

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE COMO
POTENCIALIZADOR DA CICATRIZAÇÃO DE RETALHOS
CUTÂNEOS TUBULARES DE PADRÃO SUBDÉRMICO
DIRETOS EMPREGADOS EM COELHOS (*Oryctolagus
cuniculus*).**

**Julielton de Souza Barata
Médico Veterinário**

2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE COMO
POTENCIALIZADOR DA CICATRIZAÇÃO DE RETALHOS
CUTÂNEOS TUBULARES DE PADRÃO SUBDÉRMICO
DIRETOS EMPREGADOS EM COELHOS (*Oryctolagus
cuniculus*).**

Julielton de Souza Barata

Orientador: Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi

Coorientador (a): Prof. Dr. Jorge Luiz Costa Castro

Coorientador (a): Prof^a. Dr^a. Marília Gabriele Prado A. Ferreira

**Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – UNESP – Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do título de Mestre em Cirurgia
Veterinária.**

2018

B226u

Barata, Julielton de Souza

Uso do laser de baixa intensidade como potencializador da cicatrização de retalhos cutâneos tubulares de padrão subdérmico diretos empregados em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). / Julielton de Souza Barata. -- Jaboticabal, 2018

31 p. : fotos + 1 CD-ROM

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Andrigo Barboza De Nardi

Coorientador: Jorge Luiz Costa Castro

1. Cirurgia reconstrutiva. 2. Laserterapia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: USO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE COMO POTENCIALIZADOR DA CICATRIZAÇÃO DE RETALHOS CUTÂNEOS TUBULARES DE PADRÃO SUBDÉRMICO DIRETOS EMPREGADOS EM COELHOS (*Oryctolagus cuniculus*)

AUTOR: JULIELTON DE SOUZA BARATA

ORIENTADOR: ANDRIGO BARBOZA DE NARDI

COORIENTADOR: JORGE LUIZ COSTA CASTRO

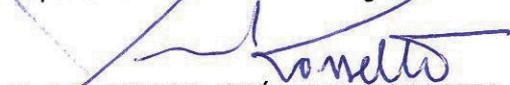
COORIENTADORA: MARÍLIA GABRIELE PRADO ALBUQUERQUE FERREIRA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ANDRIGO BARBOZA DE NARDI

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. VICTOR JOSÉ VIEIRA ROSSETTO

UNIRP-Centro Universitário de Rio Preto / São José do Rio Preto/SP



Pós-doutoranda JOSIANE MORAIS PAZZINI

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 22 de junho de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JULIELTON DE SOUZA BARATA - nascido no dia 01 de setembro de 1989, natural de Cariacica- ES. Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Espírito Santo, no ano de 2013. Na graduação realizou monitoria das disciplinas Anatomia Veterinária I e II, Parasitologia Veterinária, Anestesiologia Veterinária, Técnica Cirúrgica, Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais e Oncologia Veterinária. Desenvolveu um projeto de iniciação científica na área de Anatomia Veterinária orientado pelo Prof. Dr. Douglas Severo Silveira, e outros dois na área de Cirurgia Experimental orientado pela Prof^a. Dr^a Leticia Leal Oliveira. Durante a graduação, participou de vários cursos e estágios, sendo a maioria relacionados com as áreas de Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais. Possui Residência Médica Veterinária em Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais pela Universidade Federal Fluminense durante o período de março de 2014 a abril de 2016, orientado pela Prof^a Dr^a Maria de Lourdes Gonçalves Ferreira. Período em que participou de projetos de pesquisa relacionados com as áreas de Cirurgia de Pequenos animais e Oncologia Veterinária. Publicou artigos científicos e resumos em congressos relacionados a essas áreas. Neste período também ministrou palestras, cursos e aulas relacionados à Cirurgia Reconstructiva. Em outubro de 2015 foi aprovado no Programa de Pós-Graduação (Mestrado) em Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP - Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi, com início em março de 2016, iniciando a linha de pesquisa em Cirurgia Reconstructiva especificamente estudando retalhos cutâneos tubulares, laserterapia, termografia e complicações em Cirurgia Reconstructiva. Atuou nos serviços de Oncologia Veterinária e Cirurgia Reconstructiva do Hospital Veterinário da FCAV/UNESP- Jaboticabal. Participou de bancas examinadoras, comissões de avaliação científica e revisão de periódicos. Ministrou aula em disciplina da pós-graduação, palestras e cursos. Todos relacionados a Oncologia e Cirurgia Veterinária. Participa como colaborador na execução de dois projetos de mestrado e Doutorado com ênfase em Cicatrização e Cirurgia Intestinal, respectivamente, ambos desenvolvidos nesta instituição. Atualmente é Docente na Universidade Castelo Branco.

Dedico este trabalho a minha família

AGRADECIMENTOS

A Deus, acima de tudo, e àqueles que me guiam e me protegem, por me colocarem a frente de novos desafios e permitirem que eu saia cada vez mais forte.

Aos meus familiares por todo seu apoio e amor incondicional. Em especial a minha mãe Maria de Lourdes Barata, meu pai Juvenal Barata, meu irmão Rodrigo Barata e minha sobrinha Maria Vitória Barata.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi, por permitir que esta etapa de minha jornada chegasse até aqui. Obrigado por todas as oportunidades profissionais, pela confiança, pela orientação, pelo trabalho em conjunto. Obrigado por me integrar como parte de sua equipe

As Professoras, doutoras, Rosemeri de Oliveira Vasconcelos e Marília Gabriele A. Ferreira. Um sincero agradecimento por toda a colaboração para a realização desde estudo.

A minha grande família de Jaboticabal, grandes amigos que o mestrado me proporcionou. Amigos queridos que sempre estiveram ao meu lado Igor Senhorello, Bruno Cristian, Nazilton Reis, Paulo Jark, Vinícios Gregório, Juliana Ribeiro, Thunny Lopes, Ana Pascoli e Lúcia Izique.

A toda a equipe que compôs o grupo do meu experimento, Stephanie Gambardela, Thunny Lopes, Juliana Ribeiro, Cleber Ido, Jorge Alvarez, Bruna Firmo, Andresa Matsui e Profa. Paola, por toda a ajuda e dedicação.

A toda equipe do Serviço de Oncologia Veterinária, Residentes, Pós-graduandos e funcionários do Hospital Veterinário Unesp – FCAV. Agradeço pelo convívio e troca de experiências diárias.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE FIGURAS	v
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1.1 INTRODUÇÃO	1
1.2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
1.2.1 Anatomia cirúrgica	2
1.2.1.1 Estruturas da pele	2
1.2.1.2 Circulação cutânea.....	3
1.2.1.3 Cicatrização da pele	4
1.2.2 Retalhos cutâneos	6
1.2.2.1 Retalhos cutâneos tubulares	6
1.2.3 Fototerapia.....	8
1.2.3.1 Aplicação clínica do LBI.....	9
1.2.3.2 Interação do LBI no processo cicatricial	11
1.3 REFERÊNCIAS.....	11
CAPÍTULO 2 - Efeitos do laser de baixa intensidade em retalhos tubulares de padrão subdérmico diretos em coelhos (<i>Oryctolagus cuniculus</i>).....	16
ABSTRACT e RESUMO	16
INTRODUÇÃO	17
MATERIAL E MÉTODOS	17
RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
CONCLUSÕES	27
REFERÊNCIAS	27
APÊNDICE	29

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



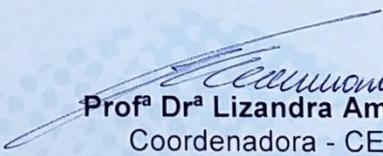
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “**Uso do laser de baixa potência como agente estimulador da reparação tecidual em retalhos cutâneos tubulares de padrão subdérmico empregados em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*)**”, protocolo nº 7887/16, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Andrigo Barboza De Nardi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado “Ad-referendum” pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP – CÂMPUS DE JABOTICABAL – SP.

Vigência do Projeto	01/10/2016 a 20/06/2017
Espécie / Linhagem	<i>Oryctolagus cuniculus</i> / Nova Zelândia
Nº de animais	40
Peso / Idade	1,5kg / 45 dias
Sexo	Fêmeas
Origem	Biotério/criadouro Botucatu-SP.

Jaboticabal, 18 de outubro de 2016.


Profª Drª Lizandra Amoroso
 Coordenadora - CEUA

**USO DO LASER DE BAIXA INTENSIDADE COMO POTENCIALIZADOR DA
CICATRIZAÇÃO DE RETALHOS CUTÂNEOS TUBULARES DE PADRÃO
SUBDÉRMICO DIRETOS EMPREGADOS EM COELHOS (*Oryctolagus
cuniculus*).**

RESUMO - Atualmente o retalho tubular de padrão subdérmico destinado à reconstrução da extremidade de membros é realizado de forma indireta, implicando em um processo de reconstrução composto por múltiplas fases de cirurgia. Além dos riscos inerentes a sucessivos procedimentos anestésicos, este processo pode levar ao aumento da morbidade do paciente e elevar o custo do tratamento, sendo que conseqüentemente, observa-se a subutilização da técnica na rotina em Medicina Veterinária. O presente estudo teve o objetivo de avaliar a ação do laser de baixa intensidade na preservação da vitalidade tecidual de retalhos de padrão subdérmico aplicados de forma direta para a reconstrução de defeitos na extremidade do membro torácico em coelhos. Quarenta coelhos foram divididos aleatoriamente em dois grupos com 20 animais cada, assim especificados: Grupo A – submetidos à técnica de retalho tubular de padrão subdérmico tratados com laser a cada 48 horas (GT) e Grupo B – submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico, porém não receberam o tratamento com laser (GC). Os dois grupos foram subdivididos em quatro grupos com cinco animais cada, sendo nesses subgrupos realizado avaliações macroscópicas e eutanásia em diferentes dias no pós-operatório (4, 8, 16, e 22 dias de pós-operatório). Após a obtenção do retalho tubular, o material foi clivado na região de interface distal entre o retalho e leito receptor para avaliação microscópica. A análise dos dados evidenciou que tanto os animais do grupo GL quanto os animais do grupo GC apresentaram a maior parte do retalho tubular viável, mas a presença de necrose foi visualizada de forma frequente nos animais do GC aos 4 ($p=0,0384$) e 8 ($p=0,0384$) dias de pós-operatório. Houve também associação significativa ($p<0,0001$) entre neovascularização discreta e ausência de necrose nos animais do GL aos 4 dias. Aos 22 dias de pós-operatório a ausência de neovascularização estava associada ($p<0,0001$) a necrose discreta nos animais do GC. Dessa forma, é possível afirmar que o retalho tubular de padrão subdérmico direto pode ser empregado em coelhos, mesmo com um ângulo de rotação maior que 90 graus. Entretanto, há a necessidade de busca por estudos que comprovem a viabilidade da técnica empregada em outras espécies. O laser de baixa intensidade na dose e frequência empregadas neste estudo se mostrou eficaz em promover neovascularização e evitar complicações relacionadas a hipóxia e inflamação tecidual.

Palavras-chave: angiogênese, cirurgia reconstrutiva, laserterapia, retalho tubular

EFFETS OF LOW LASER THERAPY ON DIRECT TUBULAR SUBDERMAL PATTERN FLAPS IN RABBITS (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*)

ABSTRACT - The tubular flap of the subdermal pattern applied for limb reconstruction is performed indirectly, implying in multiple steps reconstruction process. Beyond the risks inherent to several anesthetic procedures, the whole process can lead to an increase in patient's morbidity and in total cost of treatment. Consequently, it could lead to the underutilization of the technique in the Veterinary Medicine routine. The aim of the present study was evaluate the action of low intensity laser in the preservation of the tissue vitality of subdermal patches applied directly to the reconstruction of defects at the extremity of the thoracic limb of rabbits. Forty rabbits were randomly divided into two groups with 20 animals each. Group A - submitted to the technique of tubular flap of subdermal pattern treated with laser every 48 hours (LG) and Group B - submitted to the same surgical procedure, but didn't undergo to the laser treatment (CG). The two groups were further subdivided into four groups with five animals each, and in each subgroups, the patients were submmited to macroscopic evaluations and euthanasia procedure were performed on different postoperative days (4, 8, 16, and 22 postoperative days). After obtaining the tubular flap, the material was cleaved at the distal interface region between the flap and recipient bed for microscopic evaluation. Data analysis showed that both TG and CG presented viability on the tubular flap, but the presence of necrosis was frequently seen in CG animals at 4 ($p = 0.0384$) and 8 ($p = 0.0384$) postoperative days. There was also a significant association ($p < 0.0001$) between mild neovascularization and absence of necrosis in TG animals at 4 postoperative days. At 22 postoperative days the absence of neovascularization was associated ($p < 0.0001$) with the mild necrosis in CG. In conclusion, it is possible to state that the tubular flap of direct subdermal pattern can be used in rabbits. However, it is necessary more studies to prove the viability of this technique in other species. The low intensity dose and frequency laser used in this study was shown to be effective in promoting neovascularization and avoid complications related to hypoxia and tissue inflammation.

Key words: angiogenesis, reconstructive surgery, laser therapy, tubular flap

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Vascularização cutânea. Jaboticabal, 2017.....3

CAPÍTULO 2

Figura 1. Distribuição esquemática dos 40 animais em grupos. Jaboticabal, 2017..18

Figura 2. Imagens fotográficas do planejamento da criação do defeito e retalho cutâneo com demarcação das linhas de incisão da pele. Jaboticabal, 2017.....19

Figura 3. Imagens fotográficas da técnica cirúrgica de retalho de padrão subdérmico direto para a reconstrução de defeito em extremidade de membro torácico direito. Jaboticabal, 2017.....20

Figura 4 Imagens fotográficas da técnica de laserterapia. Jaboticabal, 2017.....21

Figura 5. Imagens fotográficas do tubo de pele contendo as margens do leito doador e receptor após a necropsia associada a representação esquemática da área pré-determinada para a clivagem e processamento para análise histopatológica. Jaboticabal, 2017.....22

Figura 6. Imagens fotográficas de retalhos tubulares de padrão subdérmico em coelhos dos diferentes grupos durante os 4 momentos distintos da avaliação macroscópica. Jaboticabal, 2017.....23

Figura 7. Fotomicrografia de pele de coelho submetido a técnica de retalho cutâneo tubular. Jaboticabal, 201724

Figura 8. Mapa perceptual mostrando associação entre as categorias do GC avaliadas na região distal do retalho cutâneo tubular. Jaboticabal, 2017.....25

Figura 9. Fotomicrografia de pele de coelho submetido a técnica de retalho cutâneo tubular. Jaboticabal, 2017.....25

Figura 10. Mapa perceptual mostrando associação entre as categorias do GL avaliadas na região distal do retalho cutâneo tubular.....26

Figura 11. Fotomicrografia de pele de coelho submetido a técnica de retalho cutâneo tubular.....	26
---	----

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1.1 INTRODUÇÃO

A cirurgia reconstrutiva é o conjunto de técnicas utilizadas com o objetivo de reparar defeitos de diversas origens como traumas, anomalias congênitas e após a ressecção de neoplasias (PAVLETIC, 2007; MACPHAIL, 2013; CASTRO et al., 2015).

Nos últimos anos diversas e inovadoras técnicas de cirurgia reconstrutiva foram desenvolvidas e debatidas por pesquisadores para o tratamento de extensas feridas (PARGANA, 2009; REIS FILHO 2015). Paralelamente, a busca por novas técnicas que possam minimizar complicações comuns a essas cirurgias foram igualmente discutidas (REIS FILHO, 2015; PAZZINI, 2016; HEIDARI et al., 2017).

Dentre as técnicas de cirurgia reconstrutiva, os retalhos cutâneos são amplamente utilizados em Medicina Veterinária. Entretanto, o processo de reconstrução pode ser desafiador dependendo da localização anatômica, como ocorre na extremidade dos membros por se tratar de uma região desprovida de pele doadora. Nesses casos as alternativas de reconstrução podem ser: retalhos de padrão axial, retalhos de padrão subdérmico ou enxertos cutâneos (PAVLETIC, 2010).

Os retalhos tubulares de padrão subdérmico representam uma boa opção para a reconstrução de defeitos localizados na extremidade dos membros. Porém, é preconizado que o processo de reconstrução seja realizado em mais de uma etapa, com o objetivo de melhorar a vascularização do retalho (HUPPES et al., 2015).

A escassez de estudos que possam comprovar métodos adjuvantes para preservação da vitalidade tecidual e conseqüentemente reduzir taxas de complicações em retalhos tubulares de padrão subdérmico induz o questionamento sobre sua aplicação em apenas um tempo cirúrgico, criando a necessidade do uso de retalhos tubulares indiretos, o que contribui para o aumento da morbidade, aumentando as chances de insucesso. Além disso eleva o custo do tratamento. Desta forma, torna-se necessário a busca de novas técnicas promotoras da angiogênese tecidual, a fim de assegurar a manutenção da viabilidade cutânea e

estímulo da cicatrização na implantação do retalho cutâneo tubular de padrão subdérmico de forma direta, com a finalidade de reduzir a exposição do paciente ao risco de sucessivos procedimentos cirúrgicos, bem como reduzir a morbidade do paciente durante a recuperação pós-operatória.

Perante a problemática exposta, objetiva-se com o presente estudo elucidar a ação do laser de baixa intensidade como estimulador da neovascularização, bem como sua atuação na manutenção da vitalidade tecidual e cicatrização de retalhos cutâneos tubulares de padrão subdérmico diretos coelhos.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 Anatomia cirúrgica

1.2.1.1 Estruturas da pele

Segundo Pavletic (2007), o conhecimento anatômico da pele é extremamente importante para o planejamento e aplicação de técnicas cirúrgicas reconstrutivas em Medicina Veterinária.

A pele é considerada um dos maiores órgãos do corpo sendo constituída por uma porção epitelial (epiderme) e uma porção conjuntiva (derme). A epiderme, camada mais externa, é composta por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, enquanto a derme, camada subjacente, é construída essencialmente de fibras de tecido conjuntivo denso, no qual se apoia a epiderme, promovendo união ao subcutâneo ou hipoderme (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Quatro camadas principais compõem a epiderme provida de pelos: o estrato cilíndrico ou basal, o estrato granuloso, o estrato espinhoso e o estrato córneo. No estrato germinativo, composto pelo estrato cilíndrico e espinhoso, a atividade mitótica é responsável pela proliferação das células epidérmicas (CAMPBELL; LICHTENSTEIGER, 2004; PATERSON, 2008; PAVLETIC, 2010).

A derme é composta por fibras colágenas, reticulares e elásticas, circundadas por matriz mucopolissacarídica constituída de ácido hialurônico e ácido condroitino-

sulfúrico. Esta camada possui vascularização, nervos, músculos, folículos pilosos e estruturas glandulares. É responsável por nutrir a epiderme e promover sustentação. A pele provida de pelos possui ainda os anexos que são os folículos pilosos, glândulas sudoríparas e glândulas sebáceas, sendo todas estas estruturas de origem ectodérmica (CAMPBELL; LICHTENSTEIGER, 2004).

Abaixo da epiderme e derme localiza-se a hipoderme composta por tecido conjuntivo frouxo (DYCE, 2004). Vasos cutâneos atravessam esta camada a partir do músculo panicular para irrigar a pele sobrejacente. Esta vascularização é composta por artérias e veias cutâneas diretas organizadas em um sistema dividido em três níveis interligados: plexo profundo, subdérmico ou subcutâneo; plexo intermediário ou cutâneo; e plexo superficial ou subpapilar, sendo o plexo subdérmico a principal rede vascular (PAVLETIC, 2010).

1.2.1.2 Circulação cutânea

Nos cães, gatos e coelhos, a vascularização cutânea é composta por artérias e veias cutâneas diretas organizadas em um sistema dividido em três níveis interligados: plexo profundo, subdérmico ou subcutâneo; plexo intermediário ou cutâneo e plexo superficial ou subpapilar (Figura 1). Sendo o plexo subdérmico a principal rede vascular (PAVLETIC, 2010).

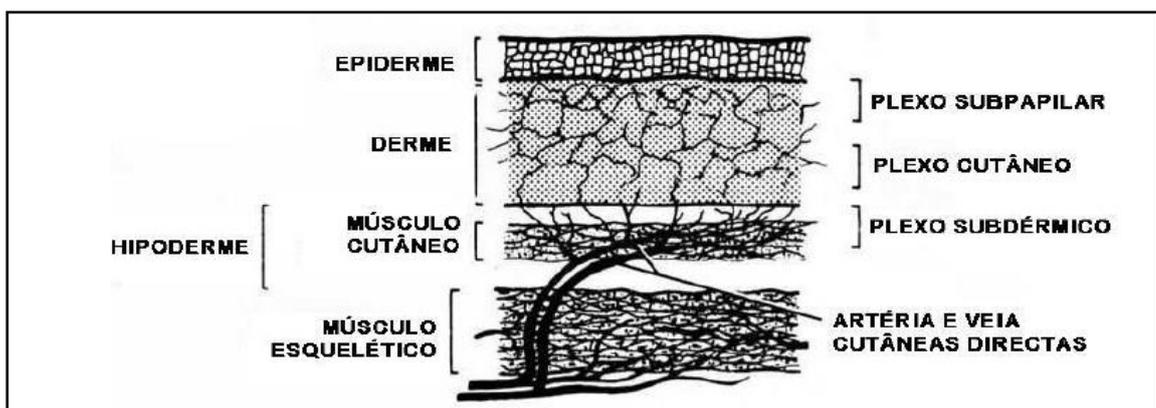


Figura 1. Vascularização cutânea. (Fonte: adaptado PAVILETIC, 2003).

A vascularização cutânea responsável por irrigar a derme é composta por pequenas artérias terminais que se ramificam progressivamente até originarem as arteríolas e metarteríolas e por fim, os capilares. Os capilares arteriais, por sua vez, desembocam no sistema vascular venoso, dando origem às pré-vênulas, vênulas e pequenas veias (PAVLETIC, 2007).

O plexo subdérmico é responsável por nutrir glândulas, folículo piloso e seus músculos eretores, sendo considerado, desta forma o mais profundo. No entanto, os vasos cutâneos (plexo cutâneo) são considerados intermediários, responsáveis por nutrir as glândulas sebáceas, as redes de capilares, os folículos, as glândulas tubulares e os músculos. Já os vasos subpapilares ou superficiais, são menos desenvolvidos, tendo apenas a função de suprir o interior da epiderme (PAVLETIC, 2010; MACPHAIL, 2013).

O entendimento do sistema vascular cutâneo é extremamente importante para a escolha e planejamento da técnica cirúrgica reconstrutiva empregada, visto que a disposição e tipo de vascularização, em áreas doadoras está intimamente ligado ao sucesso do procedimento (CASTRO et al., 2015).

1.2.1.3 Cicatrização da pele

A cicatrização é um processo complexo composto por múltiplas fases. O entendimento dos eventos envolvidos neste processo tomou maiores proporções nos últimos anos com o surgimento de novas pesquisas. Entretanto, ainda há necessidade de busca por estudos que elucidem completamente seu mecanismo (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007).

O processo de cicatrização inicia-se após a lesão tecidual envolvendo fenômenos físicos, químicos e biológicos, possibilitando o restabelecimento da integridade e função tecidual (HUNT; HOPF, 1997; BATISTA et al., 2006; FAHIE; SHETTKO, 2007; PITZER; PATEL, 2011).

Segundo Zimmermann (2007), o processo dinâmico e com fases interdependentes da cicatrização é classificado considerando quatro importantes fases envolvidas na reparação tecidual: inflamação, debridamento, proliferação e reparo e, por fim, maturação.

Duarte (2003) considera a fase de inflamação um processo composto pelo aumento da permeabilidade capilar na área afetada, aumento do suprimento sanguíneo no local da lesão e o deslocamento das células sanguíneas para os tecidos. Os neutrófilos, geralmente, são as primeiras células a surgirem no local da agressão, e são seguidas pelos macrófagos e linfócitos. A formação de coágulo ocorrida neste processo é o que permite a estabilização das bordas da ferida seguida pela liberação de enzimas e fatores quimiotáticos (HUNT; HOPF, 1997; FAHIE; SHETTKO, 2007; PITZER; PATEL, 2011).

A migração de células inflamatórias e a fase de debridamento são observadas quando há a formação de exsudato composto por leucócitos, tecidos mortos e fluidos do ferimento com a participação de neutrófilos, monócitos, plaquetas e linfócitos. Este processo tem como função auxiliar na remoção de tecidos necróticos, coágulos e do corpo estranho (ZIMMERMANN, 2007).

A fase de proliferação e reparo inicia-se dentre três a cinco dias após o trauma, neste momento ocorrem os eventos de angiogênese, fibroplasia e epitelização caracterizada pela síntese e deposição de colágeno, elastina e proteoglicanos realizada por fibroblastos que migram para o interior do ferimento (HUNT; HOPF, 1997; FAHIE; SHETTKO, 2007; ZIMMERMANN, 2007; PITZER; PATEL, 2011). O final da fase de reparação é marcado pelo aumento do teor de colágeno. A medida que ocorre esse aumento, há o desaparecimento da fibrina e a diminuição da velocidade de síntese e número de fibroblastos, processo este que proporciona força e integridade aos tecidos (MAIA et al., 2006; MACHADO et al., 2007).

A angiogênese é reconhecida como um fenômeno de extrema importância para o processo de reparação tecidual e os principais envolvidos neste processo são fatores de crescimento de células endoteliais e alguns fatores quimiotáticos (ZIMMERMANN, 2007). A neovascularização no leito da ferida se dá pela necessidade de oxigênio para movimentação, migração celular e síntese proteica (HEDLUND, 2007).

A fase final do processo de cicatrização, conhecida como maturação, caracteriza-se pelo incremento total de colágeno e seu remodelamento e orientação ao longo das linhas de tensão. Esta fase pode perdurar por anos. O número de

capilares diminuí no tecido fibroso, formando cicatrizes pálidas e menos celulares (HUNT; HOPF, 1997; FAHIE; SHETTKO, 2007; HEDLUND, 2007; PITZER; PATEL, 2011).

O uso de terapias promissoras que possam acelerar o processo de cicatrização e prevenir possíveis complicações apresenta grande relevância em sua aplicação na rotina clínico-cirúrgica (CAMPOS, 2007).

1.2.2 Retalhos cutâneos

Define-se retalho cutâneo como porção de pele parcialmente destacada do leito doador e direcionada a reconstrução do leito receptor. Em sua base encontra-se um pedículo vascular responsável por manter a vitalidade deste segmento cutâneo. Estes retalhos cutâneos podem ser ainda subdivididos e classificados de acordo com a vascularização. Neste caso, o entendimento da dinâmica da circulação cutânea é fundamental para o sucesso do procedimento (PAVLETIC, 2010; CASTRO et al., 2015).

De forma geral, os retalhos cutâneos pediculados permitem a cobertura imediata da ferida. No entanto, aqueles classificados como de padrão subdérmico possuem somente a vascularização do plexo subdérmico, composta por uma importante rede capilar, porém com menor capacidade de irrigação quando comparado aos retalhos de padrão axial que possuem em sua base artérias e veias cutâneas diretas (HEDLUND, 2007).

1.2.2.1 Retalhos cutâneos tubulares

Atualmente o retalho cutâneo tubular de padrão subdérmico aplicado como retalho indireto é indicado principalmente para reconstrução de feridas na porção distal dos membros, local desprovido de pele doadora e com poucas opções de técnicas reconstrutivas (HUPPES et al., 2015). A técnica cirúrgica para a confecção do retalho tubular dessa forma consiste em um processo constituído por múltiplas fases, podendo ser complexo e demorado (HEDLUND, 2007). Este preparo prévio

do retalho cutâneo se faz necessário para reorganização vascular previamente a sua utilização na tentativa de minimizar complicações relacionadas à hipóxia tecidual.

Neste caso, o processo de reconstrução envolve no mínimo três fases: transformação de um retalho bipediculado em tubo de pele, que depende de um período mínimo de duas semanas para que ocorra a neovascularização e reorganização da rede vascular deste segmento de pele; em seguida ocorre a transferência da porção doadora para a porção receptor, e novamente, um período de duas semanas deve ser respeitado com a mesma finalidade de permitir a reorganização vascular do segmento implantado e, por fim é indicada a ressecção cirúrgica do retalho tubular (HEDLUND, 2007; PAVILETIC, 2010; HUPPES et al., 2015). Essa particularidade impossibilita reconstrução do defeito no mesmo tempo cirúrgico e faz dos retalhos tubulares indiretos uma técnica cada vez menos utilizada (HEDLUND, 2007).

As principais complicações dos retalhos cutâneos são inerentes a hipovascularização e conseqüente necrose do retalho. Para sobrevivência do retalho, o fluxo sanguíneo deve ser suficiente para suprir as necessidades metabólicas da pele transplantada no seu novo leito. A elevação do retalho do seu local de origem resulta em significativa redução da circulação, principalmente das regiões mais distantes da base. Outros fatores podem contribuir para redução da perfusão dos retalhos como a técnica cirúrgica inadequada, divulsão excessiva e trauma prévio. Além disso, retalhos de padrão subdérmico apresentam menor capacidade de perfusão sanguínea por apresentarem em sua estrutura somente a rede vascular do plexo subdérmico, limitando assim a confecção de retalhos menores quando comparados aos retalhos de padrão axial (PAVLETIC, 2010). Dessa forma novas técnicas adjuvantes a cirurgias reconstrutivas vêm sendo empregadas em estudos experimentais com o objetivo de estimular a aceleração dos eventos do processo cicatricial dos tecidos, promover aumento do metabolismo celular e conseqüentemente estimular a angiogênese, como o uso de óleo de copaíba em retalhos cutâneos (ESTEVÃO et al., 2009), uso de nicotina no tratamento de retalho musculocutâneo transversal do músculo reto do abdome (ELY et al., 2009), aplicação da fototerapia a laser em retalhos cutâneos tratados com nicotina (NEVES, 2011).

1.2.3 Fototerapia

A formação do laser a partir da radiação foi relatada inicialmente por Maiman (1960). Desde então numerosas pesquisas foram desenvolvidas objetivando controlar a produção de luz para alcançar efeito terapêutico aplicável em medicina (WHINFIELD; AITKENHEAD, 2009).

O termo *laser* é acrônimo de Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation. Trata-se de um dos recursos fototerapêuticos mais utilizados com propriedades específicas como monocromaticidade (apenas um comprimento de onda), colimação ou direcionalidade (transmitido em uma única direção, sem divergência) e coerência (todas as ondas em fase) (NICOLAU, 2001; HAWKINS; ABRAHAMSE, 2005).

Os lasers podem ser classificados em contínuos ou pulsáteis e sua potência expressada em watts (W), variando de deciwatts a megawatts. A energia é medida em joules por centímetro quadrado (J/cm²), sendo igual à potência multiplicada pelo tempo de aplicação (DALLAN; OLIVEIRA, 2000).

Existem diversos tipos de lasers e a diferença entre eles é dada pelo comprimento de onda que apresentam. Essas ondas apresentam relação inversa com a frequência com a qual ela será emitida, ou seja, quanto maior o comprimento da onda menor a frequência, sendo o inverso também verdadeiro (TUNER; HODE, 2010; AGNE, 2013), de modo que quanto menor for o comprimento de onda, maior sua ação e poder de penetração (DALLAN; OLIVEIRA, 2000). O comprimento de onda pode ser mensurado em nanômetros (nm), e a luz visível varia de 400 nm a 700 nm e a luz não visível acima de 700 nm (infravermelho). Essa variação é conhecida como janela terapêutica, portanto a escolha da luz que será utilizada para determinado fim é baseada no valor do seu comprimento de onda, que por sua vez será escolhido de acordo com o tipo de célula ou tecido que irá absorvê-lo (TUNÉR; HODE 1999; ANDRADE; CLARK; FERRERA, 2014; REIS FILHO, 2017; HEIDARI et al., 2017) e é responsável por determinar a ocorrência de eventos celulares que promovem analgesia, bioestimulação, efeitos anti-inflamatórios (TUNÉR, 1999; ANDRADE, 2014), revascularização, neovascularização (ANDRADE, 2014) e, conseqüentemente, estímulo a cicatrização (TUNÉR, 1999; ANDRADE, 2014; REIS FILHO, 2017; HEIDARI et al., 2017).

O laser pode ser classificado baseando-se em sua potência de emissão, que está diretamente correlacionado com o efeito tecidual que se deseja produzir. (HAWKINS; ABRAHAMSE, 2005; TUNER; HODE, 2010; AGNE, 2013). Sendo assim, o laser pode ser classificado em alta (cirúrgicos) e baixa intensidade (não-cirúrgicos), Sendo o meio ativo sólido, líquido, gasoso ou misto. Sua forma de radiação altamente concentrada, não ionizante, ao entrar em contato com os tecidos promove efeitos diversos: térmicos, fotoquímicos e não lineares (NASCIMENTO, 2001).

Os lasers de alta intensidade (LBI) promovem a destruição celular ou de substância orgânica por fotocoagulação (coagulação), queima (deixando resíduo carbonizado), liquefação (deixando resíduo líquido), ou vaporização (DALLAN; OLIVEIRA, 2000). Este tipo de laser é utilizado para realizar incisões, vaporização de conteúdo fluido (cistos), destruição tecidual (desbridamento) (SPECK et al., 2016).

O LBI modula a resposta inflamatória, promove redução de dor e causa bioestimulação celular. Sua ação é dependente do comprimento de onda (VALE et al., 2015).

Os tecidos são constituídos por diferentes elementos endógenos, tais como hemoglobina, proteína e água. A energia luminosa é absorvida de acordo com seu espectro diferentemente por cada um deles. Dessa forma, a escolha do tipo de laser a ser utilizado depende da finalidade desejada (DALLAN; OLIVEIRA, 2000).

1.2.3.1 Aplicação clínica do laser de baixa intensidade

Diversos benefícios são atribuídos ao laser justificando sua ampla aplicação na recuperação de pacientes com diferentes doenças, embora existam divergências quanto aos seus benefícios, apontando resultados negativos na medicina humana (HAWKINS; ABRAHAMSE, 2005). Os principais efeitos do LBI estão relacionados a analgesia, efeito anti-inflamatório e reparador (THEODORO et al., 2002).

Trelles et. al (1989) estudaram o uso de irradiação local com fototerapia e encontraram os seguintes efeitos: analgesia, efeitos antiexsudativos, anti-hemorrágicos, antiinflamatórios, antiedematosos, antiespasmóticos e vasodilatadores.

O papel da terapia a laser de baixa intensidade no alívio da dor neuropática após lesão da medula espinhal em ratos foi avaliado em estudo experimental. Os resultados mostraram que o uso prolongado de LBI têm melhores efeitos sobre os sinais clínicos da lesão medular comparado aos grupos controle e submetidos a outras terapias. Além disso, animais do grupo tratado com succinato de sódio e metilprednisolona apresentaram como efeito colateral perda de peso e evolução a óbito, o que não foi observado nos grupos tratados com laser, sendo dessa forma, uma boa opção para reduzir os sintomas relacionados a lesões medulares (MOJARAD et al., 2017). A ação analgésica foi significativamente comprovada a curto prazo em pacientes humanos com compressão do nervo mediano (síndrome do túnel carpal). No entanto evidências dos efeitos do LBI a médio e longo prazo foram escassas (FRANKE et al., 2017). Uma pesquisa realizada na Inglaterra fez uso da laserterapia no pós-operatório e os pacientes relataram redução significativa da dor, diminuição de 50% do uso de analgésicos, redução do tempo de cicatrização e da formação de cicatriz (HAWKINS; ABRAHAMSE, 2005).

O laser diodo de 660 nm na dose de 2 J acelerou significativamente o processo de cicatrização de queimaduras em animais desnutridos. Esses achados mostram que efeitos similares podem ser encontrados em pacientes com queimaduras e quadro de desnutrição por doenças crônico-degenerativas como câncer ou pacientes graves internados por longo período (DA SILVA et al., 2015). Em um estudo recente, a eficácia da fotobiomodulação do laser sobre a cicatrização de feridas após enxerto gengival livre foi comprovada (HEIDARI et al., 2017).

Além de acelerar processo de cicatrização o laser de baixa intensidade pode atuar na destruição de microorganismos. Em um estudo realizado por Silva et al (2013), o laser (AsGaAIP) com comprimento de onda de 658 nm, em dose de 5J / cm², aplicado em feridas e pele intacta de ratos infectados com *Staphylococcus aureus*, mostrou reduzir o crescimento bacteriano, sugerindo que aplicação de laser em pele lesionada ou intacta pode ser útil no tratamento e/ou prevenção de infecções em pacientes de alto risco.

Recentemente os efeitos terapêuticos da fotobioestimulação foram estudados para o tratamento de efeitos colaterais da terapia de quimiorradioterapia no câncer de cabeça e pescoço em humanos, concluindo que esta modalidade terapêutica pode

ter utilidade em uma ampla gama de complicações orais, orofaríngeas, faciais e cervicais nesses pacientes. Embora a evidência sugira que fotobioestimulação usando LBI é eficaz no controle de mucosite oral, além de ser segura em pacientes com câncer de cabeça e pescoço, mais pesquisas são necessárias para detectar eventuais efeitos adversos da fotobioestimulação sobre os resultados do tratamento do câncer e sobrevida desses pacientes (ZECHA et al., 2017).

1.2.3.2 Interação do LBI no processo cicatricial

Os efeitos fotobiomoduladores dos lasers de baixa intensidade atuam na cicatrização promovendo aumento da formação de tecido de granulação (DALL AGNOL et al., 2009; BOURGUIGNON-FILHO, 2005), neovascularização (RABELO et al, 2006), proliferação de fibroblastos (DALL AGNOL et al., 2009) e rápida epitelização (RABELO et al., 2006; MEDEIROS et al., 2009).

Todos os LBI como os de rubi, hélio-neônio (HeNe), arsênio-gálio (AsGa) e de arsênio-gálio-alumínio (AsGaAl), atuam em nível celular, através da interação fotoquímica, podendo promover aumento do metabolismo celular e, conseqüentemente, induzir aos diversos efeitos citados (THEODORO et al., 2002). Segundo Tunér e Hode (1999), lasers de GsGaAl emitido em $\lambda = 790 \text{ nm}$ ou 830nm são boas alternativas para o tratamento de dor, edema e úlcera crônica.

Recentemente efeitos do laser empregado ao enxerto em feridas recentes de coelhos foram estudados por Reis Filho (2017), comprovando sua eficácia como agente promotor da cicatrização.

A crescente busca por estudos que possam elucidar a ação do laser em diferentes técnicas de cirurgia reconstrutiva se faz necessário frente ao potente papel estimulador do processo de cicatrização (DYSON, 2006).

1.3 REFERÊNCIAS

AGNE, J. E. Fototerapia. In:_____ **Eletrotermofototerapia**.1. ed. Santa Maria, 2013. p. 357-384.

ANDRADE, F. S. S. D.; CLARK, R. M. O.; FERREIRA M. L. Efeitos da laserterapia de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**. V. 41, n. 2, p. 129-133, 2014.

BATISTA, C. P.; et al. Efeito do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu) na cicatrização do estômago em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, n. 3, p. 26–32, 2006

BOURGUIGNON-FILHO, A. M.; FEITOSA, A. C. R.; BELTRÃO, G. C.; PAGNONCELLI, R. M. Utilização do laser de baixa intensidade no processo de cicatrização tecidual. Revisão de literatura. **Rev Port Estomatol Cir Maxilofac**. V. 46, p. 37-43, 2005.

CAMPOS, A.C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K.; Cicatrização de feridas. **Arquivo Brasileiro de Cirurgia Digestiva**, v. 20, n.1, p. 51-58, 2007

CAMPBELL, K. L.; LICHTENSTEIGER, C. A. Structure and function of the skin. In: CAMPBELL, K. L. **Small animal dermatology secrets**. Chile, 2004. p. 1-9.

CASTRO, J. L. C.; HUPPES, R. R.; DE NARDI, A. B.; PAZZINI, J. M. Introdução à anatomia. In: CASTRO, C. M. **Princípios e Técnicas de Cirurgia Reconstrutiva da Pele de Cães e Gatos**. 1. ed. Medvep, 2015. cap. 1, p 10-16

DALL AGNOL, M. A.; NICOLAU, R. A.; LIAM, C. J.; MUNIN, E. Comparative analysis of coherent light action (laser) versus non-coherent light (light-emitting diode) for tissue 6 repair in diabetic rats. **Lasers Med Sci**. v. 24, n. 6, p. 909-16, 2009.

DALLAN L. A. O.; OLIVEIRA S. A. Cirurgia de revascularização transmiocárdica a laser de CO₂. **Rev Bras Cir Cardiovasc**. v. 15, n. 2, p. 89-104. 2000.

DA SILVA, K. P.; Leite, m. n.; Lodovichi, S. S.; dos Reis, L. M.; Leite, S. N.; Frade, M. A. C. Fototerapia acelera cicatrização de queimaduras em ratos desnutridos. **Fisioterapia Brasil**. V. 16, n. 2, p. 107-112, 2015

DYSON, M. Primary, secondary and tertiary effects of phototherapy: a review. **Proceedings of SPIE**. v. 6140, p. 61-72, 2006.

ELY, P. B.; et al. Nicotine on rat TRAM flap. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 24, p.216-220, 2009.

ESTEVIÃO, L. R. M.; et al. Neoangiogênese de retalhos cutâneos em ratos tratados com óleo de copaíba. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.44, n.4, p.406-412, 2009.

FAHIE, M.A.; SHETTKO, D. Evidence-based wound management: A systematic review of therapeutic agents to enhance granulation and epithelialization. **Vet Clin Small Anim**. v.37(1), p. 559-577, 2007

HAWKINS, D.; ABRAHAMSE, H. Biological effects of helium-neon laser irradiation on normal and wounded human skin fibroblasts. **Photomedicine and Laser Therapy**, v. 23, n. 3, p. 251-259, 2005.

HAWKINS, D.; HOURELD, N.; ABRAHAMSE, H. Low level laser therapy (LLLT) as an effective therapeutic modality for delayed wound healing. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1056, n. 1, p. 486-493, 2005.

HAWKINS, D.; HOURELD, N.; ABRAHAMSE, H. Low level laser therapy (LLLT) as an effective therapeutic modality for delayed wound healing. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1056, n. 1, p. 486-493, 2005.

HEDLUND, C.S. Surgery of the integumentary system. In T.W. Fossum, **Small animal surgery**. 3 ed. St. Louis, Missouri: Mosby, Elsevier, 2007. p 159-259.

HEIDARI, M.; PAKNEJAD, M.; JAMALI, R.; NOKHBATOLFOGHAEI, H.; FEKRAZAD, R.; MOSLEMI, N. Effect of laser photobiomodulation on wound healing and postoperative pain following free gingival graft: A split-mouth triple-blind randomized controlled clinical trial. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**. p 21-23, 2017.

HUNT, T.K.; HOPF, H.W. Wound healing and wound infection: What surgeons and anesthesiologists can do. **Surgical Clinics Of North America**. v.77(3), p. 587-606, 1997.

HUPPES R. R.; USCATEGUI R. A. R.; BARROS F.; CRIVELARO R. M.; PAZZINI J.M., DE NARDI A.B.; CASTRO J. I. C.; AMORIM R.L. Reparação de defecto cutâneo posterior a resección de neurofibrosarcoma em rodilla com um colgajo tubular subdérmico. **Revista Inter-médica editorial**. p. 72-77. 2015.

JUNQUEIRA L.C.; CARNEIRO J. **Histologia Básica**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 540p.

MACPHAIL, C. M. Wound management. In: FOSSUM, T. W. **Small Animal Surgery**. 4. ed. St. Louis, 2013. cap. 16, p. 190-207

MAIA, J. M. A.; CZECKO, N. G.; FILHO, J. M. R. F.; DIETZ, U. A.; DUCK, D.; RIBAS, C. A. M.; SANTOS, E. A.; BAPTISTELLA, E.; WALLBACH, T. Z.; VALE, J. R.; YAGUSHITA, N. Estudo da cicatrização de suturas na bexiga urinária de ratos com e sem a utilização de extrato bruto de *Jatropha gossypifolia* L. intraperitoneal. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.21, p. 23-30, 2006.

MACHADO, C.; CHIN, E. W. K.; IOSHII, S. O.; FILHO, R. T.; BATHEN, A. V. Influence of nicotine on healing of vesical sutures in rabbits. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.22, n.6, p. 479-484, 2007.

MAIMAN, T. H. Stimulated optical radiation in ruby. **Nature**, 493-494, 1960.

MOJARAD, N.; JANZADEH, A.; YOUSEFIFARD, M.; NASIRINEZHAD, F. The role of low level laser therapy on neuropathic pain relief and interleukin-6 expression

following spinal cord injury; an experimental study. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, 2017. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/j.ichemneu.2017.04.005>.

NASCIMENTO, P. M. **Efeito da variação da intensidade e do comprimento de onda do laser não cirúrgico em feridas cirúrgicas em dorso de ratos: estudo histológico**. 68 f. 2001. Dissertação (Mestrado em engenharia biomédica). Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2001.

NEVES, L. M. S.; et al. Laser 830nm on the viability of skin flaps in rats submitted of nicotine. **Acta Ortopédica Brasileira**. v.19, p.342-345, 2011.

PARGANA, A.M. **Técnicas reconstrutivas em cirurgia oncológica de canídeos e felídeos**. 2009. 134 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária). Universidade técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

PATERSON, S. Introduction – structure and function. In:_____. 2. ed. **Manual of skin diseases of the dog and cat**. Oxford, 2008. cap. 1, p. 1-8.

PAZZINI, J.M. et al. Utilização de plasma rico em plaquetas para estimulação da angiogênese em flape de padrão axial toracodorsal em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 36, n. 2, p. 108-118. 2016.

PAVLETIC, M. M. Tegumento. In: SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. 3. Ed. v.1, São Paulo: Manole, Cap.23, p. 292-321, 2007.

PAVLETIC, M. M. **Small Animal Wound Management and Reconstructive Surgery**. In:_____. Axial parttner skin flaps, 3ª Edição. Iowa: Wiley – Blackwell, Cap. 13, p. 357– 378, 2010.

PITZER, G.B.; PATEL, K.G. Proper care of early wounds to optimize healing and prevent complications. **Facial Plast Surg Clin N Am**. v.19(1), p. 491-504, 2011.

REIS FILHO, N. P. **Epitelização de enxertos cutâneos em feridas recentes de coelhos tratados com membrana amniótica canina e/ou laserterapia**. 48 f. 2015. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2015.

RABELO, S. B.; VILLAVERDE, A. B.; NICOLAU, R. A.; SALGADO, M. A. C.; MELO, M. S.; PACHECO, M. T. T. Comparison between wound healing in induced diabetic and nondiabetic rats after low-level laser therapy. **Photomed Laser Surg**. v.24, n. 4, p. 474-9, 2006.

SILVA, D. C. G.G.; PLAPLER, H.; DA COSTA, M. M.; SILVA, S. R. G.; SÁ, M. C. A.; SILVA, B. S. L. Laser de baixa intensidade (AlGaInP) aplicado com 5J/cm² reduz a proliferação de *Staphylococcus aureus* MRSA em feridas infectadas e em pele íntegra de ratos. **An Bras Dermatol**. V. 88, n. 1, p. 50-5, 2013.

SPECK, N. M. DE G.; BOECHAT, K. P. R.; DOS SANTOS, G. M. L.; RIBALTA, J. C. L. Treatment of Bartholin gland cyst with CO₂ laser. **Einstein**. v. 14, n. 1, p. 25–29, 2016.

THEODORO L. H. et al. Lasers em implantodontia. **Revista Brasileira de Cirurgia e Implantodontia**. v. 9, p. 74-78, 2002.

TRELLES M. A.; MAYAYO E.; MIRO L.; RIGAU, J.; BAUDIN, G.; CALDERHEAD, R. G. The action of low reactive Level Laser Therapy (LLL) on mast cells: a possible relief mechanism examined. **Laser Therapy**. v. 1, p. 27 -30, 1989.

TUNER J., HODE L. Therapeutic lasers. In:_____. **The new laser therapy handbook**. 1. ed. New York, 2010. cap.1, p. 43-48.

TÚNER,J. and HODE,L. **Low Level Laser Therapy**. Sweden: Prima Books,1999.

VALE, F. A.; MOREIRA, M. S.; DE ALMEIDA, F. C. S.; RAMALHO, K. M. Low-Level Laser Therapy in the Treatment of Recurrent Aphthous Ulcers: A Systematic Review. **The Scientific World Journal**, 150412, 2015.

WHINFIELD, A. L.; AITKENHEAD, I. The light revival: does phototherapy promote wound healing? A review. **The Foot**, v. 19, n. 2, p. 117-124, 2009.

ZIMMERMANN, M. **A membrana de látex como implante para correção de defeitos musculares em cães e coelhos**. 2007. 52 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

ZECHA, J. A. E. M.; RABER-DURLACHER, J. E.; NAIR, R. G.; EPSTEIN, J. B.; SONIS, S. T.; ELAD, S.; BENSADOUN, R. J. Low level laser therapy/photobiomodulation in the management of side effects of chemoradiation therapy in head and neck cancer: part 1: mechanisms of action, dosimetric, and safety considerations. **Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer**. v. 24, n. 6, p. 2781–2792, 2016.

CAPÍTULO 2 – Efeitos do laser de baixa intensidade em retalhos tubulares de padrão subdérmico diretos em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*).

Julielton S. Barata^{2*}, Thuanny L. Nazaret², Juliana O. Ribeiro², Stephanie S. Gambardella², Jorge L.A. Gomez², Cléber K. Ido², Marília G.P.A. Ferreira², Andresa Matsui¹, Andriago B. De Nardi².

ABSTRACT.- Barata J.S., Nazaret T.L., Ribeiro J.O., Gambardella S.S., Gomez J.L.A., Ido C.K., Ferreira M.G.P.A., Matsui A., & De Nardi A.B. 2017. [**Effets of low laser therapy on direct tubular subdermal pattern flaps in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)**]. Efeitos do laser de baixa intensidade em retalhos tubulares de padrão subdérmico diretos em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n 14884-900 - Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: jsbarata.mvet@hotmail.com.

The tubular flap of the subdermal pattern applied for limb reconstruction is performed indirectly, implying in multiple steps reconstruction process. Beyond the risks inherent to several anesthetic procedures, the whole process can lead to an increase in patient’s morbidity and in total cost of treatment. Consequently, it could lead to the underutilization of the technique in the Veterinary Medicine routine. The aim of the present study was evaluate the action of low intensity laser in the preservation of the tissue vitality of subdermal patches applied directly to the reconstruction of defects at the extremity of the thoracic limb of rabbits. Forty rabbits were randomly divided into two groups with 20 animals each. Group A - submitted to the technique of tubular flap of subdermal pattern treated with laser every 48 hours (LG) and Group B - submitted to the same surgical procedure, but didn’t undergo to the laser treatment (CG). The two groups were further subdivided into four groups with five animals each, and in each subgroups, the patients were submitted to macroscopic evaluations and euthanasia procedure were performed on different postoperative days (4, 8, 16, and 22 postoperative days). After obtaining the tubular flap, the material was cleaved at the distal interface region between the flap and recipient bed for microscopic evaluation. Data analysis showed that both TG and CG presented viability on the tubular flap, but the presence of necrosis was frequently seen in CG animals at 4 ($p = 0.0384$) and 8 ($p = 0.0384$) postoperative days. There was also a significant association ($p < 0.0001$) between mild neovascularization and absence of necrosis in TG animals at 4 postoperative days. At 22 postoperative days the absence of neovascularization was associated ($p < 0.0001$) with the mild necrosis in CG. In conclusion, it is possible to state that the tubular flap of direct subdermal pattern can be used in rabbits. However, it is necessary more studies to prove the viability of this technique in other species. The low intensity dose and frequency laser used in this study was shown to be effective in promoting neovascularization and avoid complications related to hypoxia and tissue inflammation.

INDEX TERMS: reconstructive surgery, laser, neovascularization.

RESUMO.- Atualmente o retalho tubular de padrão subdérmico destinado à reconstrução da extremidade de membros é realizado de forma indireta, implicando em um processo de reconstrução composto por múltiplas fases de cirurgia. Além dos riscos inerentes aos sucessivos procedimentos anestésicos, este processo pode levar ao aumento da morbidade do paciente e elevar o custo do tratamento, sendo que conseqüentemente, observa-se a subutilização da técnica na rotina em Medicina Veterinária. O presente estudo teve o objetivo de avaliar a ação do laser de baixa intensidade na preservação da vitalidade tecidual de retalhos de padrão subdérmico aplicados de forma direta para a reconstrução de defeitos na extremidade do membro torácico de coelhos. Quarenta coelhos foram divididos aleatoriamente em dois grupos com 20 animais cada, assim especificados: Grupo A – submetidos à técnica de retalho tubular de padrão subdérmico tratados com laser a cada 48 horas (GL) e Grupo B – submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico, porém não receberam o tratamento com laser (GC). Os dois

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

² Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n 14884-900 - Jaboticabal, SP, Brasil. Pesquisa de mestrado com apoio CAPES.

*Autor para correspondência: jsbarata.mvet@hotmail.com

³ Departamento de Patologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n - 14884-900 - Jaboticabal, SP, Brasil.

grupos foram ainda subdivididos em quatro grupos com cinco animais cada, sendo que nesses subgrupos realizou-se avaliações macroscópicas e eutanásia em diferentes dias de pós-operatório (4, 8, 16, e 22 dias de pós-operatório). Após a obtenção do retalho tubular, o material foi clivado na região de interface distal entre o retalho e leito receptor para avaliação microscópica. A análise dos dados evidenciou que tanto os animais do grupo GL quanto os animais do grupo GC apresentaram a maior parte do retalho tubular viável, mas a presença de necrose foi visualizada de forma frequente nos animais do GC aos 4 ($p=0,0384$) e 8 ($p=0,0384$) dias de pós-operatório. Houve também associação significativa ($p<0,0001$) entre neovascularização discreta e ausência de necrose nos animais do GL aos 4 dias. Aos 22 dias de pós-operatório a ausência de neovascularização estava associada ($p<0,0001$) a necrose discreta nos animais do GC. Dessa forma, é possível afirmar que o retalho tubular de padrão subdérmico direto pode ser empregado em coelhos. Entretanto, há a necessidade de busca por estudos que comprovem a viabilidade da técnica empregada em outras espécies. O laser de baixa intensidade na dose e frequência empregadas neste estudo se mostrou eficaz em promover neovascularização e evitar complicações relacionadas a hipóxia e inflamação tecidual.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: cirurgia reconstrutiva, laser, neovascularização.

INTRODUÇÃO

O uso de retalhos cutâneos para o reparo de feridas extensas ganhou grandes proporções nos últimos anos na medicina veterinária. Entretanto, o processo de reconstrução pode ser desafiador dependendo da localização anatômica da lesão, como por exemplo, a extremidade dos membros, visto tratar-se de uma região desprovida de pele doadora. Nesses casos as alternativas de reconstrução incluem os retalhos de padrão axial, retalhos de padrão subdérmico, enxertos cutâneos ou mesmo a cicatrização por segunda intenção (Pavletic 2010).

É preconizado que os retalhos tubulares de padrão subdérmico quando utilizados para reconstruir a extremidade dos membros sejam empregados de forma indireta, ou seja, é necessário que passem por um processo de reconstrução envolvendo mais de uma etapa, com o objetivo de melhorar a vascularização do retalho e, conseqüentemente, reduzir as chances de perda da vitalidade (Huppel et al. 2015). A técnica cirúrgica para a confecção do retalho tubular dessa forma consiste na criação de um tubo de pele, que após 14 a 21 dias é desconectado da região doadora e direcionado para reconstruir o leito receptor. Um terceiro procedimento pode ser necessário após 14 a 21 dias para a remoção do tubo de pele. Esse processo envolvendo múltiplas fases, também denominado de retalho cutâneo indireto, pode ser complexo e demorado, limitando sua aplicação na rotina clínico-cirúrgica (Hedlund 2007).

Concomitantemente à crescente utilização de cirurgia reconstrutivas, a busca por novas técnicas que possam minimizar complicações comuns a essas cirurgias foram igualmente discutidas (Reis Filho et al, 2017, Pazzini 2016, Heidari et al. 2017). Recentemente os efeitos terapêuticos do laser de baixa intensidade (LBI) foram avaliados no processo cicatricial de enxerto em feridas recentes de coelhos, comprovando sua eficácia como agente promotor da cicatrização (Reis Filho 2015).

Os efeitos fotobiomoduladores do LBI atuam na cicatrização, promovendo aumento da formação de tecido de granulação (Bourguignon-Filho 2005, Dall Agno et al. 2009), neovascularização (Rabelo et al. 2006), proliferação de fibroblastos (Dall Agno et al. 2009) e rápida epitelização (Rabelo et al. 2006).

A escassez de estudos comprovando ferramentas auxiliares a preservação da vitalidade tecidual e redução das taxas de complicações em retalhos tubulares de padrão subdérmico põe em questionamento sua realização em apenas um tempo cirúrgico, criando a necessidade do uso de retalhos tubulares indiretos, o que contribui para o aumento da morbidade, expõe o paciente a sucessivos procedimentos anestésicos, além de elevar o custo do tratamento. Desta forma, torna-se necessário a busca de novas técnicas promotoras da angiogênese tecidual, afim de assegurar a manutenção da viabilidade do tubo de pele bem como do processo cicatricial na implantação do retalho cutâneo tubular de padrão subdérmico de forma direta, com a finalidade de reduzir a exposição do paciente ao risco de sucessivos procedimentos cirúrgicos e anestésicos, além de reduzir a morbidade do paciente durante a recuperação pós-operatória.

Perante a problemática exposta, objetivou-se com o presente estudo elucidar a ação do LBI como agente promotor da neovascularização e, conseqüentemente, manutenção da vitalidade tecidual de retalhos cutâneos tubulares de padrão subdérmico empregados em coelhos em um único tempo cirúrgico (retalho cutâneo direto).

MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos cirúrgicos deste estudo foram realizados nas dependências do Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal. As peças cirúrgicas foram destinadas ao Laboratório de patologia animal da FCAV/UNESP-Jaboticabal para a preparação das lâminas e análise histológica.

Seleção dos animais. Foram submetidos ao experimento coelhos da linhagem nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), machos e fêmeas, obtidos de criadores especializados, após aprovação do comitê de ética

da FCAV/UNESP-Jaboticabal, protocolo nº 7887/16, segundo as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Ao serem admitidos no setor de cirurgia, os coelhos foram examinados clinicamente, com o objetivo de avaliar as condições de saúde dos mesmos. Estes animais foram acondicionados em gaiolas individuais, onde receberam ração padrão comercial e água fornecidos *ad libitum*. Nestas condições permaneceram por duas semanas, período considerado de adaptação ao ambiente, manejo e tratamento de alterações observadas aos exames, antes de iniciar-se a fase experimental.

Os 40 coelhos foram divididos aleatoriamente em dois grupos, com 20 animais cada, todos submetidos à técnica de retalho tubular de padrão subdérmico assim especificados: Grupo A, tratados com laser (GL). O grupo A foi subdividido em grupos com 5 animais especificados como GL1 (avaliado aos 04 dias de pós-operatório), GL2 (08 dias), GL3 (16 dias) e GL4 (22 dias). O Grupo B foi o grupo controle (GC), também subdividido em GC1 (04 dias), GC2 (08 dias), GC3 (16 dias) e GC4 (22 dias) de pós-operatório (Figura 1).

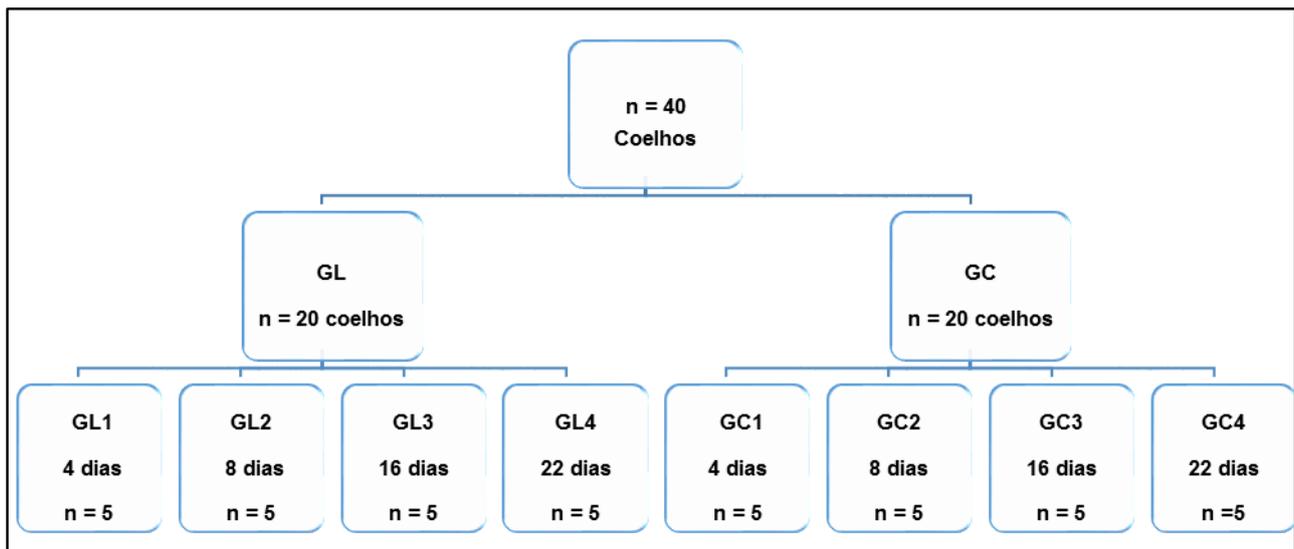


Figura 1. Distribuição esquemática dos 40 animais em grupos. Grupo laser (GL) composto por 20 animais. GL1 (5 animais avaliados no 4º dia de pós-operatório), GL2 (5 animais avaliados no 8º dia de pós-operatório), GL3 (5 animais avaliados no 16º dia de pós-operatório) e GL4 (5 animais avaliados no 22º dia de pós-operatório). Grupo Controle (GC) composto por 20 animais. GC1 (5 animais avaliados no 4º dia de pós-operatório), GC2 (5 animais avaliados no 8º dia de pós-operatório), GC3 (5 animais avaliados no 16º dia de pós-operatório) e GC4 (5 animais avaliados no 22º dia de pós-operatório).

Pré-operatório. No dia anterior a cirurgia todos os animais foram submetidos a tricotomia da porção lateral do tórax e membro torácico direito. Antes do procedimento cirúrgico não foi instituído jejum hídrico e alimentar. Como medicação pré-anestésica foi utilizado Cloridrato de Clorpromazina na dose de 0,5 mg/kg e Morfina na dose de 0,5mg/kg, diluídos na mesma seringa, por via intramuscular (IM), mesmo protocolo utilizado por Pazzini et al. (2016). Posteriormente, foi realizada tricotomia das orelhas para o acesso a veia auricular lateral.

A indução anestésica foi realizada com o uso de propofol na dose de 10 mg/kg, seguida de intubação orotraqueal com sonda de Magill de 3,0 mm de diâmetro, conectada ao aparelho de anestesia para fornecimento fluxo total de 1L/min de oxigênio a 100% por meio de circuito anestésico avalvular, sendo instituída anestesia geral inalatória com isoflurano na concentração de 3%, diluído em 100% oxigênio.

O planejamento cirúrgico foi realizado com o animal anestesiado, em decúbito lateral esquerdo e o membro torácico direito posicionado em extensão relaxada (Figura 2-A). As demarcações do defeito e retalho foram realizadas com auxílio de uma caneta demográfica. Para o planejamento do defeito dermoepidêmico, um molde plástico de 2x2 cm de diâmetro previamente preparado foi utilizado. Este molde foi posicionado na extremidade do membro de forma que a linha ventral foi demarcada um cm acima da articulação do carpo (figura 2-B). Para o planejamento do retalho uma linha de 8 cm foi traçada da cabeça do úmero até a altura da prega axilar, o ponto médio entre essas duas estruturas foi padronizado como referência para a base do retalho (Figura 2-C e D). A distância entre a base e a porção mais distal do defeito apresentava 10 cm (Figura 2-E). Deste modo o comprimento do retalho foi planejado de forma que o retalho apresentasse o mesmo comprimento que a distância entre a base e o ponto mais distante do defeito (Figura 2-F). No ponto considerado como a base do retalho foi posicionado um molde plástico de 4 cm de largura e 10 cm comprimento para a demarcação das linhas cranial, caudal e dorsal do retalho em direção a linha média dorsal (Figura 2-G e H).

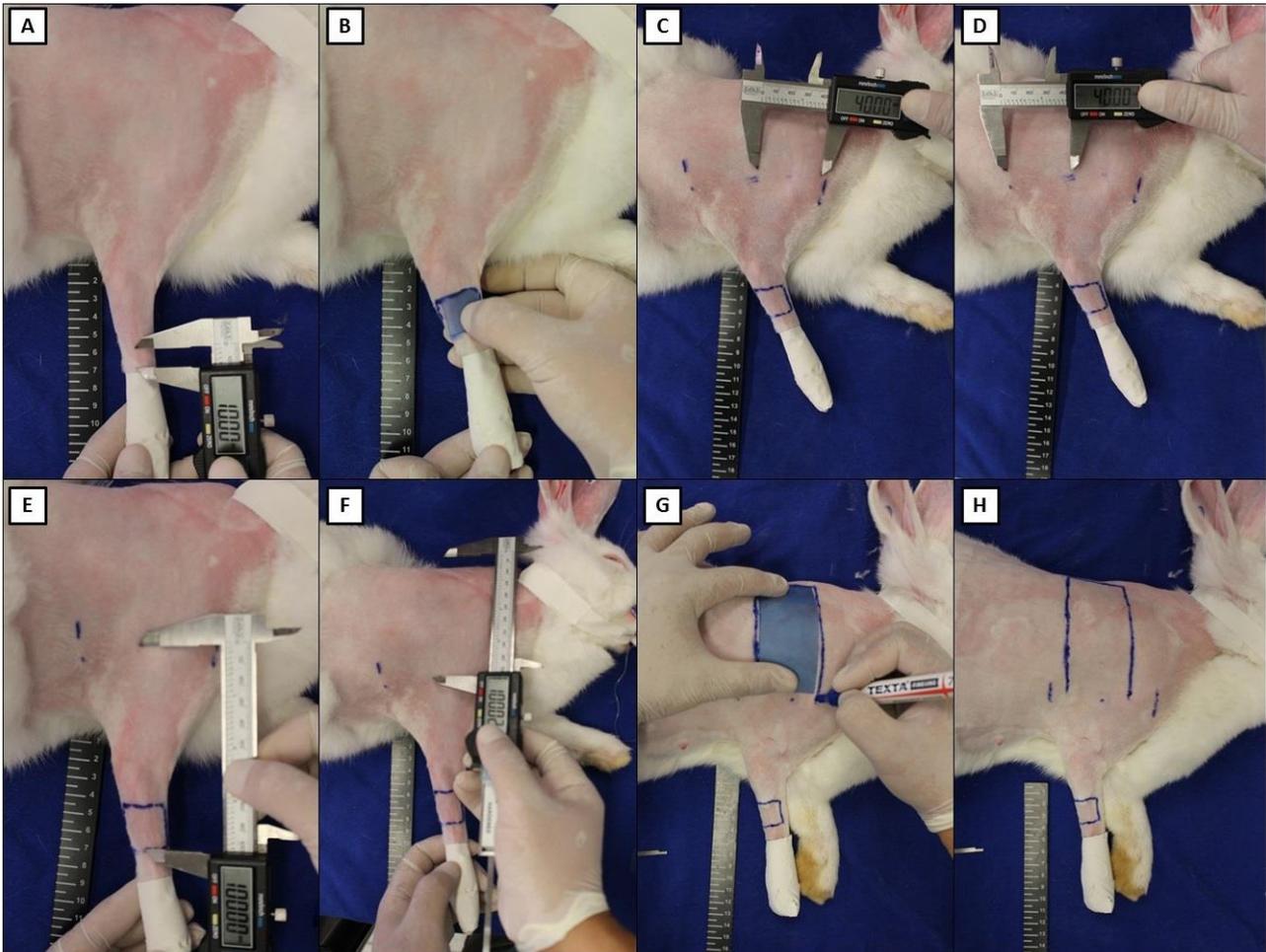


Figura 2. Imagens fotográficas do planejamento da criação do defeito e retalho cutâneo com demarcação das linhas de incisão da pele - A. Planejamento da linha distal do defeito 1 cm acima da articulação do carpo B. Posicionamento da linha inferior do molde de 2x2 cm sobre a demarcação da linha distal do defeito, seguido da criação das linhas cranial, caudal e dorsal do defeito C. Planejamento do ponto central da base do retalho 4cm caudal a cabeça do úmero D. Planejamento do ponto central da base do retalho 4 cm cranial a prega axilar. O ponto médio entre a cabeça do úmero e a prega axilar foi utilizado como referência para a base do retalho E. Planejamento do comprimento do retalho por meio da mensuração da distância entre a base do retalho e o ponto mais distante do defeito (10 cm). F. Planejamento do comprimento do retalho de 10 cm a partir da base. G. Posicionamento do molde de 4 cm de largura e 10 cm de comprimento no ponto previamente planejado como a base do retalho, demarcação das linhas cranial, caudal e dorsal do retalho. H. Aspecto final da demarcação do defeito e retalho cutâneo. Jaboticabal, 2017.

Técnica cirúrgica. Realizou-se a antisepsia prévia e definitiva do campo operatório utilizando clorexidine degermante a 2%, posteriormente álcool a 70%, seguido da proteção com panos de campo cirúrgicos fixados à derme com pinças Backaus (Figura 3-A). Para realização do defeito e retalho tubular de padrão subdérmico as incisões foram realizadas na porção interna da linha de marcação com o objetivo de padronizar o tamanho do defeito e do retalho cutâneo. Após a realização do defeito (Figura 3-B e C), o tubo cutâneo foi criado a partir da realização de duas incisões paralelas, cranial e caudal, em uma área onde a pele remanescente pode ser aproximada sem excesso de tensão. Em seguida, procedeu-se a realização da incisão sobre a linha dorsal, dando forma retangular ao retalho cutâneo (Figura 3-D). Posteriormente, foi realizada a divulsão da pele abaixo do retalho criado (Figura 3-E). A artéria toracodorsal foi identificada cranialmente ao acrômio, em seguida foi ligada para permitir o avanço da divulsão até a base do retalho previamente planejado (Figura 3-F). Com o retalho completamente despreendido do subcutâneo, foi realizada sutura das bordas do retalho em padrão de ponto simples separado (PSS) utilizando fio náilon nº 4.0 conferindo uma conformação de retalho tubular (Figura 3-G). Sequencialmente, foi realizada a transposição do retalho tubular em direção ao defeito e as bordas do leito doador foram apositonadas as bordas do leito receptor por meio de sutura em padrão de PSS, utilizando fio náilon nº 4.0. Inicialmente a sutura foi realizada em pontos cardeais para a acomodação do retalho ao leito receptor, posteriormente os pontos foram distribuídos entre os pontos previamente realizados de forma a completar a sutura ao longo da linha de incisão (Figura 3-H).

Para o fechamento do leito doador foi realizada a aproximação do subcutâneo em padrão de sutura contínua em Cushing modificado ou “zigue-zague” utilizando fio náilon 3.0, seguida da dermorrafia em padrão de PSS com o mesmo fio.

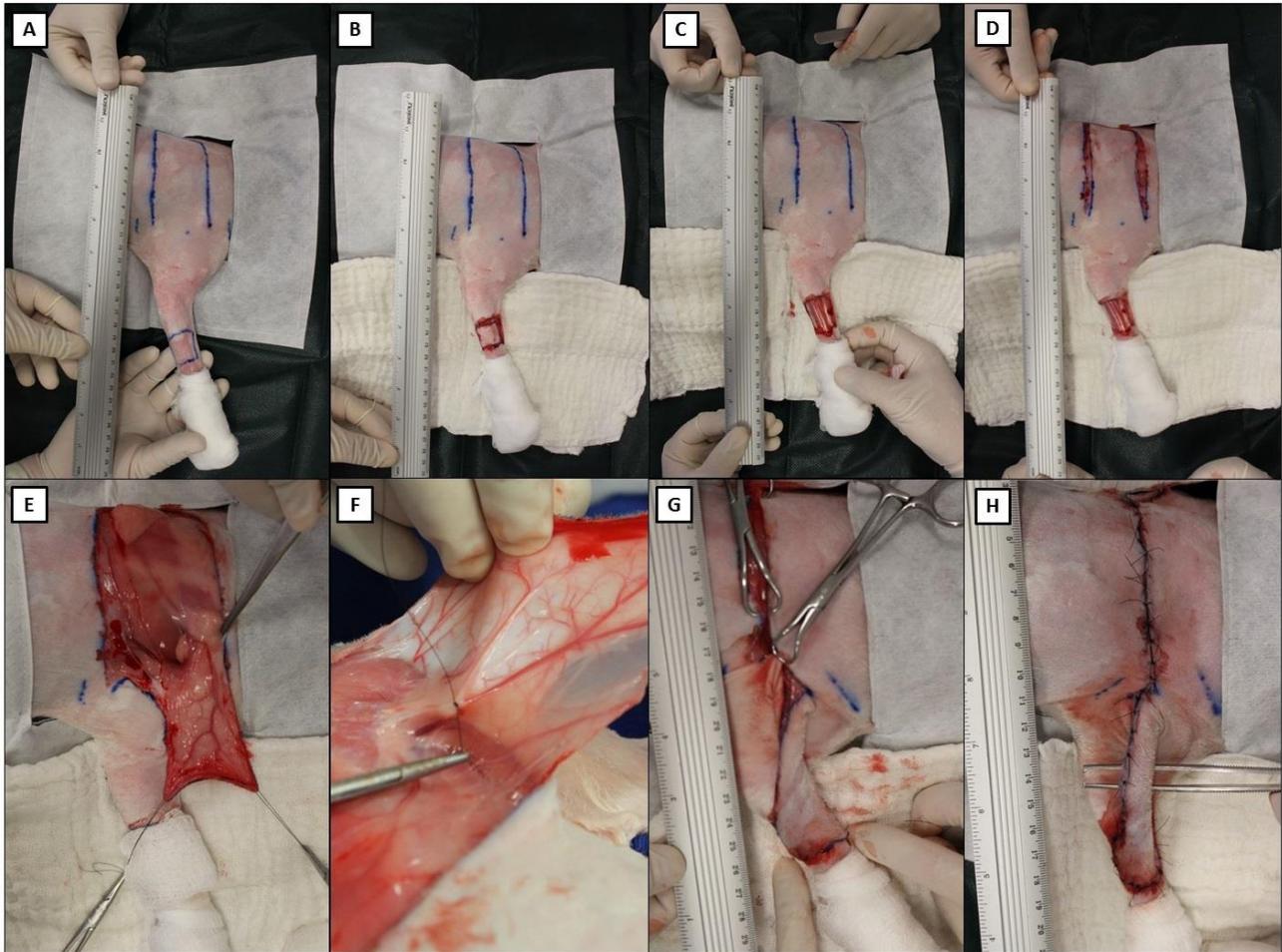


Figura 3. Imagens fotográficas da técnica cirúrgica de retalho de padrão subdérmico direto para a reconstrução de defeito em extremidade de membro torácico direito – A. Preparação do campo cirúrgico B. Incisão sobre a linha de demarcação do defeito. C. Criação do defeito de 2x2 cm D. Incisão sobre a linha de demarcação do retalho. E. Retalho destacado abaixo do músculo cutâneo do tronco. F. Identificação e ligadura da artéria cutânea toracodorsal para permitir o avanço da divulsão do retalho. G. Aposição das bordas do leito doador com pinças backhaus, aposição das bordas do retalho para a criação do tubo de pele, rotação do retalho tubular em direção ao defeito. H. Aspecto final do retalho tubular após a fixação das bordas da linha de incisão com padrão de sutura em PSS, utilizando fio náilon nº 4.0. Jaboticabal, 2017.

Imediatamente após a cirurgia, os animais do grupo trado foram submetidos à laserterapia. Procedeu-se a limpeza da ferida com solução fisiológica e gaze, e em seguida, foi removido todo o excesso de umidade também com gaze. Foram escolhidos 22 pontos distintos e pré-determinados de aplicação do laser (Figura 4-A), este procedimento foi realizado a cada 48 horas de acordo com o período pós-operatório de cada grupo. Para esta finalidade utilizou-se o aparelho de laser Laserpulse Ibramed ® modelo L42, com caneta de comprimento de onda 660 nanômetros (nm) e 30 mW (megawatt) de potência. A dose do laser utilizada foi de 4 J/cm² em frequência contínua, durante 8 segundos em cada ponto pré-determinado (Figura 4-B). Posteriormente a bandagem foi confeccionada com uma camada de gaze sobre toda a extensão da região submetida ao procedimento cirúrgico, em sequência, essa gaze foi fixada com atadura e esparadrapo.

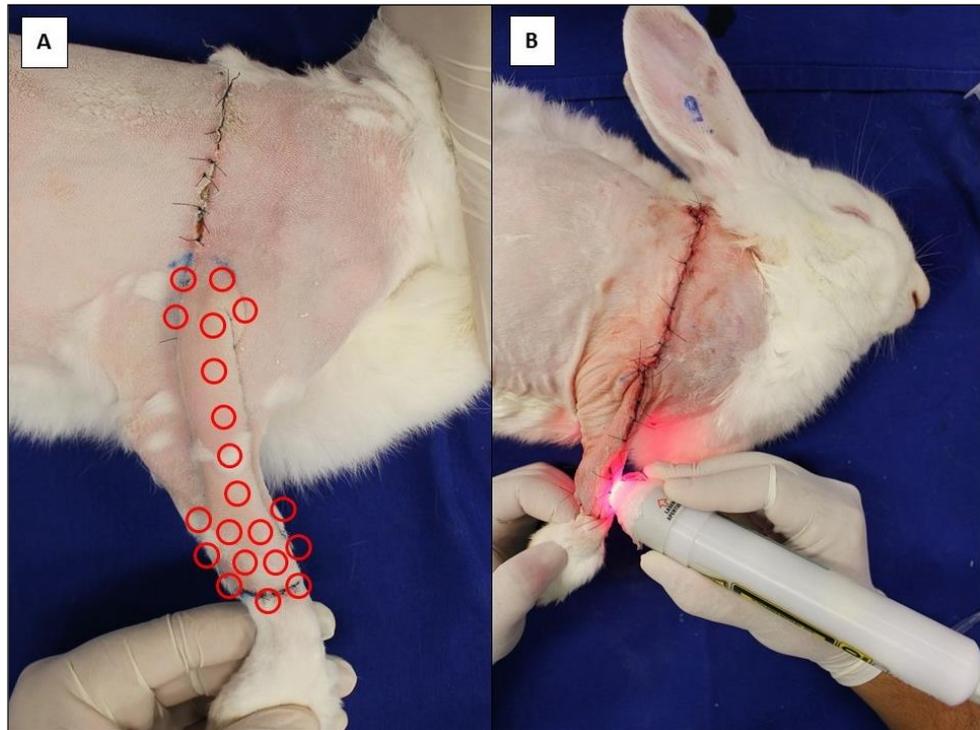


Figura 4. Imagens fotográficas da técnica de laserterapia. A) Fotomicrografia associada a representação esquemática das áreas pré-determinadas para a aplicação da laserterapia (círculos vermelhos) sobre o tubo de pele e áreas adjacentes. B) Fotomicrografia representando a aplicação da laserterapia em retalho tubular no momento pós-operatório imediato em um coelho do GL. Jaboticabal, 2017.

Protocolo terapêutico pós-operatório. Como protocolo terapêutico pós-operatório foi instituído antibioticoterapia com enrofloxacin na dose de 5 mg/kg por via subcutânea, a cada 12 horas por sete dias, anti-inflamatório meloxicam, 0,1 mg/kg por via subcutânea, a cada 24 horas, durante quatro dias e como protocolo de analgesia, morfina na dose de 0,5 mg/kg, por via subcutânea, a cada 12 horas, durante 7 dias.

Os curativos foram trocados a cada 48 horas em todos os grupos. A ferida cirúrgica foi lavada de forma meticulosa com solução fisiológica estéril e as sujidades removidas com auxílio de gaze também estéril. O curativo foi refeito da mesma forma que no período pós-operatório imediato.

Avaliação macroscópica. Para a avaliação macroscópica foram consideradas as variáveis: edema, deiscência de sutura, presença de desvitalização, coloração do tubo, presença de secreção e aspecto da secreção, todas graduadas com escalas de intensidade. Desta forma, para avaliação de edema foi utilizada uma escala sendo considerado edema ausente, edema discreto (menor que 25%), edema moderado (de 25 a 50%), edema intenso (de maior que 75%). A deiscência de sutura foi avaliada em ausência de deiscência, deiscência parcial e deiscência total. A desvitalização foi avaliada em ausente, discreta (menos que 25%), moderada (de 25 a 50%) e intensa (maior que 75%). A coloração do tubo foi avaliada em porcentagem de apresentação das colorações pálido, róseo, azulado e enegrecido. A quantidade de secreção foi classificada como ausente, discreta (menor que 25%), moderada (entre 25 e 50%) e intensa (maior que 75%). Já o aspecto da secreção foi classificado em exsudato inflamatório, purulento e hemorrágico.

A avaliação foi realizada por um avaliador cego e os dados obtidos de cada avaliação foram anexados a fichas individuais para cada animal (apêndice A).

Procedimento de eutanásia dos animais e obtenção das amostras. Nos períodos pós-operatórios indicados para cada animal do experimento realizou-se a eutanásia dos animais. Para esta finalidade foi administrada por via endovenosa propofol (dose-resposta) e, ao certificar-se da ausência de reflexos corneal e pupilar, foi realizada a aplicação de 20 mL de cloreto de potássio por via endovenosa para a indução de assistolia. Em seguida o retalho tubular foi desconectado do leito doador e receptor, sendo cada extremidade devidamente identificada, em seguida a peça foi acondicionada em frasco contendo formol tamponado a 10% para fixação por no mínimo 48 horas e posterior processamento e avaliação microscópica.

Processamento das amostras. Após a fixação, as peças foram clivadas na porção distal do tubo, região de interface entre o retalho e leito receptor (Figura 5), e submetidas a processamento tecidual por inclusão em parafina. Secções histológicas de cinco micrômetros foram obtidas em micrótomo manual para a confecção das lâminas, estas foram coradas pela hematoxilina/eosina para observação em microscópio óptico.



Figura 5. Imagens fotográficas do tubo de pele contendo as margens do leito doador e receptor após a necropsia associada a representação esquemática da área pré-determinada para a clivagem e processamento para análise histopatológica (quadrado vermelho). Jaboticabal, 2017.

Avaliação microscópica. As lâminas coradas com HE foram utilizadas para avaliação de parâmetros como presença de necrose e neovascularização. As avaliações foram realizadas por avaliador único, às cegas, em microscópio Nikon® E200 utilizando objetivas de 4x, 20x e 40x, sequencialmente.

A análise consistiu no preenchimento de uma ficha contendo os parâmetros a serem avaliados. Tanto a neovascularização quanto a presença de necrose foram avaliadas por análise semi-quantitativa baseada em escore de intensidade, sendo atribuído ausente, discreto, moderado e intenso. A presença de necrose no tecido foi classificada como ausente quando as células do retalho em sua totalidade não apresentavam sinais como picnose nuclear, cariólise e eosinofilia do citoplasma; discreta quando os sinais de necrose das células do retalho estavam presentes de forma isolada; moderada quando estes sinais ocorriam de forma multifocal; e intensa quando em toda a extensão do enxerto era possível visualizar sinais de necrose celular.

A neovascularização foi considerada ausente quando o segmento avaliado não apresentava vasos sanguíneos. Discreta quando foram observados poucos vasos em pontos focais ou poucos vasos isolados, moderada quando a neovascularização ocorria em áreas multifocais ou áreas extensas. Intensa quando os vasos neoformados foram observados de forma localmente intensa em áreas extensas com grandes áreas de formação, ou quando essas áreas foram observadas de forma multifocal.

Análise estatística. Para avaliação dos resultados, utilizou-se a análise de correspondência múltipla para verificar a existência de associação entre as categorias macroscópicas (edema, deiscência de sutura, presença de desvitalização, coloração do tubo, presença de secreção e aspecto da secreção) e microscópicas (neovascularização e necrose). O teste qui-quadrado foi utilizado para verificar associação entre todas as categorias. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Os softwares de análise utilizados foram Graphpad Prism versão 6.0 e o Statistica 7.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O segmento distal do retalho tubular corresponde a porção mais distante em relação a base e foi utilizado para o estudo da neovascularização e possíveis complicações relacionadas a técnica proposta, tendo em vista que a vascularização dos retalhos cutâneos ocorre a partir dos vasos presentes no pedículo, responsáveis pela perfusão sanguínea de todo o retalho, por esse motivo a extremidade distal do retalho é normalmente a mais propensa a possíveis complicações relacionadas a hipóxia tecidual (Pavletic, 2010; Macphail, 2013).

Após a avaliação dos dados obtidos por meio das análises macro e microscópicas, foi possível evidenciar que tanto os animais do grupo GL quanto os animais do grupo GC apresentaram viabilidade do retalho tubular durante o período pós-operatório em que foram observados. Entretanto, a presença de necrose foi visualizada de forma frequente nos animais do GC aos 4 ($p=0,0384$) e 8 ($p=0,0384$) dias de pós-operatório, esta variável apresentou associação significativa ($p<0,0001$) com a presença de desvitalização identificada durante a avaliação macroscópica (Figura 6). Segundo Pavletic (2010) complicações como isquemia e necrose em retalhos cutâneos estão relacionadas a mudanças da anatomia vascular durante a elevação do retalho do seu local de origem, resultando em redução do suprimento sanguíneo, principalmente das regiões mais distantes da base. Outros fatores podem contribuir para redução da perfusão dos retalhos como a técnica cirúrgica inadequada, divulsão excessiva e trauma prévio. Além disso, retalhos de padrão subdérmico apresentam menor capacidade de perfusão sanguínea por apresentarem em sua estrutura somente a rede vascular do plexo subdérmico. Neste estudo todos os animais foram submetidos a mesma técnica cirúrgica de forma padronizada e a necrose não foi uma alteração frequentemente observada nos animais submetidos a laserterapia.

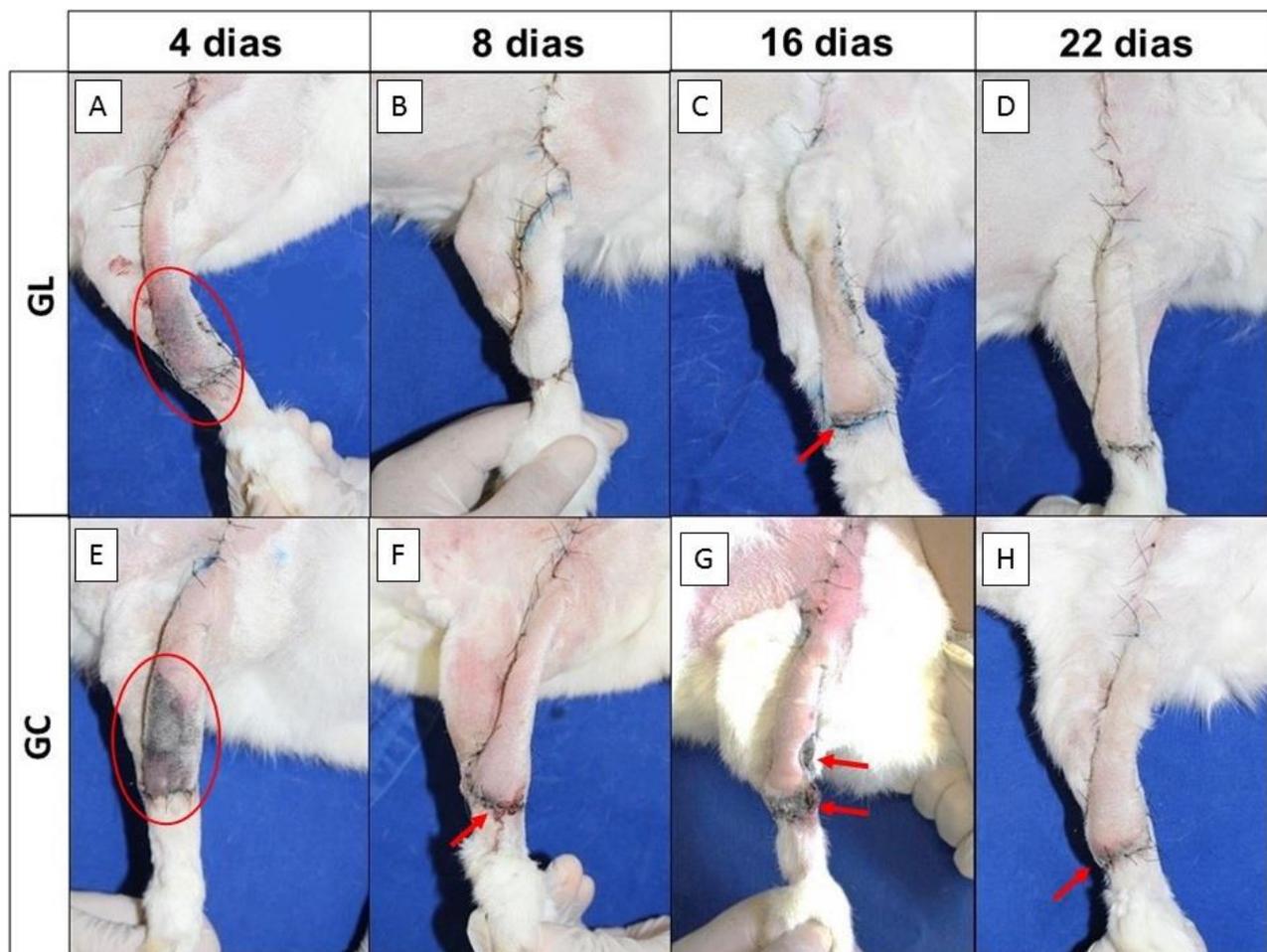


Figura 6. Imagens fotográficas de retalhos tubulares de padrão subdérmico em coelhos dos diferentes grupos durante os 4 momentos distintos da avaliação macroscópica. A) Aparência macroscópica do retalho tubular no quarto dia de pós-operatório de coelho do GL, observar área de coloração azulada (área delimitada por uma marcação circular). B) Oitavo dia de pós-operatório de coelho do GL. C) Décimo sexto dia de pós-operatório de coelho do GL, observar a presença de necrose desvitalização discreta (seta). D) Vigésimo segundo dia de pós-operatório de coelho do GL E) Aparência macroscópica do retalho tubular no quarto dia de pós-operatório de coelho do grupo controle, observar área de coloração enegrecida (área delimitada por uma marcação circular). F) Oitavo dia de pós-operatório de coelho do GC, observar a presença de secreção serosanguinolenta associada a coloração enegrecida em região de extremidade do retalho tubular (seta). G) Décimo sexto dia de pós-operatório de coelho do GC, observar a presença de

desvitalização moderada e ulceração (seta). Vigésimo segundo dia de pós-operatório de coelho do GC, observar a presença de desvitalização discreta. Jaboticabal, 2017.

A manutenção do suprimento sanguíneo adequado é fundamental para evitar complicações como edema, seroma, isquemia, necrose e deiscência de sutura, comumente observadas em cirurgia reconstrutiva (Walpensteijn, 2013; Wardlaw, 2013). Foi possível observar que os animais do GL, aos 4 dias de pós-operatório, apresentavam neovascularização discreta, e este achado apresentou associação significativa ($p < 0,0001$) com critérios como ausência de necrose, edema, secreção, desvitalização e deiscência de sutura (Figura 8). Essas características podem estar relacionadas aos efeitos fotobiomoduladores dos lasers de baixa intensidade que atuam promovendo neovascularização (Rabelo et al, 2006), proliferação de fibroblastos (Dall Agnol et al., 2009), efeito antiinflamatório (Theodoro et al., 2002) além de acelerarem o processo de reparação tecidual (Rabelo et al., 2006). Corroborando ao previamente citado, observou-se que aos 4 dias de pós-operatório no GC a presença de necrose moderada (Figura 7), avaliada pela microscopia, estava associada significativamente ($p < 0,0001$) com a presença de edema intenso, exsudato inflamatório, desvitalização moderada e neovascularização discreta (Figura 8).

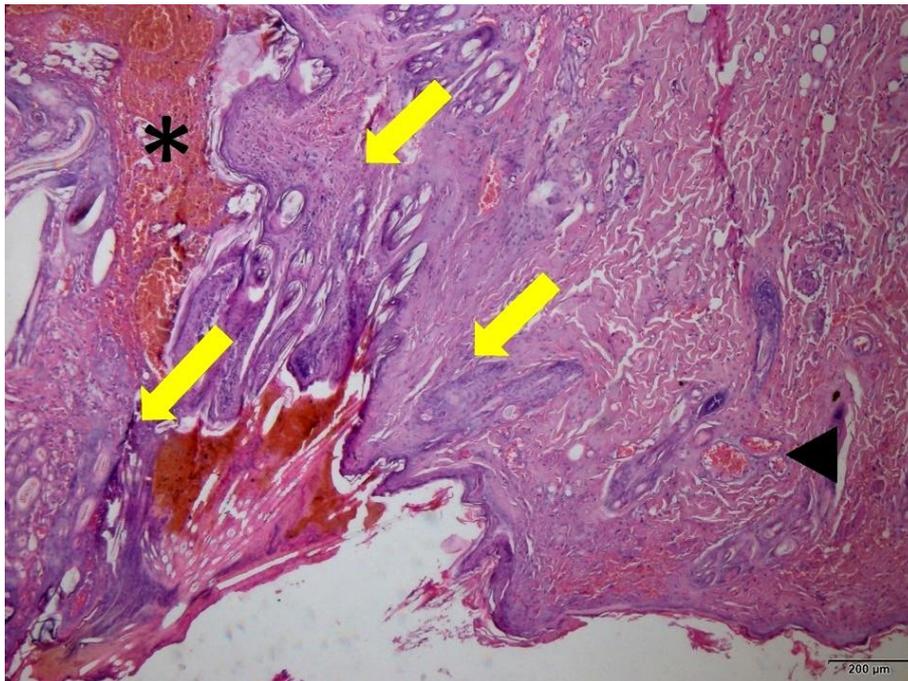


Figura 7. Fotomicrografia de pele de coelho submetido a técnica de retalho cutâneo tubular. Observar a presença de áreas de necrose moderada (seta amarela); presença de hemorragia (asterisco) e neovascularização discreta (cabeça de seta preta). Objetiva de 4x, coloração hematoxilina e eosina. Jaboticabal, 2017.

A presença de neovascularização discreta foi constatada aos 8 dias de pós-operatório nos animais do GL e estava associada a ausência de desvitalização, ausência de secreção e ausência de deiscência de sutura ($p < 0,0001$) (Figura 10). Já no grupo controle, neste mesmo período pós-operatório foi possível observar que a ausência de neovascularização estava associada ($p < 0,0001$) a complicações como edema moderado, presença de exsudato inflamatório e deiscência parcial de sutura (Figura 8). A presença de exsudato inflamatório caracteriza-se pela presença de fluido serossanguinolento produzido após o trauma cirúrgico, decorrente do rompimento de pequenos vasos, estando associada a presença de inflamação local (Amsellem, 2011). Uma possível explicação para os animais do GL não apresentarem essa complicação também envolve a ação do laser como agente anti-inflamatório, visto este promover atividade mitocondrial, com consequente aumento de adenosinatrifosfato (ATP), vasodilatação e decréscimo dos níveis de prostaglandinas (Maiya et al., 2009; Castano et al., 2007).

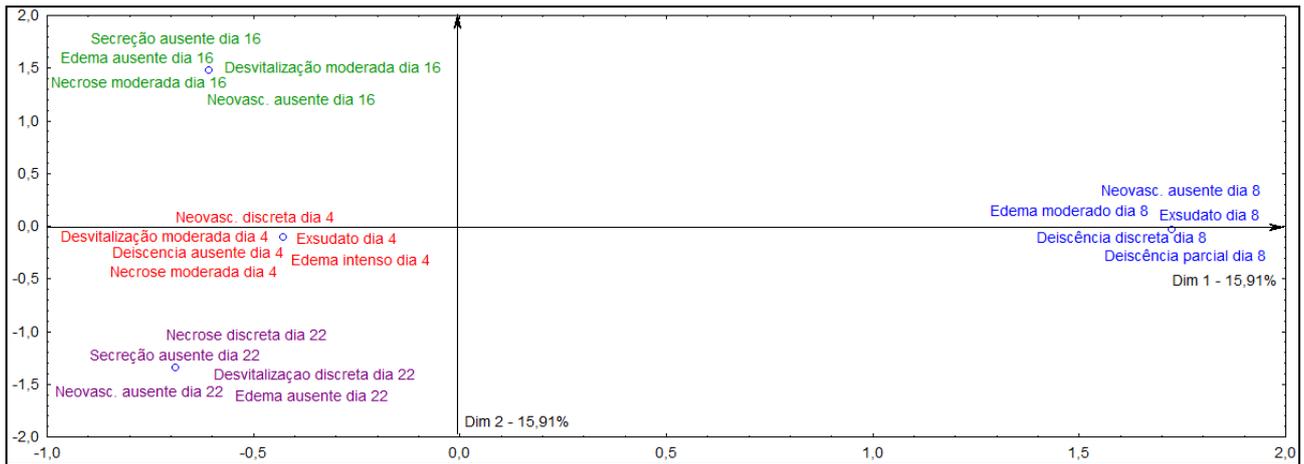


Figura 8. Mapa perceptual mostrando associação entre as categorias do GC avaliadas na região distal do retalho cutâneo tubular. As variáveis destacadas em vermelho apresentaram associação entre si aos 4 dias de pós-operatório. As variáveis destacadas em azul apresentaram associação aos 8 dias de pós-operatório. As variáveis destacadas em verde apresentaram associação aos 16 dias de pós-operatório. As variáveis destacadas em roxo apresentaram associação aos 22 dias de pós-operatório.

Nos animais avaliados aos 16 dias de pós-operatório, foi possível observar necrose moderada associada a ausência de neovascularização nos animais do GC, esses animais também apresentavam ausência de secreção e ausência de edema ($p < 0,0001$) (Figura 10). Neste mesmo período, a presença de neovascularização discreta foi suficiente para evitar a necrose nos animais do GL (Figura 9). Em seu estudo, Neves (2011), constatou que o laser de baixa intensidade diminuiu de forma efetiva as áreas de necrose nos retalhos cutâneos em ratos tratados com nicotina, quando comparadas às áreas de necrose nos animais não irradiados.

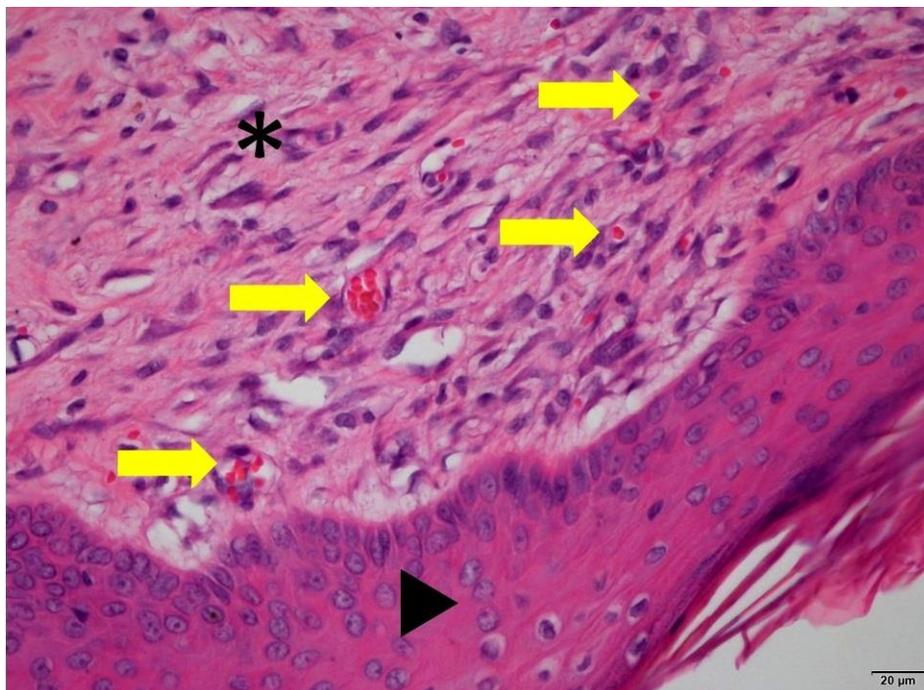


Figura 9. Fotomicrografia de pele de coelho submetido a técnica de retalho cutâneo tubular. Observar a presença de neovascularização discreta, vasos identificados (seta amarela); integridade tecidual preservada, observar epiderme preservada (cabeça de seta preta) e derme profunda (asterisco). Objetiva de 40x, coloração hematoxilina e eosina. Jaboticabal, 2017. Jaboticabal, 2017.

As avaliações realizadas aos 22 dias de pós-operatório corresponderam ao estudo da fase mais tardia do processo de cicatrização. Neste período, tanto os animais do GT quanto os animais do GL apresentaram neovascularização ausente, provavelmente por se tratar da fase de maturação do processo de cicatrização marcada pela redução do número de capilares no tecido fibroso, que pode perdurar dias a anos (Zimmermann, 2007; Pitzer; Patel, 2011). Entretanto no grupo controle ainda era possível observar a presença de necrose discreta, e tal achado não foi observado no grupo tratado.

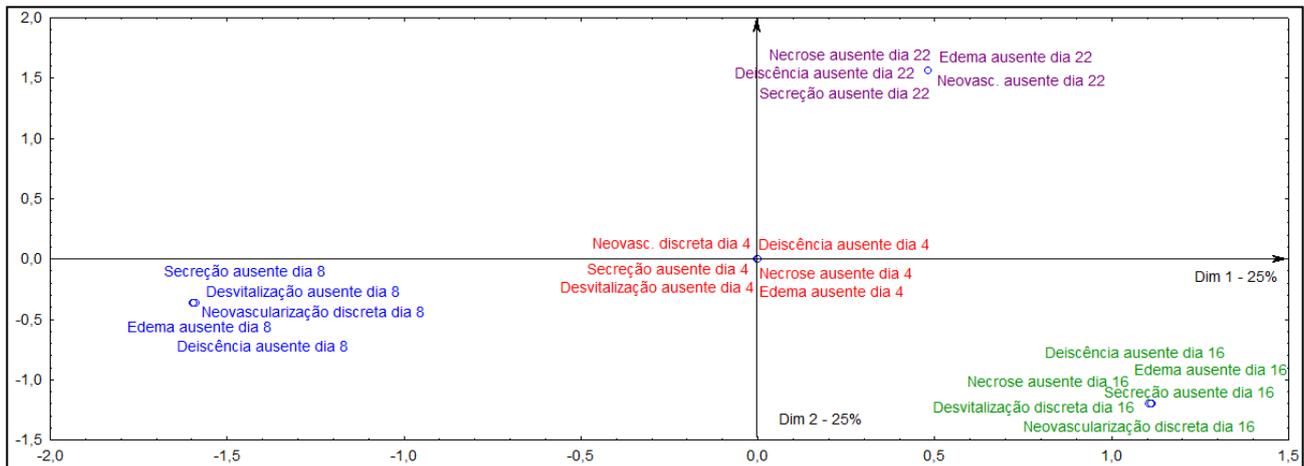


Figura 10. Mapa perceptual mostrando associação entre as categorias do GL avaliadas na região distal do retalho cutâneo tubular. As variáveis destacadas em vermelho apresentaram associação aos 4 dias de pós-operatório. As variáveis destacadas em azul apresentaram associação aos 8 dias de pós-operatório. As variáveis destacadas em verde apresentaram associação aos 16 dias de pós-operatório. As variáveis destacadas em roxo apresentaram associação aos 22 dias de pós-operatório.

Em muitos casos em que o avaliador considerou a presença de desvitalização pela avaliação macroscópica, durante a avaliação microscópica, pôde-se observar a ausência de necrose em mesma região. Esta situação ocorreu nos casos em que existia a presença de crosta com a ocorrência de reepitelização subjacente a esta estrutura (Figura 11). Essa associação aconteceu principalmente nos animais avaliados nos períodos mais tardios, de 16 dias de pós-operatório ($p < 0,0001$) e 22 dias de pós-operatório ($p < 0,0001$) tanto do GL quando do GC.

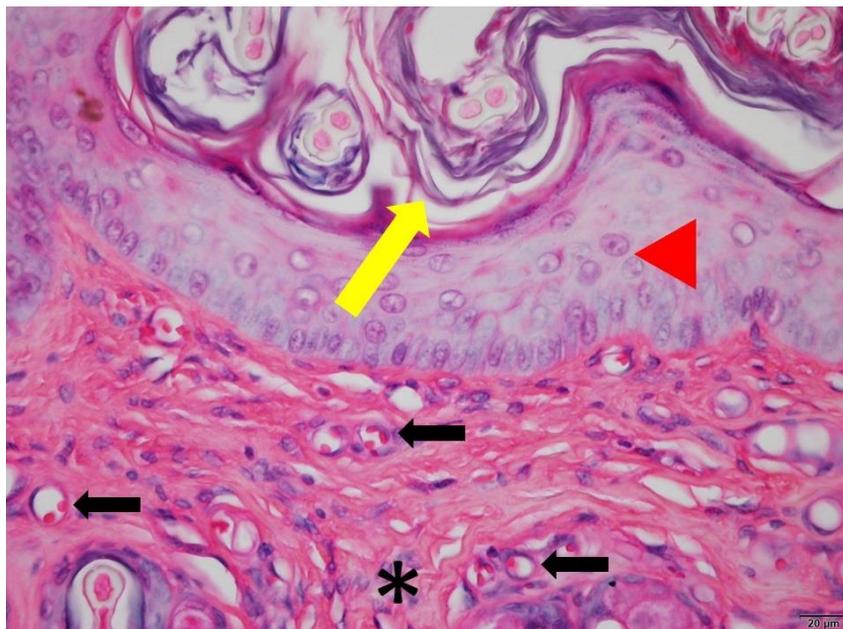


Figura 11. Fotomicrografia de pele de coelho submetida a técnica de retalho cutâneo tubular. Observar a presença de crosta (seta amarela) com presença de reepitelização subjacente a crosta composta por epiderme (cabeça de seta vermelha) e derme profunda (asterisco). Observar a presença de vasos sanguíneos (seta preta). Objetiva de 40x, coloração hematoxilina e eosina. Jaboticabal, 2017. Jaboticabal, 2017.

Atualmente é preconizado que os retalhos cutâneos de padrão subdérmico quando aplicados de forma direta sejam planejados de forma a evitar complicações como isquemia e necrose, para essa finalidade as proporções de 2:1 (relação comprimento x largura do retalho) devem ser respeitadas. Além disso, quando esse retalho for rotacional é importante que o ângulo de rotação seja de até 90°, pois à medida que o ângulo de rotação aumenta, ocorre a torção da dobra da pele da base juntamente com os vasos sanguíneos, prejudicando a perfusão sanguínea local. Em situações em que seja necessário extrapolar todos os limites citados, o mesmo deve ser elaborado como um retalho indireto, em múltiplas fases afim de evitar complicações (Macphail, 2013; Pavletic, 2010; Castro et al., 2015). Neste estudo o retalho cutâneo tubular de padrão subdérmico direto ultrapassou todos os limites preconizados até momento pela literatura, propositalmente. Com a finalidade de avaliar a capacidade do laser em promover neovascularização e evitar possíveis complicações.

De forma geral não houve perda total de nenhum retalho tubular nos grupos estudados, entretanto o laser de baixa intensidade na dose de 4 J/cm² e comprimento de onda de 660 nanômetros (nm) e 30 mW (megawatt) de potência mostrou ser uma importante fonte de estímulo a neovascularização e conseqüentemente evitar complicações como necrose, edema, inflamação intensa e deiscência de sutura. Estes resultados vão ao encontro dos achados de Andrade (2014), que afirma que a laserterapia de baixa potência nas doses entre 3-6 J/cm² parecem ser mais eficazes e que doses acima de 10 J/cm². Além disso, os comprimentos de onda compreendidos entre 632,8 e 1000nm seguem como aqueles que apresentam resultados mais satisfatórios no processo de cicatrização tecidual. A ação satisfatória do LBI também foi comprovada por Reis filho (2017), neste estudo a laserterapia foi efetiva em favorecer o processo cicatricial e a integração do enxerto livre.

Os achados deste estudo reforçam a necessidade de busca por estudos que comprovem os reais limites de retalhos de padrão subdérmico de acordo com sua classificação e ângulo de rotação. Além de servir como base para estudos que possam elucidar a ação de terapias adjuvantes a cirurgias reconstrutivas na tentativa de reduzir as complicações comumente observadas.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos é possível concluir que o retalho tubular de padrão subdérmico direto pode ser empregado em coelhos, mesmo quando o ângulo de rotação ultrapassar 90°. Entretanto, é necessário realizar estudos que comprovem a viabilidade da técnica empregada em outras espécies para a implementação na rotina cirúrgica de pequenos animais. A terapia proposta com o laser de baixa intensidade na dose e frequência empregadas neste estudo se mostrou eficaz em promover neovascularização e evitar complicações relacionadas a hipóxia e inflamação tecidual, apresentando ampla praticidade, podendo ser facilmente utilizada como terapia pós-operatória. Esta associação entre a técnica de retalho tubular de padrão subdérmico e a laserterapia de baixa intensidade revelaram-se procedimentos promissores em cirurgia reconstrutiva.

REFERÊNCIAS

- Andrade F., Clark R., Ferreira M. 2014. Efeitos da laserterapia de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas Effects of low-level laser therapy on wound healing. *Rev. Col. Bras. Cir.*41(2): 129-133
- Amsellem, P. 2011. Complications of reconstructive surgery in companion animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, Vol 41, Issue 5, pp, 995-1006.
- Castano A, Dai T, Yaroslavsky I, Cohen R, Apruzzese W, Smotrich M, et al. 2007. Low-level laser therapy for zymosan-induced arthritis in rats: importance of illumination time. *Lasers Surg Med.* ;39(6):543-50.
- Biglioli, F.; Rabagliati, M.; Gatti, S. et al. 2004. Kinking of pedicle vessels and its effect on blood flow and patency in free flaps: an experimental study in rats. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 32, 94-97
- Bourguignon-Filho A.M., Feitosa A.C.R., Beltrão G.C. & Pagnoncelli R.M. 2005. Utilização do laser de baixa intensidade no processo de cicatrização tecidual. Revisão de literatura. *Rev Port Estomatol Cir Maxilofac.* 46:37-43.
- Dall Agnol M.A., Nicolau R.A., Liam C.J. & Munin E. 2009. Comparative analysis of coherent light action (laser) versus non-coherent light (light-emitting diode) for tissue 6 repair in diabetic rats. *Lasers Med Sci.* 24(6):909-916.
- Hedlund C.S. 2007. Surgery of the integumentary system. In: Fossum T.W. *Small animal surgery*. 3rd ed. St. Louis, Missouri: Mosby Inc., Elsevier Inc. pp. 159-259.
- Heidari M., Paknejad M., Jamali R., Nokhbatolfoghahaei H., Fekrazad R. & Moslemi N. 2017. Effect of laser photobiomodulation on wound healing and postoperative pain following free gingival graft: A split-mouth triple-blind randomized controlled clinical trial, *J Photochem Photobiol B.* 172:109-114.

- Huppés R.R., Uscategui R.A.R., Barros F., Crivelaro R.M., Pazzini J.M., De Nardi A.B., Castro J.L.C. & Amorim R.L. 2015. Reparación de defecto cutâneo posterior a resección de neurofibrosarcoma em rodilla com um colgajo tubular subdérmico. *Inter-médica* editorial, p. 72-77.
- Macphail C. 2013. Wound management. In: FOSSUM, T. W. *Small Animal Surgery*. 4. ed. St. Louis, cap. 16, p. 190-207.
- Maiya A, Kumar P, Nayak S. 2009. Photo-stimulatory effect of low energy helium-neon laser irradiation on excisional diabetic wound healing dynamics in wistar rats. *Indian J Dermatol.*;54(4):323-9. 19.
- Neves L, Marcolino A, Prado R, Thomazin J. 2011. Laser 830nm na viabilidade do retalho cutâneo de ratos submetidos à nicotina. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2011;19(6):342-5. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.
- Pavletic M.M. 2010. *Small Animal Wound Management and Reconstructive Surgery*. In: _____. *Axial parttner skin flaps*, 3rd ed. Iowa: Wiley – Blackwell, Chap. 13, pp. 357-378.
- Pazzini J.M., De Nardi A.B., Huppés R.R., Gering A.P., Ferreira M.G.P.A., Silveira C.P.B., Luzzi M.C. & Oliveira J.A. 2016. Utilização de plasma rico em plaquetas para estimulação da angiogênese em flape de padrão axial toracodorsal em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). *Pesq. Vet. Bras.* 36(2):108-118.
- Pitzer G., Patel K., 2011. Proper care of early wounds to optimize healing and prevent complications. *Facial Plast Surg Clin N Am.* v.19(1), p. 491-504.
- Rabelo S.B., Villaverde A.B., Nicolau R.A., Salgado M.A.C., Melo M.S. & Pacheco M.T.T. 2006. Comparison between wound healing in induced diabetic and nondiabetic rats after low-level laser therapy. *Photomed Laser Surg.* 24(4):474-479.
- Reis Filho N.,Ferreira M., A. Pascoli A.,Viéra R.,Pazzini J, Oliveira R., Salardani I, Silva P., Rosseto L, Albernaz S., Vasconcelos R., Ferraudo A., Moraes P., Nardi A. 2017. Epitelização de enxertos cutâneos em feridas recentes de coelhos tratados com membrana amniótica canina e/ou laserterapia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.69, n.3, p.603-612
- Sakuma C., Matera J., Valente N. 2003. Clinical study of skin flap application during oncologic surgery in dog. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*:40 (supl):32-37.
- Walpensteijn J; Ter Haar, G. *Reconstructive surgery and wound management of the dog and cat*. CRC Press, 2013.
- Wardlaw L., Lanz O. Axial pattern and myocutaneous flap In. TOBIAS, Karen M.; JOHNSTON, Spencer A. *Veterinary Surgery: Small Animal: 2-Volume Set*. Elsevier Health Sciences, 2013.
- Zimmermann M. A membrana de látex como implante para correção de defeitos musculares em cães e coelhos. 2007. 52 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

APÊNDICE A

Avaliação Macroscópica					
N° animal		Sexo	M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	Grupo pós-op (dias)	
Temperatura		Data cirurgia	__/__/__	Data avaliação	__/__/__
EDEMA	%	Localização	Deiscência de sutura	%	Localização
Ausente <input type="checkbox"/>			Ausente <input type="checkbox"/>		
Discreto <input type="checkbox"/>	< 25%				
Moderado <input type="checkbox"/>	25-50%		Parcial <input type="checkbox"/>		
Intenso <input type="checkbox"/>	> 75%		Total <input type="checkbox"/>		
PRESEÇA DE DESVITALIZAÇÃO	%	Localização	COLORAÇÃO TUBO	%	Localização
Ausente <input type="checkbox"/>			Pálido <input type="checkbox"/>		
Discreto <input type="checkbox"/>	< 25%		Róseo <input type="checkbox"/>		
Moderado <input type="checkbox"/>	25-50%		Azulado <input type="checkbox"/>		
Intenso <input type="checkbox"/>	> 75%		Enegrecido <input type="checkbox"/>		
SECREÇÃO QUANTIDADE	%	Localização	SECREÇÃO ASPECTO	%	Localização
Ausente <input type="checkbox"/>			Exud. Infl. <input type="checkbox"/>		
Discreto <input type="checkbox"/>	< 25%				
Moderado <input type="checkbox"/>	25-50%		Purulento <input type="checkbox"/>		
Intenso <input type="checkbox"/>	> 75%		Hemorág. <input type="checkbox"/>		
PRESEÇA DE INFECÇÃO	OBSERVAÇÕES:				
Sim <input type="checkbox"/>					
Não <input type="checkbox"/>					

Apêndice A. Ficha de avaliação macroscópica do retalho cutâneo tubular contendo os parâmetros analisados pelo avaliador nos dias 4, 8, 16 e 22 dias do período pós-operatório. Jaboticabal, 2017.

APÊNDICE B

Instruções para os autores da Revista Pesquisa Veterinária Brasileira.

Os artigos devem ser submetidos através do Sistema Scholar One, link <<https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponíveis no ato de submissão e no site da revista (www.pvb.com.br). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outro periódico.

Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob a forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do artigo enviado.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos artigos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os artigos submetidos são avaliados pelos pares (peer review) e, aceitos para publicação, com dois pareceres favoráveis ou rejeitados, por dois pareceres desfavoráveis. Os direitos autorais dos artigos aceitos para publicação permanecem com os autores.

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista é cobrada taxa de publicação (paper charge) no valor de R\$ 1.500,00 por artigo editorado, na ocasião do envio da comunicação de aceite, ao autor para correspondência. Não há taxa de submissão e avaliação de artigo.

1. Os artigos devem ser organizados em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES, Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o Título deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente abreviar seus nomes quando compridos, mas mantendo o primeiro nome e o último sobrenome por extenso, como por exemplo:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto (inverso, Peixoto P.V.); Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa (inverso, Riet-Correa F.). Os artigos devem ter no máximo 8 (oito) autores;

c) o ABSTRACT deve ser uma versão do RESUMO em português, podendo ser mais explicativo, seguido de “INDEX TERMS” que incluem palavras do título;

d) o RESUMO deve conter o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões, seguido dos “TERMOS DE INDEXAÇÃO” que incluem palavras do título;

e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do artigo;

f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição da experimentação por outros pesquisadores. Em experimentos com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros (em vez de Tabelas) devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente expressar dados complexos, por gráficos (=Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar artigos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados;

j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no artigo e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabética e cronologicamente, pelo sobrenome do primeiro autor, seguido dos demais autores (todos), em caixa alta e baixa, do ano, do título da publicação citada, e, abreviado (por extenso em casos de dúvida), o nome do periódico ou obra, usando sempre como exemplo os últimos fascículos da revista (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto devem ser atendidas as seguintes normas:

a) A digitação deve ser na fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das Figuras no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras e os Quadros devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Os nomes científicos devem ser escritos por extenso no início de cada capítulo.

b) a redação dos artigos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em

sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o artigo; as notas deverão ser lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo número de chamada, sem o uso do “Inserir nota de fim”, do Word. Todos os Quadros e todas as Figuras têm que ser citados no texto. Estas citações serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, em ordem crescente. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não devem conter citações bibliográficas.

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores (na língua do país dos autores), o e-mail do autor para correspondência e dos demais autores. Em sua redação deve-se usar vírgulas em vez de traços horizontais;

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no artigo, serão colocadas entre parênteses, após o nome da instituição por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; artigos de até dois autores serão citados pelos nomes dos dois, e com mais de dois, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois artigos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano. Artigos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do artigo que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de artigos colocados cronologicamente entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano, como por exemplo: (Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada em caixa alta e baixa, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. Os gráficos (=Figuras) devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área do gráfico (=Figura); evitar-se-á o uso de título ao alto do gráfico (=Figura).

4. As legendas explicativas das Figuras devem conter informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, independente do texto). 5. Os Quadros devem ser explicativos por si mesmos. Entre o título (em negrito) e as colunas deve vir o cabeçalho entre dois traços longos, um acima e outro abaixo. Não há traços verticais, nem fundos cinzas. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.