2 e G3 foi realizado por decapitação, após anestesia prévia com pentobarbital sódico pela via intravenosa. A porção lombar e sacral da medula espinhal e as raízes da cauda equina foram retiradas em tempo inferior a 3 minutos, para minimizar os riscos de lesão tecidual desencadeada por isquemia e apoptose. O tecido medular e as raízes foram fixados em solução de formalina a 10% para posterior exame histológico.

3.8 Exame histológico

As peças anatômicas permaneceram, durante sete dias, em solução de formalina. Os cortes transversais do tecido nervoso e das meninges iniciaram-se aproximadamente dez centímetros acima do local onde foi realizada a punção subaracnoidea, estendendo-se até o final da cauda equina, em intervalos de meio centímetro. Os cortes de tecido medular foram colocados em blocos de parafina e corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE).

O exame histológico das lâminas foi efetuado pela microscopia óptica. Os resultados obtidos pela análise dos cortes do tecido nervoso e das meninges foram classificados como normais, quando não apresentarem alterações, ou lesados, determinando-se os achados observados de acordo com os seguintes critérios:

- tipo de lesão: 1-aracnoidite, 2-aracnoidite + lesão nervosa 3-lesão nervosa;
- localização da lesão: 1-região posterior (P), 2-região lateral (L), 3-região anterior (A), 4-P+L, 5-L+A, 6-P+L+A;
- extensão da lesão: 1-<10%, 2-10-50%, 3->50%;
- profundidade da lesão: 1-substância branca, 2-substância cinzenta, 3-substâncias branca e cinzenta;
- vaso sanguíneo: 1-normal, 2-espessamento fibroso, 3-trombose.

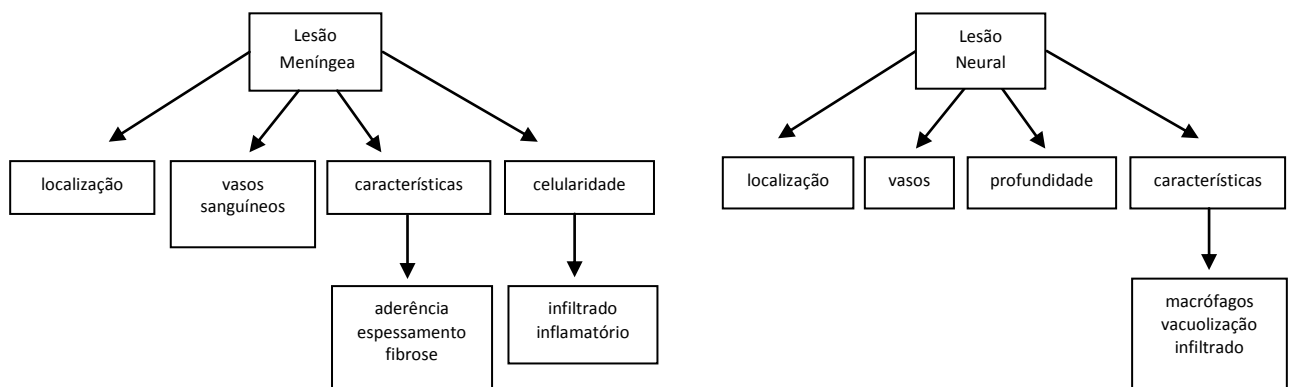
Na presença de aracnoidite adesiva:

- aderência: 0-ausente, 1-dura-máter (D) + aracnoide (A), 2-A + pia máter (P), 3-D + A + P;
- espessamento de meninge: 0-ausente, 1-leve, 2-moderado, 3-intenso;
- infiltrado linfoplasmocitário: 0-ausente, 1-leve, 2-moderado, 3-intenso;
- fibrose: 0-ausente, 1-leve, 2-moderada, 3-intensa.

Na presença de lesão de nervo:

- vacuolização: 2-infiltrado linfoplasmocitário, 3-macrófagos

A avaliação dos resultados histológicos foi encoberta, realizada por três pesquisadores envolvidos no estudo.



Quadro 1. Organograma da avaliação histológica

3.9 Comissão de Ética em Experimentação Animal

A presente pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.

3.10 Modelo de estudo

Este estudo foi controlado e randomizado. A análise histológica dos resultados foi encoberta.

Os grupos foram randomizados a partir de lista gerada por computador e por envelopes selados.

3.11 Método estatístico

Tendo por objetivo avaliar a homogeneidade dos grupos com relação ao peso e comprimento da coluna vertebral foi realizado como método estatístico a Anova (resultados expressos em média e desvio padrão), sendo considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

Pressupondo-se uma estimativa de taxa de lesão do tecido nervoso de 70%⁴⁴ e de taxa induzida de 1% para a solução fisiológica, para um valor α de significância de 5% (limite para detecção de erro tipo I) e um poder de 95%, seriam necessários oito animais por grupo.

4 Resultados

Nenhum animal do G2 e do G3 foi excluído do experimento por dificuldade na realização da punção subaracnoidea. Todos foram submetidos a uma única punção. Os coelhos permaneceram clinicamente normais sob o ponto de vista neurológico durante o período de cativeiro. Foi necessária a aplicação de antibiótico profilático quinzenalmente para evitar o aparecimento de lesões de pele e outras infecções.

A análise estatística dos três grupos experimentais mostrou que os animais de G3 apresentaram os maiores pesos ($p=0,001$, $F=8,21$) e houve homogeneidade entre os grupos com relação ao comprimento de coluna vertebral ($p=0,06$, $F=3,03$) (Tabela 1).

Tabela 1 - Peso (g) e comprimento de coluna (cm) dos animais dos três grupos experimentais. Resultados expressos em média e desvio padrão

	G1	G2	G3
Peso (g)	3500 ± 300	3400 ± 300	3900 ± 300
Comprimento de coluna vertebral (cm)	39 ± 1	39 ± 1	38,5 ± 0,5

Peso: $G1=G2<G3$; comprimento de coluna: $G1= G2=G3$.

Nos animais pertencentes ao G1, que foram submetidos à punção sobre a tatuagem, foram encontrados pigmentos de tinta vermelha provenientes de material contido na agulha em todos os esfregaços analisados (figuras 1 e 2).

Os resultados referentes às observações histológicas do tecido nervoso, vasos sanguíneos e meninges dos coelhos pertencentes ao G2, submetidos à punção subaracnoidea sobre a tatuagem com injeção de solução fisiológica 0,9%, estão descritos na tabela 2. As figuras 3 e 4 mostram áreas focais (5%) de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular na pia-máter (região posterior) e as figuras 5 e 6, infiltrado inflamatório linfoplasmocitário na aracnóide (região posterior) dos coelhos do G2, em campos histológicos corados pelas técnicas de HE.

Nenhum animal de G3 apresentou alteração histológica do tecido nervoso e das meninges durante o período de cativeiro. As figuras 7 e 8 mostram tecido nervoso, meninges e vasos sanguíneos normais de coelho do G3.

Tabela 2 – Resultados histológicos do tecido nervoso, de vasos sanguíneos e meninges dos animais pertencentes ao G2

Coelho	Tecido nervoso	Vasos sanguíneos meníngeos	Meninges
1	Normal	Normal	Normal
2	Normal	Normal	Normal
3	Normal	Normal	Normal
4	Normal	Normal	Normal
5	Normal	Normal	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário na pia-máter (região posterior e anterior), <5%
6	Normal	Normal	Normal
7	Normal	Normal	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário na pia-máter (região posterior), <5%
8	Normal	Normal	Normal
9	Normal	Normal	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular focal em aracnóide, <5%
10	Normal	Normal	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular intraparenquimatoso e na pia-máter e aracnóide (região posterior), <5%
11	Normal	Normal	Normal
12	Normal	Normal	Normal

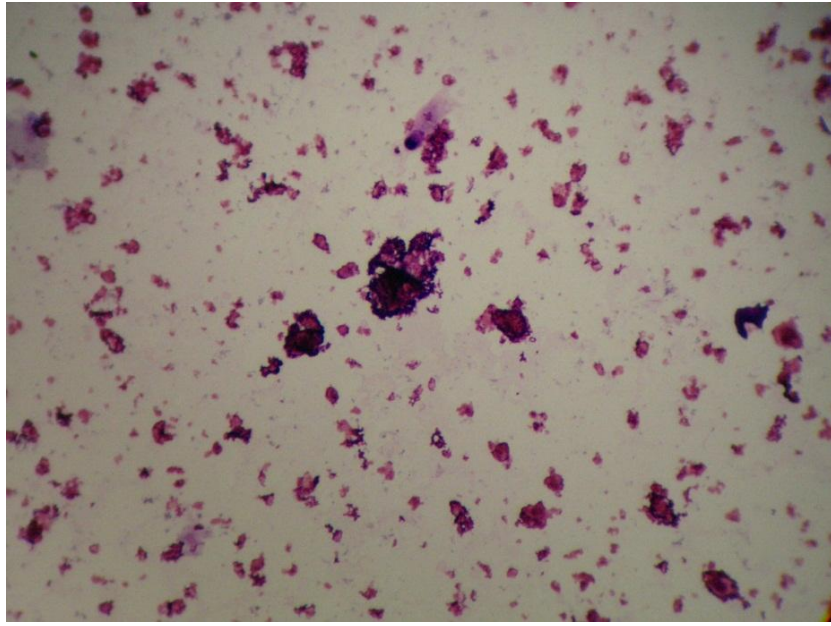


Figura 1 – Pigmentos de tinta. Esfregaço de material coletado da agulha de punção dos animais de G1. Coloração: Giemsa.

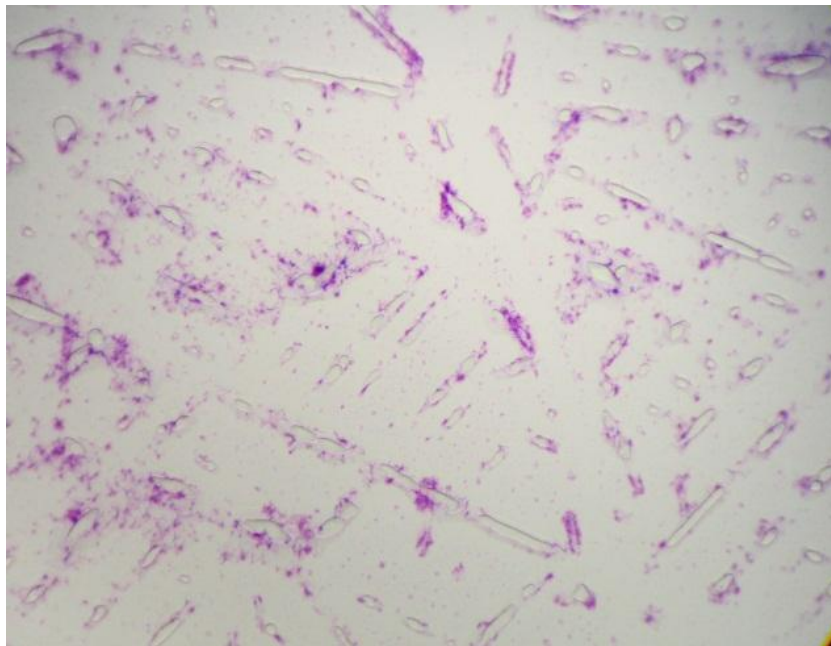


Figura 2 – Esfregaço de solução fisiológica 0,9% corado com Giemsa.

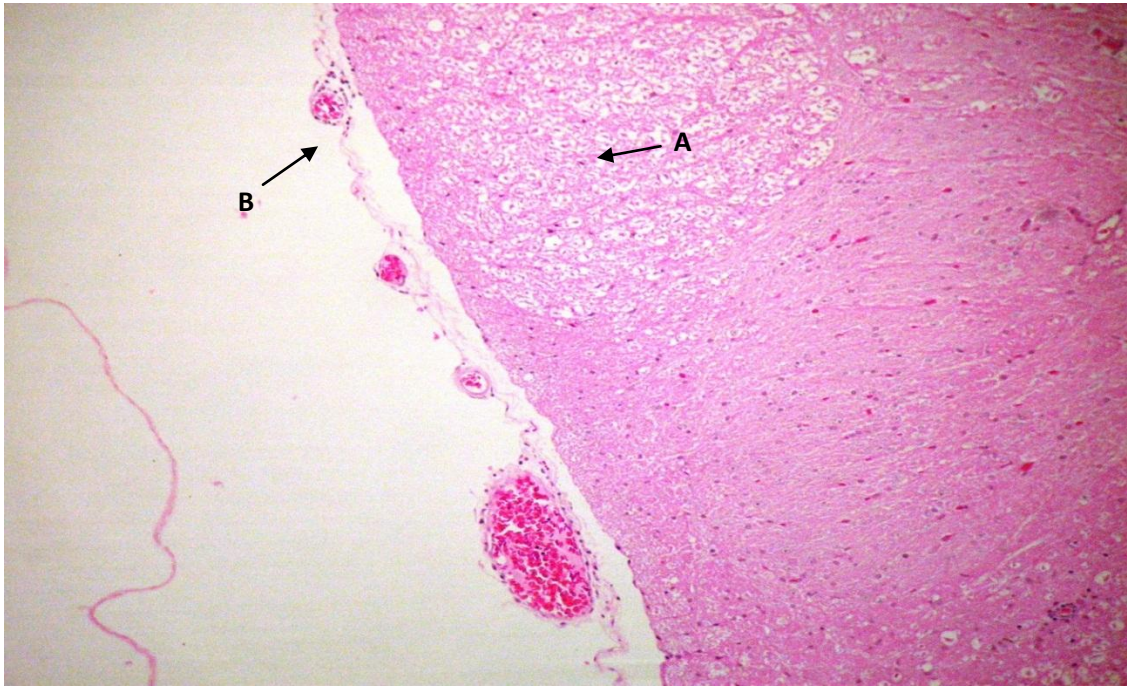


Figura 3 - Tecido nervoso normal (A), vaso sanguíneo com infiltrado linfoplasmocitário na pia-máter (B), HE 100X. Coelho 5 do G2.

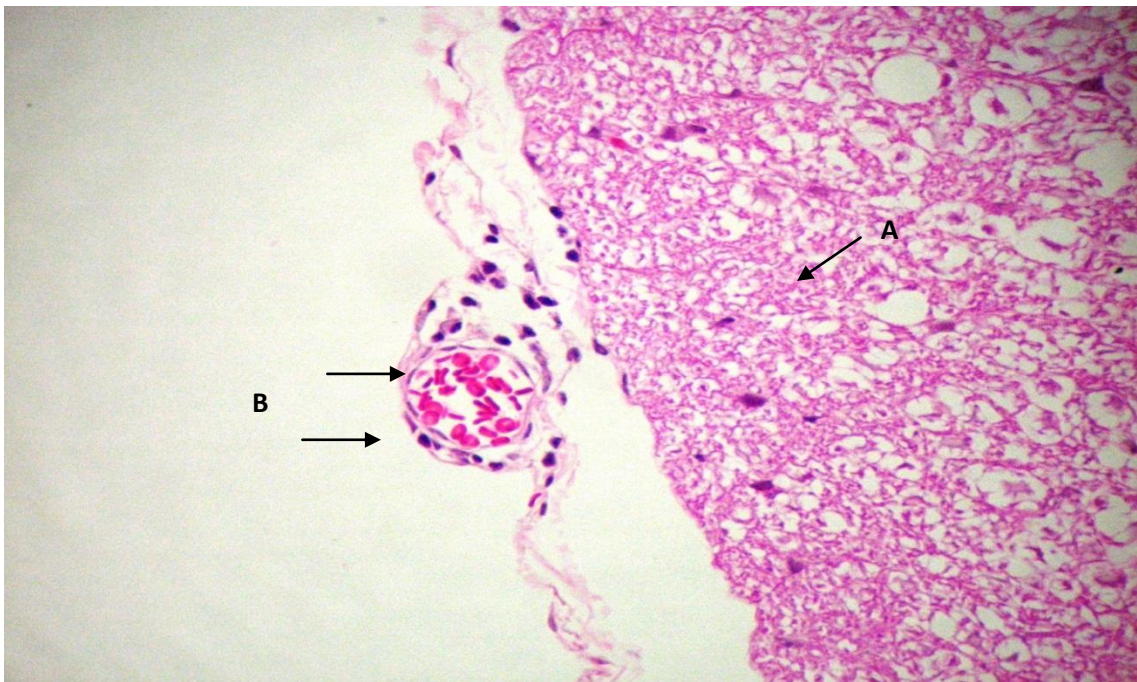


Figura 4 - Tecido nervoso normal (A), vaso sanguíneo com infiltrado linfoplasmocitário na pia-máter (B), HE 400x. Coelho 5 do G2.

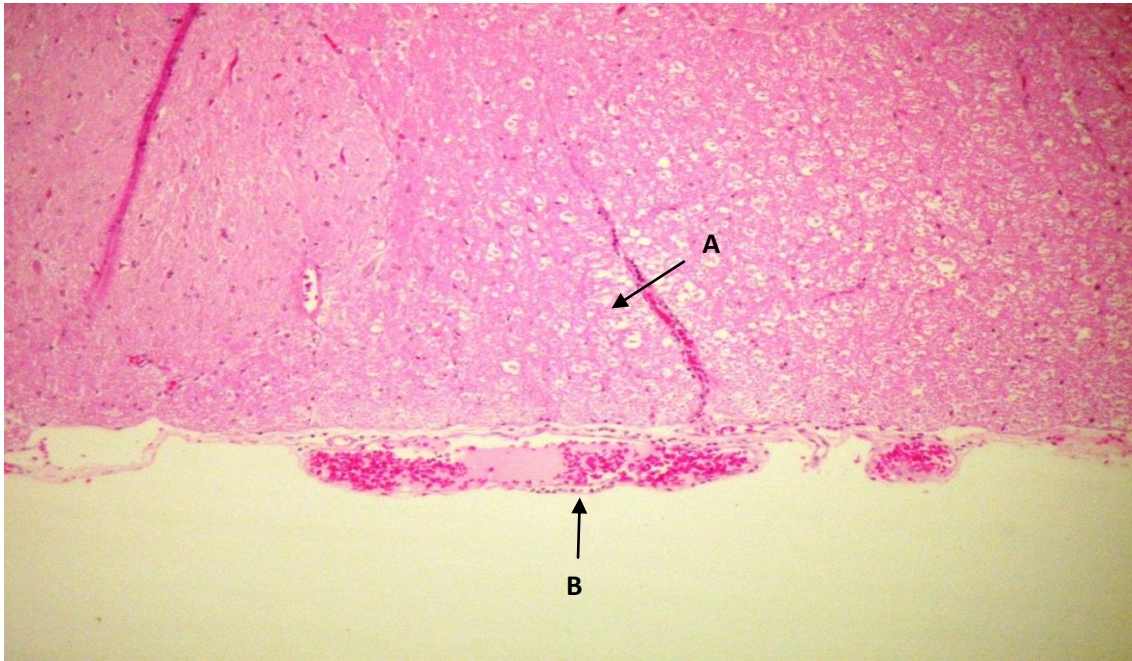


Figura 5 – Tecido nervoso normal (A), infiltrado inflamatório perivascular focal em aracnóide (B), HE 100x. Coelho 9 do G2.

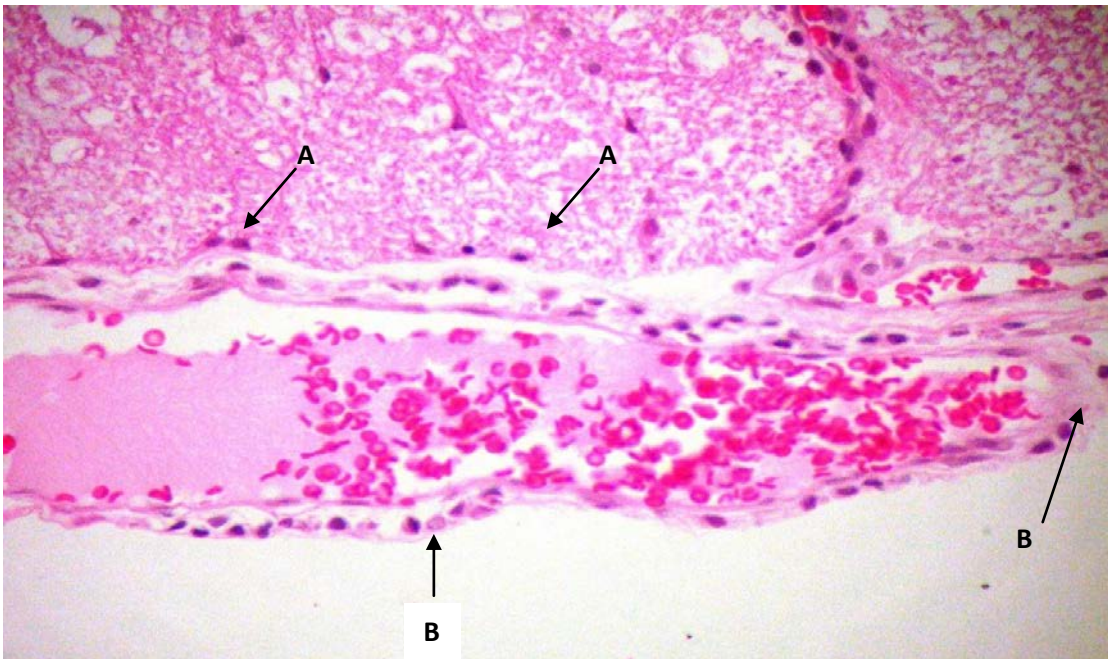


Figura 6 – Tecido nervoso normal (A), infiltrado inflamatório perivascular focal em aracnóide (B), HE 400x. Coelho 9 do G2.

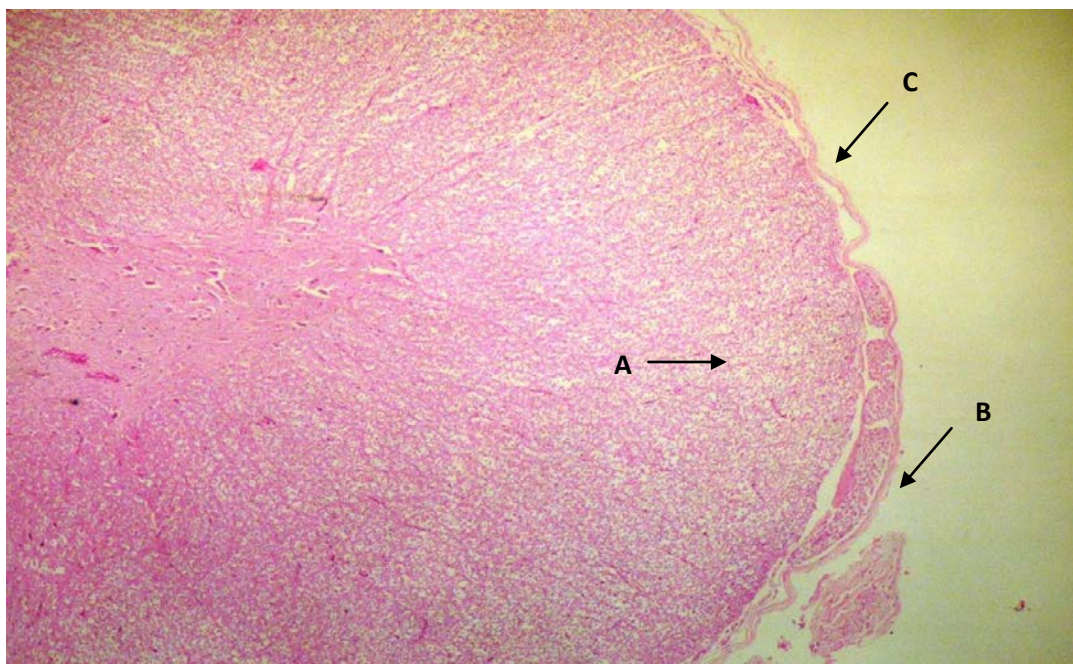


Figura 7 – Tecido nervoso (A), vasos sanguíneos (B) e meninges normais (C). HE 40X. Coelho do G3.

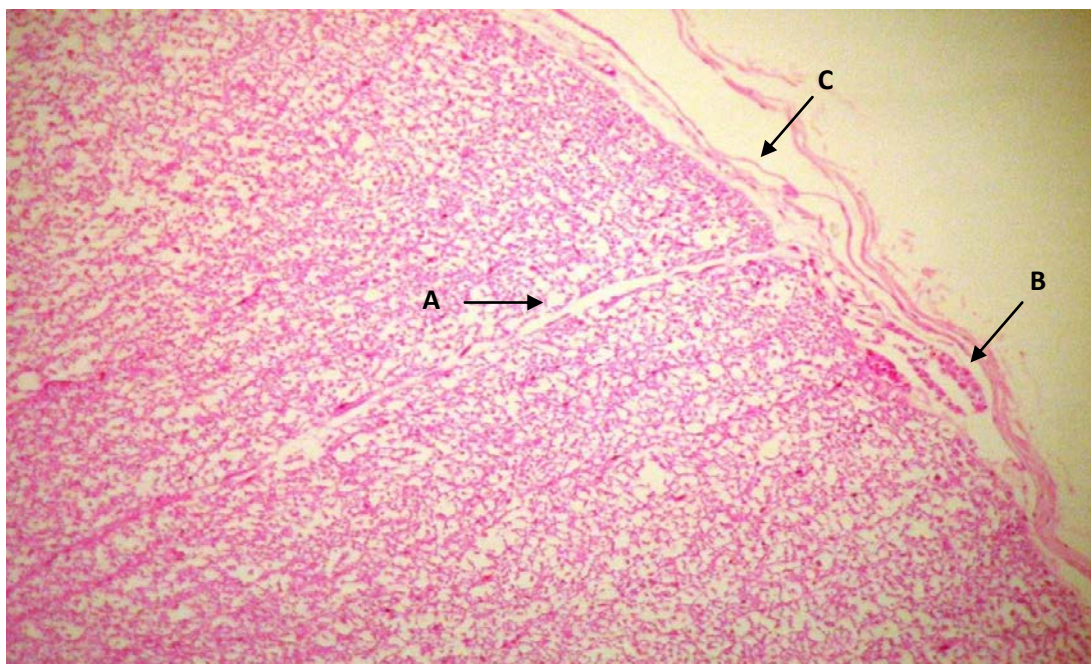


Figura 8 – Tecido nervoso (A), vasos sanguíneos (B) e meninges normais (C). HE 100X. Coelho do G3.

5 Discussão

Os resultados deste estudo mostraram a presença de pigmentos de tinta vermelha nos esfregaços coletados das agulhas de punção subaracnoidea realizada sobre a tatuagem apesar da presença do estilete.

Já havia sido demonstrado que fragmentos de tecido ficam retidos no interior da agulha, independentemente da existência do estilete^{45,46} e que a injeção de líquidos através destas agulhas resultaria na introdução destes fragmentos em locais mais profundos⁴. As agulhas sem estiletos são as mais propensas a reterem fragmentos em seu interior.

Em meados do século passado, foi descrito o desenvolvimento de tumor epidermoide iatrogênico após múltiplas injeções de antibióticos no neuroeixo de crianças⁴⁷. Subsequentemente foram publicados casos similares em adultos⁴⁸⁻⁵¹.

Campbel et al. examinaram microscopicamente as pontas de agulhas de Quincke e Whitacre, calibre 25 G, para avaliar a presença de fragmentos de tecido, após múltiplas tentativas de punção. Eles observaram a presença de coágulos de sangue e fragmentos de gordura, mas não a de tecidos epidérmicos, em 80% das agulhas de Quincke e em 40% das de Whitacre¹⁵.

Puolakka et al. examinaram microscopicamente as pontas de agulhas de Quincke, de Whitacre e de Sprotte, calibre 27G, introduzidas no espaço subaracnoideo de cadáver e encontraram fibras musculares e células epiteliais, principalmente nas agulhas de Quincke (56%)⁵².

Ozyurt et al. coletaram 1 mL de liquor imediatamente após a inserção da agulha de Quincke de calibres 22G, 25G e 27G e relataram a presença de células escamosas no liquor, principalmente nas agulhas de maior calibre⁵³.

Nesta presente pesquisa foram utilizadas agulhas de Quincke de maior calibre, 22 G21/2 com a finalidade de aumentar a possibilidade de detecção de material estranho na ponta da mesma.

Foi escolhido o pigmento vermelho porque ele está associado às reações mais tardias^{22,54-56}. Foi descrito ceratocantoma no interior de área pigmentada de vermelho na tatuagem. Suspeitou-se de que o pigmento vermelho fosse o desencadeador da lesão⁵⁶.

Na presente pesquisa puderam-se constatar alterações histológicas das meninges em 33% dos animais nos quais foram realizadas a injeção de solução fisiológica através de punção realizada sobre a tatuagem (G2), o que não se repetiu em nenhum coelho de G3, nos quais a punção foi realizada em pele sem tatuagem.

Este fato vem demonstrar que, de certa forma, o pigmento de tinta pode ter alcançado o sistema nervoso central, tendo causado inflamação. Os animais permaneceram seis meses em cativeiro e talvez por isso não tenha sido possível detectar sinais inflamatórios agudos. Como as lesões de meninge foram localizadas em áreas focais, elas não comprometeram o tecido nervoso e, portanto, não desencadearam alterações clínicas. Resultados similares são observados em cães com inflamação das meninges, porém sem comprometimento de tecido nervoso⁵⁷.

Alguns autores questionam se o pigmento contido na tatuagem podem desencadear aracnoidite química⁴. Sabe-se que a aracnoidite adesiva pode ser desencadeada por diversos agentes administrados no espaço subaracnoideo ou peridural⁵⁸.

Substâncias como contrastes iodados e corticosteróides administrados no espaço peridural e no subaracnoideo, trauma, sangue, preservativos e conservantes, contidos em muitas soluções, contaminantes, como detergentes e até mesmo anestésicos locais⁵⁸, foram associados à aracnoidite adesiva. Foi possível desencadear aracnoidite adesiva em modelo experimental em cães após injeção subaracnoidea de betametasona⁵⁹ e metilprednisolona⁶⁰ e do antidepressivo amitriptilina⁶¹.

A aracnoidite adesiva possui quadro clínico complexo, com variedade de sintomas e de diagnóstico clínico difícil porque os sinais e sintomas não são específicos⁶². As características clínicas mais frequentes são a dor nas costas, que aumenta de intensidade com a atividade, a dor nas pernas, geralmente bilateral, a hiporreflexia, a diminuição da amplitude da movimentação do tronco, as alterações sensitivas, a dificuldade em manter as pernas elevadas e a disfunção do esfíncter urinário. Inicia-se como processo inflamatório da pia-máter e da aracnoide associado ao edema e à hiperemia das raízes nervosas. Com a evolução da doença, faixas de colágeno começam a se formar entre a pia-máter, a aracnoide e as raízes nervosas, culminando

com a aderência entre estas estruturas. Nesta fase o edema das raízes começa a diminuir⁶³.

A aracnoidite adesiva crônica é a resolução do processo inflamatório crônico no qual se observa depósito denso de colágeno entre as raízes nervosas e as meninges. Há completo encapsulamento das raízes, levando à atrofia das mesmas e comprometimento dos vasos sanguíneos⁶³. Estudos histológicos mostraram vasos sanguíneos com arterite e discute-se se esta é a causa ou o resultado da aracnoidite⁶³. Alterações nas arteríolas, caracterizadas por inflamação e espessamento hialino, foram manifestações iniciais da aracnoidite adesiva desencadeada por contaminação da solução do anestésico local pelo antisséptico em modelo experimental⁶⁴.

Na presente pesquisa pôde-se constatar a presença de infiltrado inflamatório perivascular na pia-máter e na aracnóide de alguns animais do G2, o que indica que houve processo inflamatório. Como não foi observado espessamento hialino na parede das arteríolas, característica comum na aracnoidite adesiva crônica, pôde-se inferir que o processo inflamatório foi mais brando. Talvez isso tenha ocorrido porque a quantidade de material conduzido ao espaço subaracnoideo tenha sido pequena. Se houve inicialmente uma reação inflamatória mais intensa, seis meses após a introdução do pigmento, esta pode ter regredido. Ou, se esta reação inflamatória estivesse apenas iniciando, não houve tempo para que ela fosse desenvolvida em sua plenitude.

Como limitação do estudo existiu o fato de que não foram encontrados pigmentos de tinta no sistema nervoso central dos animais de G2, porém, fala a favor de que alguma substância diferente atingiu o sistema nervoso, é que nenhum animal de G3 apresentou alterações histológicas nas meninges. Outro fator limitante foi o tempo de permanência dos animais em cativeiro que pode ter sido insuficiente para que a lesão histológica se estabelecesse.

Há necessidade de que novas pesquisas sejam realizadas para melhor elucidar esta questão.

6 Conclusão

Neste modelo experimental em coelhos, a punção subaracnoidea sobre a pele tatuada determinou alterações histológicas nas meninges, mas não no tecido nervoso medular.

Foram encontrados fragmentos de tinta vermelha provenientes da tatuagem no interior das agulhas de punção apesar da presença do estilete.

7 Referências

1. Memphis Archaeological and Geological Society (MAGS). 5.300 – year old ice man. MAGS Rockhound. 2003;49:1.
2. www.portaltattoo.com/tatuagem/historia.
3. Laumann AE, Derick AJ. Tattoos and body piercings in the United States: a national data set. *J Am Acad Dermatol*. 2006;55:413-21.
4. Douglas MJ, Swenerton JE. Epidural anesthesia in three parturients with lumbar tattoos: a review of possible implications. *Can J Anaesth*. 2002; 49: 1057-60.
5. Sleth JC. Epidural anaesthesia and lumbar tattoo. *Histology of tattoo: the missing link? Ann Fr Anesth Reanim*. 2007; 26:266-7.
6. Lea PJ, Pawlowski A. Human tattoo. Electron microscopic assessment of epidermis, epidermal-dermal junction, and dermis. *Int J Dermatol*. 1987; 26: 453-8.
7. Goldstein AP. VII. Histologic reactions in tattoos. *J Dermatol Surg Oncol*. 1979; 5: 896-900.
8. Mann R, Klingmüller G. Electron-microscopic investigation of tattoos in rabbit skin. *Arch Dermatol Res*. 1981; 271:367-72.
9. Fujita H, Nishii Y, Yamashita K, Kawamata S, Yoshikawa K. The uptake and long-term storage of India ink particles and latex beads by fibroblasts in the dermis and subcutis of mice, with special regard to the non-inflammatory defense reaction by fibroblasts. *Arch Histol Cytol*. 1988; 51:285-94.
10. Timko AL, Miller CH, Johnson FB, Ross E. In vitro quantitative chemical analysis of tattoo pigments. *Arch Dermatol*. 2001; 137:143-7.
11. Kuczkowski KM. Epidural anesthesia in three parturients with lumbar tattoos: a review of possible implications [letter]. *Can J Anesth*. 2004;51:93.

12. Corazza M, Zampino MR, Montanari A, Pagnoni A, Virgili A. Lichenoid reaction from a permanent red tattoo: has nickel a possible aetiologic role? *Contact Dermatitis*. 2002; 46:114-5.
13. Mercier FJ, Bonnet MP. Tattooing and various piercing: anaesthetic considerations. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2009; 22:436-41.
14. Jacob CI. Tattoo-associated dermatoses: a case report and review of the literature. *Dermatol Surg*. 2002;28:962-5.
15. Campbell DC, Douglas MJ, Taylor G. Incidence of tissue coring with the 25-gauge Quincke and Whitacre spinal needles. *Reg Anesth*. 1996;21:582-5.
16. Amann U, Luger TA, Metze D. Lichenoid pseudolymphomatous tattooing reaction.[German]. *Hautarzt*. 1997;48:410-3.
17. Bendsoe N, Hansson C, Sterner O. Inflammatory reactions from organic pigments in red tattoos. *Acta Derm Venereol*. 1991; 71:70-3.
18. Chung WH, Chang YC, Yang LJ, Hung SI, Wong WR, Lin JY, Chan HL. Clinicopathologic features of skin reactions to temporary tattoos and analysis of possible causes. *Arch Dermatol*. 2002; 138: 88-92.
19. Greve B, Chytry R, Raulin C. Contact dermatitis from red tattoo pigment (quinacridone) with secondary spread. *Contact Dermatitis* 2003; 49: 265-6.
20. Le Coz CJ, Lefebvre C, Keller F, Grosshans E. Allergic contact dermatitis caused by skin painting (pseudotattooing) with black henna, a mixture of henna and p-phenylenediamine and its derivatives. *Arch Dermatol*. 2000; 136: 1515-7.
21. Long GE, Rickman LS. Infectious complications of tattoos. *Clin Infect Dis*. 1994; 18: 610-9.
22. Sowden JM, Byrne JP, Smith AG, Hiley C, Suarez V, Wagner B, Slater DN. Red tattoo reactions: X-ray microanalysis and patch-test studies. *Br J Dermatol*. 1991; 124: 576-80.

23. Welliver D, Welliver M, Carroll T, James P. Lumbar epidural catheter placement in the presence of low back tattoos: a review of the safety concerns. *AANA J.* 2010; 78: 197-201.
24. Kluger N, Durand L, Minier-Thoumin C, Plantier F, Cotten H, Berteloot E, et al. Pseudoepitheliomatous epidermal hyperplasia in tattoos: report of three cases. *Am J Clin Dermatol.* 2008; 9: 337-40.
25. Mavropoulos A, Camann W. Use of a lumbar tattoo to aid spinal anesthesia for cesarean delivery. *Int J Obstet Anesth.* 2009; 18: 98-9.
26. Jack CM, Adwani A, Krishnan H. Tattoo pigment in an axillary lymph node simulating metastatic malignant melanoma. *Int Semin Surg Oncol.* 2005; 2: 28.
27. Kuczkowski KM. Labour analgesia in a parturient with lumbar tattoo: a routine management? or not? *Can J Anaesth.* 2004; 51: 93.
28. Gaspar A, Serrano N. Neuroaxial blocks and tattoos: a dilemma? *Arch Gynecol Obstet.* 2010; 282: 255-60.
29. Sleth JC, Guillot B, Kluger N. Lumbar tattoos and neuraxial anaesthesia in obstetrics: practice survey in Languedoc-Roussillon, France. *Ann Fr Anesth Reanim.* 2010; 29: 397-401.
30. Sleth JC. Epidural anaesthesia and lumbar tattoo. Histology of tattoo: the missing link?. *Ann Fr Anesth Reanim.* 2007; 26: 266-7.
31. Kluger N, Sleth JC, Guillot B. Lumbar tattoos and lumbar puncture: the emperor's new clothes? *Can J Anaesth.* 2007; 54: 855.
32. Kluger N, Freitag S, Guillot B, Sleth JC. Why puncturing a lumbar tattoo during epidural analgesia cannot induce an epidermoid tumor. *Reg Anesth Pain Med.* 2010; 35:317.
33. Raynaud L, Mercier FJ, Auroy Y, Benhamou D; SOS ALR. Epidural anaesthesia and lumbar tattoo: what to do?. *Ann Fr Anesth Reanim.* 2006; 25: 71-3.

34. Kuczkowski KM. Labor analgesia for the parturient with lumbar tattoos: what does an obstetrician need to know? *Arch Gynecol Obstet.* 2006; 274: 310-2.
35. Taleço T, Arese M, Ferreira E, Osório I, Monteiro F. Bloqueios do neuroeixo em parturientes com tatuagem na região lombar. Qual o estado da arte? *Rev Anest Reg Ter.* 2005; 40: 18-24
36. López Navarro AM, Matoses S, Gallego J, Peiró C, Galán S, Bustos M. Tattoos along the lumbar median line and epidural anesthesia. *Rev Esp Anesthesiol Reanim.* 2003; 50: 491-3.
37. Kuczkowski KM. Lumbar tattoos and lumbar epidural analgesia: still a matter of concern? *Arch Gynecol Obstet.* 2008; 278: 199-200.
38. Santos ALQ, Lima EMM, Santana MIS. Length of spinal cord and topography of medular cone in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Biosciene Journal (UFU).* 1999; 15: 45-62.
39. Rosen MA, Baysingher CL, Shnider SM et al. Evaluation of neurotoxicity after subarachnoid injection of large volumes of local anesthetic solutions. *Anesth Analg.* 1983; 62: 802-8.
40. Selander D, Brattsand R, Lundorf G, Nordborg C, Olsson Y. Local anaesthesia, importance of mode of application, concentration and adrenaline for the appearance of nerve lesions. An experimental study of axonal degeneration and barrier damage after intrafascicular injection or topical application on bupivacaine (marcaine^R). *Acta Anaesth Scand.* 1979; 23: 127-36.
41. Rice AS McMahan SB. Peripheral nerve injury caused by injection needles used in regional anaesthesia: influence of bevel configuration, studied in a rat model. *Br J Anaesth.* 1992; 69: 433-8.
42. Ready LB, Plumer MH, Haschke RH, Austin E, Sumi SM. Neurotoxicity of intrathecal local anesthetics in rabbits. *Anesthesiology.* 1985; 63: 364-370.

43. Drummond JC, Moore SS. The influence of dextrose administration on neurological outcome after temporary spinal cord ischemia in the rabbit. *Anesthesiology*. 1989; 70: 64-70.
44. Okagawa SR, Ganem EMG, Marques ME, Castiglia YMM. Efeitos de concentrações crescentes de lidocaína hiperbárica, administradas no espaço subaracnóideo, sobre a medula espinhal e as meninges. Estudo experimental no cão. *Rev Bras Anesthesiol*. 2006; 56: 253-62.
45. Charlebois PA. Coring: the unseen menace. *Can Anaesth Soc J*. 1966; 13: 585-97.
46. Brandus V. The spinal needle as a carrier of foreign material. *Can Anaesth Soc J*. 1968; 15: 197-201.
47. Choremis C, Economos D, Gargoulas A, Papadatos C. Intraspinal epidermoid tumours (cholesteatomas) in patients treated for tuberculous meningitis. *Lancet*. 1956; 271: 437-9.
48. Tabaddor K, Lamorgese JR. Lumbar epidermoid cyst following single spinal puncture. Case report. *J Bone Joint Surg Am*. 1975; 57: 1168-9.
49. Gardner DJ, O'Gorman AM, Blundell JE. Intraspinal epidermoid tumour: late complication of lumbar puncture. *CMAJ*. 1989; 141: 223-5.
50. Reina MA, López-García A, Dittmann M, de Andrés JA, Blázquez MG. Iatrogenic spinal epidermoid tumors. A late complication of spinal puncture. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*. 1996; 43: 142-6.
51. McDonald JV, Klump TE. Intraspinal epidermoid tumors caused by lumbar puncture. *Arch Neurol*. 1986; 43: 936-9.
52. Puolakka R, Andersson LC, Rosenberg PH. Microscopic analysis of three different spinal needle tips after experimental subarachnoid puncture. *Reg Anesth Pain Med*. 2000; 25: 163-9.

53. Ozyurt G, Moğol EB, Tolunay S, Kerimoğlu B. Tissue coring with spinal needles. *Reg Anesth Pain Med.* 2000; 25: 665.
54. Mortimer NJ, Chave TA, Johnston GA. Red tattoo reactions. *Clin Exp Dermatol.* 2003; 28: 508-10.
55. Sowden JM, Cartwright PH, Smith AG, Hiley C, Slater DN. Sarcoidosis presenting with a granulomatous reaction confined to red tattoos. *Clin Exp Dermatol.* 1992; 17: 446-8.
56. Kluger N, Minier-Thoumin C, Plantier F. Keratoacanthoma occurring within the red dye of a tattoo. *J Cutan Pathol.* 2008; 35: 504-7.
57. Rijdsdijk M, van Wijck AJM, Kalkman CJ, Meulenhoff PCW, Grafe MR, Steinauer J, Yaksh TL. Safety assessment and pharmacokinetics of intrathecal methylprednisolone acetate in dogs. *Anesthesiology.* 2012; 116: 170-81.
58. Rice I, Wee MY, Thomson K. Obstetric epidurals and chronic adhesive arachnoiditis. *Br J Anaesth.* 2004; 92: 109-20.
59. Barros GA, Marques ME, Ganem EM. The effects of intrathecal administration of betamethasone over the dogs' spinal cord and meninges. *Acta Cir Bras.* 2007; 22: 361-5.
60. Lima RM, Navarro LHC, Carness JM, Barros GM, Marques MEA, Solanski D, Ganem EM. Clinical and histological effects of intrathecal administration of methylprednisolone in dogs. *Pain Physician.* 2010; 13: 493-501.
61. Fukushima FB, Barros GA, Marques ME, Vidal EI, Ganem EM. The neuraxial effects of intraspinal amitriptyline at low concentrations. *Anesth Analg.* 2009; 109: 965-71.
62. Hoffman GS. Spinal arachnoiditis. What is the clinical spectrum? I. *Spine.* 1983; 8: 538-40.

63. Weston-Hurst E. Adhesive arachnoiditis and vascular blockage caused by detergents and other chemical irritants: an experimental study. *J Path Bact.* 1955; 70: 167-8.
64. Ganem EM, Vianna PTG, Marques M, Módolo NSP, Braz JRC. Effects of hyperbaric 0,5% bupivacaine contaminated with antiseptic solutions on spinal cord and meninges. Experimental study in dogs. *Reg Anesth.* 1993; 18 (S): 42.