

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

**LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE NA AMPLIAÇÃO
DAS DIMENSÕES DE RETALHOS SUBDÉRMICOS EM
RATOS WISTAR**

Mariana Palma Correa da Silva
Médica Veterinária

2021

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

**LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE NA AMPLIAÇÃO
DAS DIMENSÕES DE RETALHOS SUBDÉRMICOS EM
RATOS WISTAR**

Discente: Mariana Palma Correa da Silva

Orientador: Prof. Dr. Andrigo Barboza de Nardi

**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**

2021

Silva, Mariana Palma Correa
S5861 Laserterapia de baixa intensidade na ampliação das
dimensões de retalhos subdérmicos em ratos wistar/
Mariana Palma Correa da Silva. – – Jaboticabal, 2021
54.: tabs, fotos.

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

Orientador: Andriago Barboza De Nardi

1. Cirurgia. 2. Terapia a laser. 3. Retalhos cirúrgicos. 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.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE NA AMPLIAÇÃO DAS
DIMENSÕES DE RETALHOS SUBDÉRMICOS EM RATOS WISTAR

AUTORA: MARIANA PALMA CORREA DA SILVA

ORIENTADOR: ANDRIGO BARBOZA DE NARDI

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

Andrigo Barboza de Nardi

Prof. Dr. ANDRIGO BARBOZA DE NARDI (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Andrigo Barboza de Nardi

Dr. ANDRÉ DE MATTOS FARO (Participação Virtual)
Instituto Federal Catarinense - IFC / Campus Araquari/sc

Andrigo Barboza de Nardi

Profa. Dra. PAOLA CASTRO MORAES (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / UNESP / FCAV - Jaboticabal

Jaboticabal, 25 de maio de 2021

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Mariana Palma Correa da Silva – Nascida em Fartura - São Paulo, Brasil, 25 de maio de 1994, casada. Graduada em Medicina Veterinária pela “Universidade Estadual do Norte do Paraná” câmpus Bandeirantes/PR – UENP (2012-2016). Aprimoramento em Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais pelo “Centro Universitário de Ourinhos” - UNIFIO (2017-2018). Atualmente é aluna regular de mestrado em Cirurgia Veterinária pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, câmpus de Jaboticabal e bolsista Capes, sob orientação do Prof. Dr. Andriago Barboza de Nardi. Tem experiência na área de Medicina Veterinária, com ênfase em clínica e cirurgia veterinária, atuando principalmente nos seguintes temas: oncologia clínica, cirurgia oncológica e reconstrutiva.

“Ainda que não se possa curar, sempre é possível cuidar”. Lilian Hennemann-Krause

Dedico este trabalho primeiramente à Deus por ter dado forças para seguir essa caminhada, a minha mãe, minha tia avó (*in memorian*) e ao meu esposo que sempre me incentivaram, dando apoio e confiando no meu trabalho durante mais uma etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, pela oportunidade que me deu, por sempre colocar pessoas queridas em minha vida. À minha mãe, que nunca mediu esforços para que eu pudesse alcançar os meus objetivos, sempre me incentivando e dando todo apoio possível. E sem dúvidas à minha tia avó Dona Lazara (*in memoriam*), por cada puxão de orelha e por toda a preocupação que sempre demonstrou por mim, me ajudando em todos os momentos. Muito obrigada, não tenho palavras para descrever a imensa gratidão que sinto por vocês. Ao meu esposo, Flávio, que durante esse período sempre esteve ao meu lado, me incentivando, apoiando e mostrando que sou capaz de alcançar os meus objetivos. Obrigada por cada palavra, ato de amizade, companheirismo e amor que demonstrou durante essa fase da Nossa vida!

As minhas amigas, Jordana, Marcelli, Ariane, Jéssica e Andressa, que mesmo longe, sempre estivemos juntas, cada uma trilhando o seu caminho, sempre mostrando de que poderíamos chegar lá! Também não posso deixar de lado as novas amizades que fiz no serviço de Oncologia e que quero levar para a vida toda. Obrigada por cada riso, cada ensinamento, nunca vou me esquecer de vocês!

A meu orientador, Prof. Andriago Barboza De Nardi obrigada por cada ensinamento e por eu ter o privilégio de ser sua orientada, meu muito obrigada! Aos grandes mestres professores Nazilton de Paula Reis Filho e André de Mattos Faro por todos os ensinamentos. Agradeço também a primeira incentivadora que encontrei durante o caminho acadêmico, mestre e amiga, Prof^a Dra Celmira Calderón.

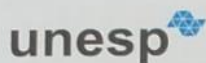
O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Não posso deixar de agradecer a cada funcionário e professor da UNESP, vocês fizeram parte de todos os meus dias durante esse ano, sendo muito importante na minha formação pessoal e profissional. À Universidade Estadual Paulista, Júlio de Mesquita Filho, por ter me acolhido tão bem e contribuído para minha formação profissional.

SUMÁRIO

	Página.
CERTIFICADO COMITÊ DE ÉTICA.....	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	v
1. CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	13
1.1 INTRODUÇÃO	13
1.2 REVISÃO DE LITERATURA	14
1.2.1 ESTRUTURAS DA PELE	14
1.2.2 CIRURGIA RECONSTRUTIVA	16
1.2.3 RETALHOS CUTÂNEOS	18
1.2.4 LASERTERAPIA	19
1.4 REFERÊNCIAS.....	22
2. CAPÍTULO 2 – LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE NA AMPLIAÇÃO DAS DIMENSÕES DE RETALHOS SUBDÉRMICOS EM RATOS WISTAR.....	27
RESUMO.....	27
INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODOS	30
ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
RESULTADOS	35
DISCUSSÕES.....	43
CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS.....	45
APÊNDICE A.....	48
APÊNDICE B.....	49
APÊNDICE C	50
APÊNDICE D	52

CERTIFICADO COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **“Utilização do laser de baixa intensidade como potencializador da angiogênese em retalhos subdérmicos de ratos wistar (*Rattus norvegicus albinus wistar*)”**, protocolo nº 08200/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Andriago 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 julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 04 de julho de 2019.

Vigência do Projeto	05/08/2019 a 03/08/2020
Espécie / Linhagem	Ratos (<i>Rattus norvegicus albinus wistar</i>)
Nº de animais	30 animais
Peso / Idade	250 a 300 g / 50 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da Faculdade de Medicina Veterinária, UNESP, Campus Botucatu

Jaboticabal, 04 de julho de 2019.


Prof.ª Dr.ª Fabiana Pilarski
 Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal/ SP - Brasil
tel 16 3209 7100 www.fcav.unesp.br

LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE NA AMPLIAÇÃO DAS DIMENSÕES DE RETALHOS SUBDÉRMICOS EM RATOS WISTAR

RESUMO – Atualmente houve aumento significativo de pacientes oncológicos atendidos na rotina Veterinária. A principal forma de controle de diversos neoplasmas é com a ressecção cirúrgica, e devido à excisão de grandes neoplasmas, é comum a confecção de extensos defeitos, aumentando a indicação de cirurgias reconstrutivas. Novas técnicas para síntese dos defeitos criados passaram a serem utilizadas na Medicina Veterinária, como o uso de retalhos ou enxertos. Na confecção de retalhos subdérmicos, uma das limitações é a proporção entre comprimento e largura do retalho, pois o comprimento não deve passar a proporção de 2,5:1, pois com o aumento desta proporção, eleva o risco de complicações no pós-operatório. Sendo assim, novas maneiras para aperfeiçoar esta modalidade e melhorar a reparação tecidual no pós-operatório vem sendo pesquisadas, como por exemplo, a Laserterapia de Baixa Intensidade (LBI). Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia da LBI em duas dosagens diferentes, afim de aumentar a proporção na extensão da confecção de retalhos subdérmicos, que atualmente é limitada à 2,5:1 (comprimento x largura). Foram utilizados 24 ratos (*Rattus norvegicus albinus wistar*), sendo cada um submetido à confecção de retalho cutâneo em seu dorso, distribuídos de forma aleatória em três grupos (Controle – sem a terapia da LBI, grupo na dose de 4J/cm² e grupo na dose de 6J/cm²). Os dois grupos que foram irradiados pela terapia à laser sobre o retalho nos dias D0 (dia do procedimento cirúrgico), D2, D4 e D6. A avaliação macroscópica foi realizada aos dias três e sete não mostrou alteração de acordo com o tratamento estabelecido. A avaliação microscópica com a análise histopatológica não apontou diferença estatística entre os grupos. Conclui-se que a exposição de retalhos cutâneos à dose de energia 4J/cm² e 6J/cm² a cada 48 horas não interfere perceptivelmente sobre a cicatrização e a inflamação local, não contribuindo para o aumento da proporção do retalho.

Palavras-chave: cirurgia, terapia a laser, retalhos cirúrgicos.

LOW-LEVEL LASER THERAPY IN EXTENDING THE DIMENSIONS OF SUBDERMAL FLAPS IN WISTAR RATS

ABSTRACT – Currently, there has been a significant increase in cancer patients treated in the veterinary routine. The main form of control of several neoplasms is with surgical resection, and due to the excision of large neoplasms, it is common to make extensive defects, increasing the indication for reconstructive surgery. New techniques for synthesizing the created defects started to be used in Veterinary Medicine, such as the use of flaps or grafts. In the manufacture of subdermal flaps, one of the limitations is the proportion between length and width of the flap, as the length should not exceed the proportion of 2.5:1, as the increase in this proportion increases the risk of complications in the postoperative period. Thus, new ways to improve this modality and improve tissue repair in the postoperative period have been researched, such as Low-level Laser Therapy (LLL). This study aimed to evaluate the effectiveness of LLLT at two different dosages, in order to increase the proportion in the extension of subdermal flaps, which is currently limited to 2.5:1 (length x width). Twenty-four rats (*Rattus norvegicus albinus wistar*) were used, each one submitted to a skin flap on its back, randomly distributed into three groups (Control - without LLL therapy, 4J/cm² dose group and no group dose of 6J/cm²). The two groups that were irradiated by laser therapy over the flap on days D0 (day of the surgical procedure), D2, D4 and D6. The macroscopic evaluation was carried out on days three and seven, showing no change in accordance with the established treatment. Microscopic evaluation with histopathological analysis showed no statistical difference between groups. It is concluded that the exposure of skin flaps to the dose of energy 4J/cm² and 6J/cm² every 48 hours does not perceptibly interfere with healing and local inflammation, not contributing to the increase in the proportion of the flap.

Keywords: surgery, laser therapy, surgical flaps.

LISTA DE ABREVIATURAS

Cm – centímetro

D0 – Dia da cirurgia

D2 – Dia 2 de pós-operatório

D3 – Dia 3 de pós-operatório

D4 – Dia 4 de pós-operatório

D6 – Dia 6 de pós-operatório

D7 – Dia 7 de pós-operatório

IM – via intramuscular

J – joules

J/cm² – joules por centímetro quadrado

kg – quilograma

LBI – laserterapia de baixa intensidade

mg – miligrama

mW – megawatt

nM – nanómetro

1. CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1.1 INTRODUÇÃO

Devido ao aumento na expectativa de vida dos pacientes na Medicina Veterinária, nas últimas décadas houve um crescimento considerável de pacientes oncológicos submetidos à cirurgias reconstrutivas. Após exérese de grandes neoplasmas, necessita-se dessa modalidade cirúrgica como tentativa do retorno funcional do tecido lesionado, próximo à sua conformação normal (Slatter, 2007; Pavletic, 2018; Castro et al., 2015). O objetivo da cirurgia reconstrutiva é a cobertura de ferida ou defeito gerado, após a excisão de grandes neoplasmas ou neoplasias em regiões anatômicas de difícil síntese cirúrgica, reduzindo o tempo necessário para a cicatrização (Martins et al., 2015).

Existem duas modalidades cirúrgicas principais para correção de defeitos em cirurgia reconstrutiva: a confecção de retalhos e enxertos (Montinaro et al., 2014; Pazzini et al., 2016). Os retalhos são porções de pele parcialmente desinseridas do seu leito original e transpostas para um leito receptor no qual recobrirão a ferida, anteriormente gerada, enquanto, os enxertos são segmentos da epiderme e derme, totalmente removidos do leito doador e transferidos para o leito receptor (Pavletic, 2007; Stanley et al., 2013).

Devido às complicações na cicatrização de feridas em pós-operatórios de cirurgias reconstrutivas, ocorreu aumento na busca por terapias adjuvantes e melhorias da técnica cirúrgica, com o intuito de minimizar as complicações no pós-operatório (Slatter, 2007; Pavletic, 2018). Uma modalidade terapêutica

recente é a laserterapia de baixa intensidade (LBI) (Busnardo et al., 2010; Musstaf et al., 2019).

A LBI tem sido utilizada amplamente na medicina e, nos últimos anos, na medicina veterinária, atuando principalmente no auxílio da reparação de feridas, diminuindo o processo inflamatório, por meio de alterações físicas e biológicas (Busnardo et al., 2010; Andrade et al., 2014; Musstaf et al., 2019). Devido ao aumento dos fatores de crescimento, fotobiomodulação das células endoteliais e consequente aumento da neovascularização, é possível notar a melhoria gerada pela LBI na cicatrização de feridas, beneficiando técnicas reconstrutoras (Corazza et al., 2007; Musstaf et al., 2019).

O objetivo deste trabalho é avaliar a eficácia da LBI em duas dosagens diferentes, a fim de aumentar a proporção na extensão da confecção de retalhos subdérmicos, que atualmente é limitada à 2,5:1 (comprimento x largura).

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 Estruturas da pele

O maior órgão do corpo é a pele, correspondente a até 24% do peso corporal de um filhote, e a 12%, nos adultos (Slatter, 2007; Pavletic, 2018;). A pele é subdividida em duas principais camadas, a epitelial, denominada epiderme, e outra, composta por tecido conectivo, a derme. A derme se situa sobre uma base de tecido conjuntivo, o subcutâneo, que é composto por porção fibrosa e de gordura (Pavletic, 2007; Slatter, 2007).

A epiderme é composta por tecido avascular, epitélio estratificado queratinizado, em sua superfície, a qual varia o grau de queratinização de acordo com o esforço mecânico em que a região é sujeita. As principais funções da camada são proteção contra radiação, controle do fluxo de água e contra traumas (Slatter, 2007; Pavletic, 2018).

A derme é uma camada vascularizada, constituída por nervos, músculos, folículos pilosos e estruturas glandulares. Tem a função de nutrir a epiderme, fornecendo a sua sustentação. Possui fibras colágenas, reticulares e elásticas, circundadas por uma matriz composta por ácido hialurônico e ácido condroitino-sulfúrico (Slatter, 2007; Pavletic, 2018).

A hipoderme ou tecido subcutâneo está localizada profundamente à derme. De acordo com a histologia, a hipoderme apresenta duas camadas compostas por tecido adiposo subcutâneo e, mais internamente, o músculo panículo. É composta, principalmente, por gordura, trabéculas colágenas frouxas e fibras elásticas (MacPhail, 2014; Pavletic, 2018).

O músculo panículo é formado por pequenas fibras musculares dispostas sob áreas cutâneas, em cães e gatos. O principal músculo cutâneo, o do tronco, estende-se desde a região glútea até a peitoral, sendo denominado de platisma, na região da cabeça. O panículo não está presente nas porções distais dos membros (MacPhail, 2014; Pavletic, 2018).

O sistema vascular cutâneo é subdividido em três níveis: plexo profundo ou subdérmico, plexo médio ou cutâneo e plexo superficial ou subpapilar. O plexo subdérmico é a principal rede vascular da pele, formado por veias e artérias provenientes de vasos cutâneos diretos, responsáveis por nutrir

folículos pilosos, músculos eretores do pelo e glândulas tubulares. A pele precisa ser manipulada durante a cirurgia com cuidado para que haja manutenção do músculo cutâneo, a fim de preservar o plexo subdérmico e diminuir as intercorrências geradas por excesso de manipulação (MacPhail, 2014; Pavletic, 2018).

1.2.2 Cirurgia reconstrutiva

Com a grande evolução da medicina veterinária e maior expectativa de vida dos animais de companhia, houve aumento no número de animais que desenvolvem neoplasias. Sabe-se que uma das principais causas de óbitos em cães e gatos são tumores, representando, respectivamente, 50% e 35%. (Slatter, 2007; Pazzini et al., 2016; Pavletic, 2018).

A cirurgia reconstrutiva envolve o reparo de lesões de origem hereditária ou adquiridas (Slatter, 2007). É utilizada para o tratamento de lesões de outras origens, além da oncológica, como correções de feridas decorrentes de mordeduras, queimaduras e atropelamentos (Supp, 2005; Pazzini et al., 2016).

Na maioria dos casos de neoplasias, a opção terapêutica mais frequente é a cirurgia, sendo as vezes necessária a criação de grandes defeitos para a adequada remoção de neoplasmas (Slatter, 2007; Pavletic, 2018). Sendo assim, notou-se maior aplicabilidade das cirurgias reconstrutivas para correção dos defeitos gerados após a remoção dos neoplasmas (Pazzini et al., 2016).

Em casos de cirurgias oncológicas, inicialmente, realiza-se a exérese tumoral e, em seguida, a reconstrução local, a fim de promover a síntese da ferida. É de grande valia a compreensão e o conhecimento de anatomia,

fisiologia da espécie, técnicas para exérese e reconstrução, uso de terapias adjuvantes e alternativas à cirurgia para obter sucesso com essa modalidade (Pazzini et al., 2016).

Para realização de técnicas reconstrutivas, deve ser realizado planejamento prévio, levando em consideração o local do defeito, a elasticidade do tecido adjacente disponível e o suprimento sanguíneo. É necessária a preservação da vascularização da pele para obter maior probabilidade de êxito no procedimento. Entretanto, em alguns casos, devido à manipulação excessiva ou falta de planejamento durante o ato cirúrgico, pode-se desencadear processo isquêmico e necrose local sobre a região cirúrgica, ocasionando prejuízos significativos ao pós-operatório do paciente (Slatter, 2007; Pazzini et al., 2016; Pavletic, 2018).

Para correção dos defeitos, dentre outras opções, existem como modalidades cirúrgicas da cirurgia reconstrutiva, a confecção de retalhos e os enxertos. Os retalhos são porções de pele desinseridas parcialmente do seu local de origem e transpostas para um leito receptor, mantendo apenas a base, desta forma, garantindo nutrição sanguínea durante o período necessário para que aconteça a neoangiogênese do tecido. Uma das principais vantagens do seu uso, é o fato de permitir cobertura imediata do local afetado, auxiliando a redução do tempo de cicatrização do tecido, desencadeando bons resultados ao paciente (Pazzini et al., 2016; Pavletic, 2018).

1.2.3 Retalhos cutâneos

De acordo com a nutrição sanguínea os retalhos são classificados em padrão axial ou subdérmico. Os retalhos de padrão subdérmico são constituídos por regiões terminais de artérias cutâneas diretas, em conjunto com o músculo cutâneo, enquanto, os de padrão axial são contêm ramos principais de artérias e veias cutâneas diretas, mais calibrosas, em sua estrutura principal, os angiossomas (MacPhail, 2014; Pazzini et al., 2016; Pavletic, 2018).

Devido à facilidade para cobrir defeitos menores, os retalhos de padrão subdérmicos são amplamente utilizados, entretanto, o seu uso é limitado em defeitos maiores. Diferente dos retalhos de padrão subdérmicos, os de padrão axial, por serem constituídos por ramos de artérias e veias cutâneas diretas, podem ser utilizados para cobrir defeitos maiores e mais distantes da região doadora (Slatter, 2007; Pazzini et al., 2016).

É comum relatos de complicações durante o processo cicatricial de retalhos cutâneos, o que envolve uma variedade de fatores, não somente falhas na técnica cirúrgica. Não se sabe ao certo qual a melhor forma de intervir a fim de otimizar os resultados na evolução da cicatrização da ferida cirúrgica (Amsellem, 2011; MacPhail, 2014).

As principais causas de complicações dos retalhos são devido à hipovascularização gerada durante a sua confecção, podendo desencadear necrose parcial ou total do mesmo principalmente nas regiões mais distantes da base do retalho. Hematomas e trombos abaixo dos retalhos são grandes exemplos, pois causam aumento da pressão sob a pele, contribuindo para a

diminuição do aporte sanguíneo (Kerrigan 1983; Amsellem, 2011; Handschel et al., 2013).

Para a sua sobrevivência, é necessário fluxo sanguíneo adequado, para que ocorra a inosculação, ou seja, anastomose dos vasos sanguíneos entre o leito da ferida e o retalho, promovendo a angiogênese suficiente para nutrir as necessidades metabólicas do retalho no seu novo leito (Amsellem, 2011; O'Dwyer, 2011, Handschel et al., 2013).

Outro fator que pode contribuir diretamente para necrose do retalho, é a tensão criada na ferida cirúrgica, que acaba comprometendo a vascularização, desencadeando, em alguns casos, até mesmo a deiscência de sutura, aumentando o risco de infecção da ferida (Kerrigan 1983; Amsellem, 2011; Handschel et al., 2013).

Para contribuição no sucesso na confecção de retalhos, deve-se atentar a proporção entre o comprimento e a largura do mesmo. O comprimento não pode ser tão longo, para garantir que haja vascularização em sua porção mais distal. Sendo foi estabelecido uma relação proporcional entre o comprimento e a largura de no máximo 2,5:1 (McFarlane et al., 1965; Pavletic, 2018).

1.2.4 Laserterapia

A sigla "Laser" (*light amplification by stimulated emission of radiation*), possui origem na língua inglesa e significa amplificação da luz por emissão estimulada de radiação. O Laser é uma fonte de luz monocromática, ou seja, de comprimento único, coerente (todas as ondas em fase) e que convergem uma única direção, sem divergências (Inoe et al., 2008; Andrade et al., 2014).

A laserterapia de baixa intensidade (LBI) é pesquisada desde a década de 60 do século XX e apresenta grande evolução em pesquisas, nos últimos anos (Andrade et al., 2014; Hersant et al., 2015; Musstaf et al., 2019). O seu uso pode ser aplicado em diversas modalidades de tratamentos, incluindo cicatrização de feridas, redução da inflamação e da dor (Musstaf et al., 2019).

O efeito tecidual desejado, com o uso do laser, é influenciado por sua potência de emissão. Para obter corte e coagulação de tecidos, deve-se utilizar em alta potência; quando o intuito é reparo tecidual, a exemplo de traumatismos musculares, nervosos, ósseos e cutâneos, deve-se utilizar em baixa potência (Felice et al., 2009; Andrade et al., 2014).

O mecanismo de ação da Laserterapia baseia-se na fotobiomodulação celular, sendo responsável pela diminuição de células inflamatórias e aumento de fatores de crescimento, o que permite migração para a fase proliferativa de maneira mais rápida (Musstaf et al., 2019).

A neovascularização é enriquecida pela fotoestimulação das células endoteliais, ocorrendo aumento da proliferação de fibroblastos e depósito de colágeno, contribuindo para a formação do tecido de granulação e para a contração da ferida (Pugliese et al., 2003; Corazza et al., 2007; Hersant et al., 2015).

Dentre os diversos efeitos causados pelo LBI, os principais são anti-inflamatórios, analgésicos, aumento da microcirculação, contribuindo para melhoria das condições cicatriciais (Hersant et al., 2015; Khor et al., 2016). A melhora na circulação ocorre devido à modulação de citocinas responsáveis

pela neovascularização (Cury et al., 2009; Prado et al., 2009; Cury et al., 2013; Baldan, et al., 2015).

Com o uso da laserterapia no pós-operatório pôde-se notar diminuição da dor, conseqüentemente diminuição no uso de analgésicos, melhora no tempo de cicatrização e na formação da cicatriz em pacientes humanos (Hawkins; Abrahamse, 2005; Prado et al., 2009). Sabe-se, também, que houve sucesso no tratamento de feridas resistentes à cicatrização, úlceras crônicas diabéticas, lesões da medula espinhal e do sistema nervoso, em humanos (Musstaf et al., 2019).

Na medicina veterinária, o laser tem sido utilizado para diversas finalidades. Além de estimular o processo cicatricial, é de grande valia para a reabilitação de pacientes, contribuindo no alívio da dor e diminuição do edema (Baxter; McDonough, 2007). A redução da dor se deve à modulação da inflamação promovida pela liberação de opióides endógenos, redução de prostaglandinas e a redução do edema, devido à ativação do sistema linfático (Silva et al., 2010; Esteves JR et al., 2012).

Em razão dos benefícios citados anteriormente, estudos foram conduzidos com o intuito de avaliar os efeitos da LBI, sendo possível notar melhora no processo cicatricial (Rocha, 2004; Corazza et al., 2007; Andrade et al., 2014). Com isso novas pesquisas devem ser realizadas para analisar as melhorias trazidas ao reparo de feridas

De acordo com Costa *et al* (2010), a LBI de 3J/cm², com potência de saída de 30 mW e 60 mW, foi eficiente no aumento da viabilidade do retalho cutâneo de 4 x 10 cm. Sendo assim, deve-se atentar às dosagens a serem

utilizadas, pois doses baixas demais podem não ser eficazes, enquanto, estímulos intensos tendem a resultar em respostas negativas para o tecido (Baldan et al., 2015).

Doses entre 3 a 6J/cm² parecem ser mais eficazes; por outro lado, doses maiores que 10J/cm² estão associadas a efeitos inibitórios. Os comprimentos de onda entre 632,8nm e 1000nm apresentam resultados melhores no processo de cicatrização tecidual (Andrade et al., 2014).

A principal complicação em retalhos cutâneos são necrose, inflamação, edema e seroma. Sendo assim pressupõe-se que a LBI pudesse auxiliar na diminuição da inflamação, melhora a proliferação celular, potencialização da cicatrização e benefício da angiogênese.

1.3 REFERÊNCIAS

Amsellem P (2001) Complications of reconstructive surgery in companion animals. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, 41(5), 995-1006.

Andrade FSSD, Clark RMO, Ferreira ML (2014) Efeitos da laserterapia de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia**, 41(2), 129-133.

Baldan CS, Masson IF, Júnior IE, Baldan AMS, Machado AF, Casaroto RA, Liebano RE (2015) Inhibitory effects of low-level laser therapy on skin-flap survival in a rat model. **Plastic Surgery**, 23(1), 35-39.

Baxter GD, MCDONOUGH SM (2007). Principles of electrotherapy in veterinary physiotherapy. **Animal Physiotherapy: Assessment, Treatment and Rehabilitation of Animals**. Oxford: Blackwell, p. 177-186.

Busnardo VL, Biondo-Simões MLP (2010) Os efeitos do laser hélio-neônio de baixa intensidade na cicatrização de lesões cutâneas induzidas em ratos. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, 14(1), 45-51.

Castro JLC, Huppes RR, De Nardi AB, Pazzini JM (2015) Introdução à Anatomia. In: Castro JLC, Huppes RR, De Nardi AB, Pazzini JM. **Princípios e Técnicas de Cirurgias Reconstructivas da Pele de Cães e Gatos**. 1ed. Curitiba - PR: MedVep, 1, 10-16.

Corazza AV, Jorge J, Kurachi C, Bagnato VS (2007) Photobiomodulation on the angiogenesis of skin wounds in rats using different light sources. **Photomedicine and Laser Surgery**, New York, 25(2), 102-106.

Costa MS, Pinfildi CE, Gomes HC, Liebano RE, Arias VE, Silveira TS, Ferreira LM (2010) Effect of low-level laser therapy with output power of 30 mW and 60 mW in the viability of a random skin flap. **Photomedicine and laser surgery**, 28(1), 57-61.

Cury V, Bossini PS, Fangel R, Crusca JS, Renno AC, Parizotto NA (2009) The Effects of 660nm and 780nm Laser Irradiation on Viability of Random Skin Flap in Rats. **Photomedicine and Laser Surgery**, 27(5), 721-724.

Cury V, Moretti AIS, Assis L, Bossini P, De Souza Crusca J, Neto CB, Fangel R, Souza HP, Hamblin MR, Parizotto N (2013) A Low level laser therapy increases angiogenesis in a model of ischemic skin flap in rats mediated by VEGF, HIF-1 α and MMP-2. **Photomedicine and Laser Surgery**, 125, 164-170.

Esteves Júnior I, Masson IB, Oshima CTF, Paiotti APR, Liebano RE, Plapler H (2012) Low-level laser irradiation, cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and necrosis of random skin flaps in rat. **Lasers in Medical Science**, 27, 655-660.

Felice TD, Pinheiro AR, Menchik EDS, Silva ACD, Souza LS, Caires CSA, Abel A, Bartmeyer CG, Oliveira JG, Assis TB, Silva LA, Lopes TF, Felipe LA, Pinheiro AR (2009) Utilização do laser de baixa potência na cicatrização de feridas. **Interbio**, 3(2), 42-52.

Handschel J, Burghardt S, Naujoks C, Kübler NR, Giers G. Parameters predicting complications in flap surgery (2013) **Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology**, 115(5), 589-594.

Hawkins D, Abrahamse H. Biological effects of helium-neon laser irradiation on normal and wounded human skin fibroblasts (2005) **Photomedicine and Laser Surgery**, 23(3), 251-259.

Hersant B, Sidahmed-Mezi M, Bosc R, Meningaud JP. Current indications of low-level laser therapy in plastic surgery: a review (2015) **Photomedicine and laser surgery**, 33(5), 283-297.

Inoe AP, Zafanelli CCG, Rossato RM. Avaliação morfológica do efeito do laser de baixa potência He-Ne em feridas cutâneas de coelhos (2008) **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, 11(1), 27-30.

Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology (1983). **Plastic and reconstructive surgery**, 72(6), 766-777.

Khori V, Alizadeh AM, Gheisary Z. The effects of low-level laser irradiation on breast tumor in mice and the expression of Let-7a, miR-155, miR-21, miR125, and miR376b (2016) **Lasers in Medical Science**, 31, 1775-1782.

MacPhail CM (2014) Cirurgia do sistema tegumentar. In Fossum TW. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 4.ed. Rio de Janeiro, Elsevier, cap. 16, p. 222-257.

Martins MIM, Elias BC, Justino RC. Cirurgia reconstrutiva com retalho cutâneo de avanço como técnica alternativa para tratamento de carcinoma de células escamosas em cães: relato de caso (2015) **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, 22(3-4), 131-136.

McFarlane RM, DeYoung G, Henry RA. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. **Plast Reconstr Surg**. 1965; 35: 177-82.

Montinaro V, Massari F, Vezzoni L, Liptak JM, Straw RC, Allen L, Romanelli G (2014). Lateral Caudal Axial Pattern Flap in 13 Dogs. **Veterinary Surgery**. 43, 1-6.

Musstaf RA, Jenkins DFL, Jha AN. Assessing the impact of low level laser therapy (LLLT) on biological systems: a review (2019) **International journal of radiation biology**, 95(2), 120-143.

O'Dwyer, L. (2011). Options for skin coverage: reconstruction and skin grafts. **The Veterinary Nurse**, 2(6), 302-308.

Pavletic MM (2007) Tegumento. In.: Slatter DS. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. 3.ed. v.1. São Paulo: Manole, cap. 20, p.250-259.

Pavletic MM (2018) **Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery**. 4.ed. Hoboken, NJ, Wiley.

Pazzini JM, De Nardi AB, Castro JLC, Huppes RR (2016) Cirurgia reconstrutiva aplicada na oncologia. In.: Daleck CR, De Nardi AB. **Oncologia em cães e gatos**. 2.ed. Rio de Janeiro, Roca, cap. 13, p. 179 – 186.

Prado RP, Pinfildi CE, Liebano RE, Hochman BS, Ferreira L. Effect of application site of low-level laser therapy in random cutaneous flap viability in rats (2009) **Photomed Laser Surg**, 27(3), 411-416.

Pugliese LS, Medrado AP, Reis SRDA, Andrade ZDA. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers (2003) **Pesquisa Odontológica Brasileira**, 17(4), 307-313.

Rocha JCT. Terapia laser, cicatrização tecidual e angiogênese (2004) **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, 17(1), 44-48.

Silva TS, Mendes F, Alves AMP. Estudo microscópio da lesão tecidual em pele de ratos Wistar, tratados com laser de baixa potência (2010) **Revista Brasileira de Biociência**, 8(3), 264-267.

Slatter DH (2007) Manual de cirurgia de pequenos animais: Pele e órgãos anexos. 3.ed. São Paulo, Manole, cap.22, p. 304-309.

Stanley BJ, Pitt KA, Weder CD, Pitt KA, Weder CD, Fritz MC, Hauptman JG, Steficek BA. Effects of Negative Pressure Wound Therapy on Healing of Free Full-Thickness Skin Grafts in Dog (2013) **Veterinary Surgery**, 42(5), 511-522.

Supp DM, Boyce ST. Engineered skin substitutes: practices and potentials (2005) **Clinics In Dermatology**, 23(4), 403-412.

2. CAPÍTULO 2 – Laserterapia de baixa intensidade na ampliação das dimensões de retalhos subdérmicos em ratos wistar¹

Low-level laser therapy in extending the dimensions of subdermal flats in wistar rats

Mariana Palma Correa da Silva^{1*}; Cristhian René Vargas Estrada¹; Pedro Carvalho Cassino¹; Stella Habib Moreira¹; Isabella Nogueira Santana¹; Michelle do Carmo Pereira Rocha¹; Jorge Luis Alvares Gomes¹; Letícia Bonato¹, Roberta Carvalho Basile¹; Nazilton de Paula Reis Filho²; Paola Castro Moraes¹; Celmira Calderón³; André de Mattos Faro⁴; Andriago Barboza De Nardi¹

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Jaboticabal, São Paulo, Brasil. *marianapalmacs@gmail.com

²Autônomo – Londrina, Paraná, Brasil.

³Universidade Estadual do Norte do Paraná – Bandeirantes, Paraná, Brasil

⁴Instituto Federal Catarinense – Araquari, Santa Catarina, Brasil.

RESUMO

Devido ao aumento do uso das técnicas reconstrutivas em pacientes oncológicos na medicina veterinária, modalidades terapêuticas têm sido pesquisadas com o intuito de minimizar complicações pós cirúrgicas. Neste estudo hipotetizou-se que a laserterapia de baixa intensidade (LBI) diminui a inflamação e a necrose tecidual. O objetivo foi avaliar a eficácia da LBI em duas dosagens diferentes, afim de aumentar a proporção na extensão da confecção de retalhos subdérmicos, que atualmente é limitada à 2,5:1 (comprimento x largura). Foram utilizados 24 ratos sendo, cada um, submetido à confecção de retalho cutâneo em seu dorso e, depois, distribuídos os animais de forma aleatória em 3 grupos (G1- controle sem laser, G2 - grupo em dose de 4J/cm² e G3 - grupo em dose de 6J/cm²). Os dois grupos irradiados, receberam a terapia a laser sobre o retalho nos dias D0, D2, D4 e D6. A avaliação macroscópica não demonstrou alteração

¹ Artigo nas normas da revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.

estatisticamente significativa, de acordo com os tratamentos estabelecidos. A avaliação microscópica, com análise histopatológica, não demonstrou diferença com as modalidades de tratamento estabelecidas. Não apresentaram significância nem diferenciação estatística entre as variáveis avaliadas, entre os grupos. Conclui-se que a exposição de retalhos cutâneos à dose de energia de 4J/cm² ou 6 J/cm² a cada 48 horas não interferiram perceptivelmente sobre a cicatrização e a modulação da inflamação local, não contribuindo para o aumento da proporção do retalho.

Palavras-chave: cirurgia reconstrutiva, retalho cutâneo, laserterapia.

ABSTRACT

Due to the increasing use of reconstructive techniques in cancer patients in veterinary medicine, therapeutic modalities have been researched in order to minimize post-surgical complications. In this study, it was hypothesized that low-level laser therapy (LLL) reduces inflammation and tissue necrosis. The objective was to evaluate the effectiveness of LLLT at two different dosages, in order to increase the proportion in the extension of subdermal flaps, which is currently limited to 2.5:1 (length x width). Twenty-four rats were used, each one submitted to a skin flap on their back, and then the animals were randomly distributed into 3 groups (G1- control without laser, G2 - group at a dose of 4J/cm² and G3 - group at a dose of 6J/cm²). The two irradiated groups received laser therapy over the flap on days D0, D2, D4 and D6. The macroscopic evaluation showed no statistically significant change, according to the established treatments. Microscopic evaluation, with histopathological analysis, showed no difference with the established treatment modalities. They did not present significance or statistical differentiation between the variables evaluated, between the groups. It is concluded that the exposure of skin flaps to an energy dose of 4J/cm² or 6 J/cm² every 48 hours did not noticeably interfere with the healing and modulation of local inflammation, not contributing to the increase in the proportion of the flap.

Keywords: reconstructive surgery, skin flap, laser therapy.

INTRODUÇÃO

O aumento na expectativa de vida dos cães e gatos é uma realidade e, consequentemente, a principal causa de óbitos nos pequenos animais passou a ser as neoplasias, para cerca de 50% dos cães e 35% dos gatos (Pazzini et al., 2016). Uma modalidade que vem sendo mais aplicada na cirurgia desses pacientes, é a cirurgia reconstrutiva visando correção e síntese completa de lesão ocasionada por nódulos grandes ou pequenos neoplasmas que necessitem de amplas margens (MacPhail, 2014; Martins et al., 2015).

A cirurgia reconstrutiva é uma modalidade cirúrgica que traz como principal benefício a cobertura imediata da ferida, a diminuição no tempo de cicatrização da lesão e o retorno funcional do tecido lesionado à sua conformação mais próxima do normal, melhorando até mesmo a sua estética (Slatter, 2007; Castro et al., 2015; Pavletic, 2018).

Retalhos e enxertos são as principais técnicas abrangidas pela cirurgia reconstrutiva (Montinaro et al., 2014; Pazzini et al., 2016). Os retalhos são porções de pele desinseridas parcialmente do seu leito original e transpostas a um leito receptor, onde recobrirão a ferida existente (Pavletic, 2007; Stanley et al., 2013).

Para obtenção de sucesso na cirurgia dos pacientes que necessitam de cirurgias reconstrutivas, é importante que haja planejamento prévio, avaliação das linhas de tensão da pele, da elasticidade do tecido adjacente disponível e do suprimento sanguíneo. Necessita-se de cuidado na manipulação do tecido, a fim de preservar ao máximo a vascularização da pele, devido ao risco de desencadear processo isquêmico e consequente necrose do retalho, ocasionando prejuízos significativos ao período pós-operatório do paciente (Slatter, 2007; Pazzini et al., 2016; Pavletic, 2018).

Apesar do grande benefício que a cirurgia reconstrutiva promove ao paciente, se encontra na literatura relatos de complicações na cicatrização de feridas, o que tem estimulado a busca por terapias adjuvantes e melhorias na técnica cirúrgica, com o intuito de minimizar suas principais intercorrências (Slatter, 2007; Pavletic, 2018). Uma modalidade terapêutica que tem adquirido espaço, nos últimos anos, é a laserterapia de baixa intensidade (LBI) (Busnardo et al., 2010; Musstaf et al., 2019).

A LBI tem sido utilizada amplamente na medicina e, nos últimos anos, na medicina veterinária, atua, dentre outras particularidades, no auxílio à cicatrização de feridas, diminuindo o processo inflamatório, por meio de alterações físicas e biológicas

(Busnardo et al., 2010; Andrade et al., 2014; Musstaf et al., 2019). Devido ao aumento dos fatores de crescimento, fotobiomodulação das células endotélias e consequente aumento da neovascularização, é possível notar a melhoria gerada pela LBI na cicatrização de feridas, beneficiando técnicas reconstrutoras (Corazza et al., 2007; Musstaf et al., 2019).

Diversos mecanismos moleculares foram descritos com o uso da LBI levam à aceleração da perfusão tecidual e da cicatrização de feridas, incluindo: ativação de ATPases (estimulação de mitose e do influxo de Ca), maior expressão de VEGF (“vascular endotelial growth factor”), aumento do mRNA, proliferação celular e neovascularização (Cury et al., 2013; Kazemikhoo et al., 2018).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficácia da LBI em duas dosagens diferentes, a fim de aumentar a proporção na extensão da confecção de retalhos subdérmicos, que atualmente é limitada à 2,5:1 (comprimento x largura), por meio da avaliação da necrose e análise da contagem de vasos sanguíneos e células inflamatórias, em 24 ratos.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Câmpus de Jaboticabal. O estudo seguiu as normas e princípios estabelecidos pela Comissão de Ética no Uso de Animais da FCAV, Unesp, Câmpus de Jaboticabal (Nº 08200/19).

Foram utilizados 24 ratos (*Rattus norvegicus albinus wistar*), machos, adultos, saudáveis, com peso médio de 250 a 300 gramas, todos provenientes do Biotério Central da Faculdade de Medicina Veterinária, UNESP, Câmpus de Botucatu. Os animais foram mantidos no biotério do Curso de Pós-graduação em Cirurgia Veterinária UNESP/FCAV, Câmpus de Jaboticabal, em gaiolas plásticas individuais, alojados em ambiente climatizado com temperatura de 20°, umidade controlada, seguindo os princípios éticos em experimentação animal preconizados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Durante todo o experimento os animais receberam ração comercial própria para a espécie e água *ad libitum*, garantindo as necessidades diárias exigidas.

O protocolo anestésico utilizado foi baseado na medicação pré-anestésica com Diazepam (Uni Diazepam® - Diazepam 5 mg, União Química, São Paulo, SP, Brasil) 2mg/kg, cetamina (Cetamin® - Syntec – Santana de Parnaíba, SP, Brasil) 40mg/kg e morfina (Dimorf®, Cristália, São Paulo, Brasil) 1mg/kg, por via intraperitoneal. A manutenção foi realizada com a conexão de uma máscara ao aparelho de anestesia inalatória, em circuito semiaberto, por meio de vaporizador calibrado, em fluxo diluente de oxigênio a 100%, a 1,5 CAM de isoflurano (Isoflorine®, Cristália, São Paulo, SP, Brasil), sob ventilação espontânea, com o objetivo de produzir plano anestésico cirúrgico

Os ratos foram submetidos ao procedimento de cirurgia reconstrutiva para realização de retalhos, que foram confeccionados na região do dorso interescapular. Os animais foram distribuídos em três grupos, com 8 ratos em cada grupo (Apêndice A).

- Grupo 1(G1): Retalho de 8cm x 2,4cm não irradiado
- Grupo 2(G2): Retalho de 8cm x 2,4cm irradiado (4 J/cm²)
- Grupo 3(G3): Retalho de 8cm x 2,4cm irradiado (6 J/cm²)

Previamente ao procedimento cirúrgico, quando anestesiados, foram submetidos a tricotomia em toda a região dorsal. Os animais foram posicionados em decúbito esternal, realizada antissepsia prévia com clorexidine degermante 2% e álcool 70%, procedido de antissepsia definitiva com álcool 70% e clorexidine alcoólico.

A base do retalho foi realizada de acordo com as suas dimensões no dorso do paciente entre as escapulas e estendeu caudalmente em direção as cristas ilíacas centralizadas sobre a coluna vertebral. Para demarcação do local da incisão, foi utilizada caneta cirúrgica com um molde em EVA de 8cm x 2,4cm, tamanho da proporção modificado, conforme McFarlane (1965). A incisão foi realizada com lâmina de bisturi número 15. O retalho foi dissecado abaixo do nível do músculo cutâneo do tronco, a partir da parte caudal e posteriormente suturado, utilizando nylon 4-0, em padrão simples separado, sem tensão (Fig. 1).

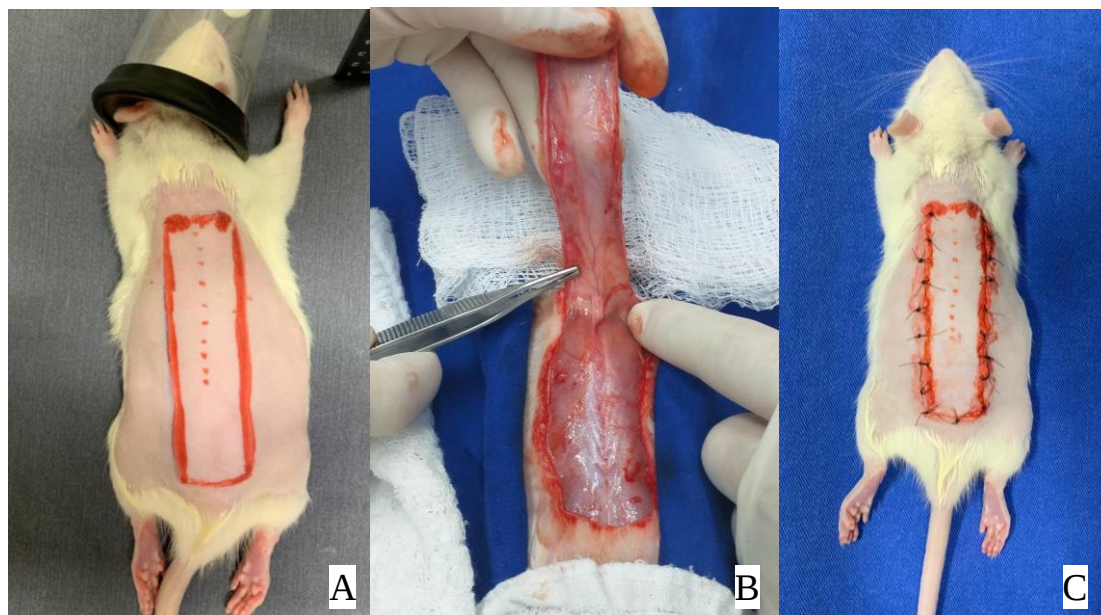


Figura 1. Imagens fotográficas das etapas do procedimento cirúrgico de cirurgia reconstrutiva em rato. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP Jaboticabal-SP, 2019. A) Mensuração das medidas do retalho no rato para confecção do defeito. B) Demonstração do retalho após a incisão cutânea e dissecção do tecido. C) Sutura de pele padrão simples separado.

A laserterapia para os grupos 2 e 3, foi realizada em frequência contínua, com comprimento de onda de 660 nanômetros (nm) e 30mW (megawatts) de potência, durante tempo pré-determinado pelo aparelho (Laserpulse Ibramed® modelo L42, Ibramed, Amparo, SP, Brasil). O grupo 2 recebeu irradiação a laser de baixa intensidade, na dose de 4 J/cm^2 sobre toda a extensão e bordas do retalho, totalizando 15 pontos equidistantes. O grupo 3 recebeu irradiação de 6 J/cm^2 sobre toda a extensão e bordas do retalho, totalizando 15 pontos, distribuídos igualmente. Os grupos foram irradiados em D0, D2, D4 e D6, juntamente com as avaliações macroscópicas, que ocorreram em D3 e D7, com posterior eutanásia em D7. Os animais do grupo 1 não foram expostos à irradiação à laser, porém, também foram avaliados. A aplicação do LBI ocorreu após a realização da limpeza da ferida com solução salina estéril, com o auxílio de gazes, os animais foram contidos delicadamente para realização do procedimento, não sendo necessário sedá-los (Fig. 2).



Figura 2. Uso da Laserterapia de baixa intensidade em retalho de um dos animais do experimento. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP Jaboticabal-SP, 2019.

Como terapia antimicrobiana, os pacientes receberam cefazolina (Cefazolina Sódica 1g[®], solução injetável, União Química, São Paulo, SP, Brasil) 30mg/kg, via subcutânea em dose única, ao término do procedimento cirúrgico. Nos três dias subsequentes, foi administrado o cloridrato de morfina (Dimorf[®], Cristália, São Paulo, SP, Brasil) na dose de 1mg/kg e meloxicam (Flamavet 0,2%[®], Agener União, São Paulo, SP) 1mg/kg, por via subcutânea, a cada 24 horas.

A avaliação clínica da ferida foi composta pela análise macroscópica e o preenchimento de um questionário, no 3º e 7º dia de pós-operatório. Os parâmetros avaliados foram presença de secreção (ausente, discreta, moderada, intensa), presença de tecido desvitalizado (ausente, discreto, moderado, intenso), presença de edema (ausente, leve, moderado, intenso) e deiscência da sutura (sim ou não).

A avaliação foi realizada por um avaliador que não possuía ciência sobre qual grupo o paciente pertencia, evitando interferência nos resultados. Os animais dos grupos 1 a 3 foram avaliados macroscopicamente, conforme Apêndice B e individualmente, sem que houvesse comparações entre os grupos.

Os animais foram submetidos à eutanásia no 7º dia de pós-operatório com a administração intraperitoneal de pentobarbital de sódio na dose de 250mg/Kg, obedecendo os princípios éticos de experimentação animal preconizados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Em seguida, foram coletados fragmentos do retalho, com lâmina de bisturi número 15, que foram subdivididos em três partes: cranial, média e caudal (Fig 3). A fáscia muscular foi definida como limite de profundidade.

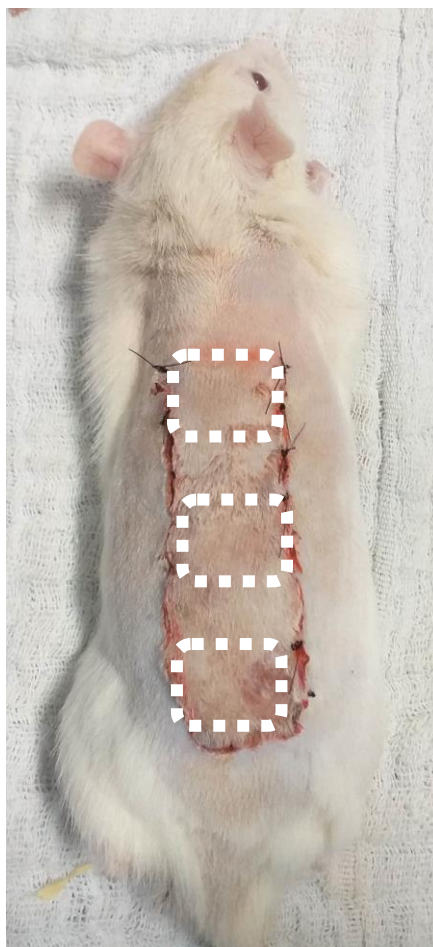


Figura 3. Ilustração demonstrando as regiões cranial, média e caudal que foram realizadas as coletas de tecido para análise microscópicas. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP Jaboticabal-SP, 2019.

As amostras foram conservadas em solução de formaldeído 10%, com pH entre 7,2 – 7,4. Em seguida as amostras foram imersas em álcool 70º e encaminhadas ao Laboratório de Imunohistoquímica Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, devidamente identificadas para

confecção das lâminas e posterior avaliação microscópica. Os fragmentos foram processados e incluídos em blocos de parafina para realização dos cortes histológicos em micrótomo, com espessura de 2 μm . Em seguida, foi dada a continuidade nos procedimentos com as reações específicas para avaliação histológica com hematoxilina-eosina, de modo quantitativo, em 5 campos distintos da mesma amostra e objetiva 40x, analisando a contagem do número de vasos (proliferação vascular), presença ou ausência de necrose e inflamação (neutrófilos, macrófagos).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados deste estudo foram analisados de acordo com os achados macroscópicos e microscópicos por meio de análises histoquímicas e comprovadas estatisticamente.

A análise estatística foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey (5%), sendo realizada em relação aos grupos controle e experimentais relacionando às variáveis categóricas macroscópicas e microscópicas, por meio de mensuração por lâminas. Também foi realizada a correlação entre o número de vasos sanguíneos e a presença de necrose (neutrófilos e macrófagos) por correlação de Pearson.

RESULTADOS

No presente estudo, as variáveis macroscópicas (presença de secreção, presença de tecido desvitalizado, edema e deiscência de sutura) e microscópicas (presença de necrose, quantidade de vasos sanguíneos, infiltrado neutrófilos e macrófagos – correspondente a inflamação) foram analisadas de acordo com os testes descritos na estatística do experimento. Entretanto, não houve diferença estatística entre os grupos.

Todos estes dados dos animais são apresentados nas Tabelas 1 e 2 (Apêndice C e D) e nas figuras 4 a 17, sendo representados em imagens fotográficas e gráficos a avaliação das variáveis macroscópicas e microscópicas do presente estudo.

Avaliação macroscópica

Pôde-se observar com a avaliação macroscópica que somente o grupo 3 (6J/cm²) apresentou secreção no sétimo dia de pós operatório. Nenhum animal do grupo 2 (4J/cm²) apresentou edema no último dia de avaliação.

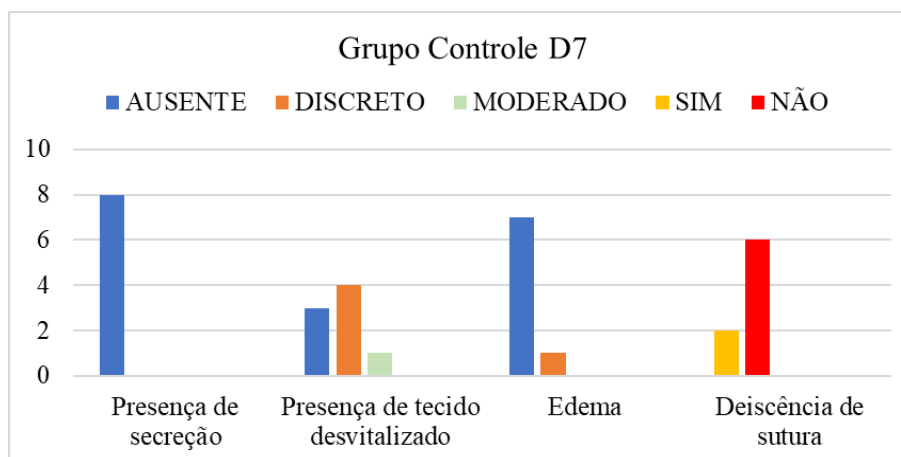


Figura 4. Representação gráfica da análise quantitativa das variáveis macroscópicas analisadas no estudo no grupo controle em D7 (7º dia de pós operatório). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019.

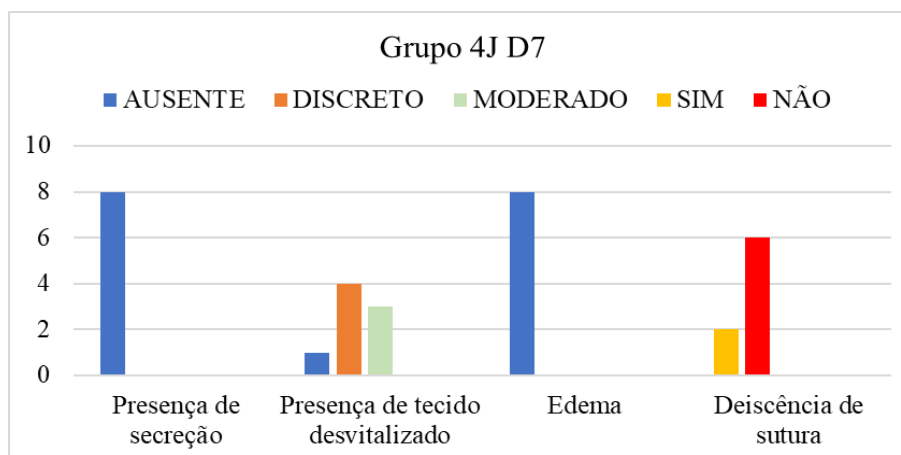


Figura 5. Representação gráfica da análise quantitativa das variáveis macroscópicas analisadas no estudo no grupo 4J em D7 (7º dia de pós operatório). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019.

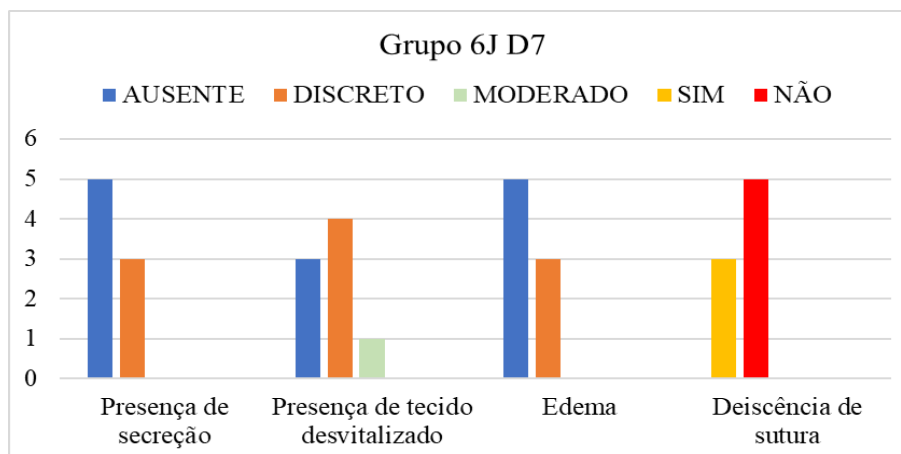


Figura 6. Representação gráfica da análise quantitativa das variáveis macroscópicas analisadas no estudo no grupo 6J em D7 (7º dia de pós operatório). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019.

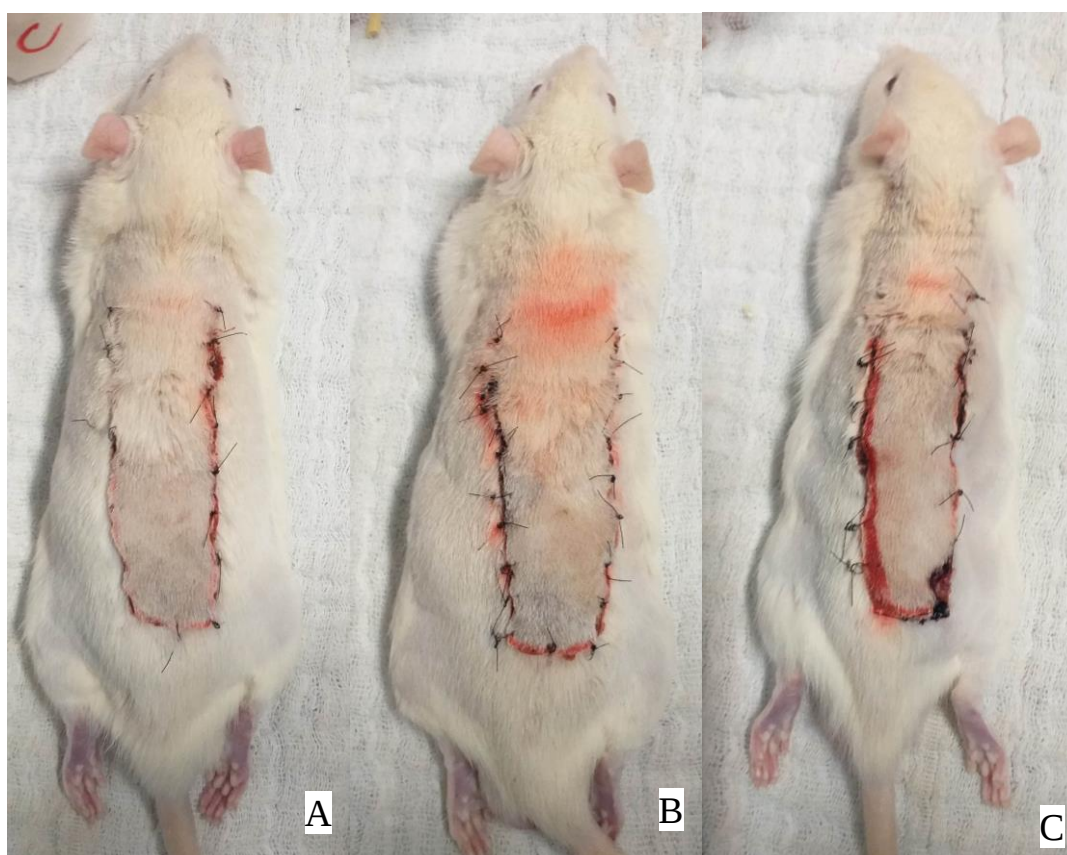


Figura 7. Imagens fotográficas da cicatrização de retalhos cutâneos em ratos no 7º dia de pós operatório. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019. A) Grupo controle (G1). B) Grupo 4J (G2). C) Grupo 6J (G3).

Avaliação microscópica

Com a avaliação microscópica notou-se que nenhum animal apresentou necrose na porção cranial em G3. Já na região média, o único grupo que todos os animais apresentaram necrose, foi em G3 também. Os Grupos G1 e G2 apresentaram menos células inflamatórias na porção caudal do retalho no último dia de avaliação.

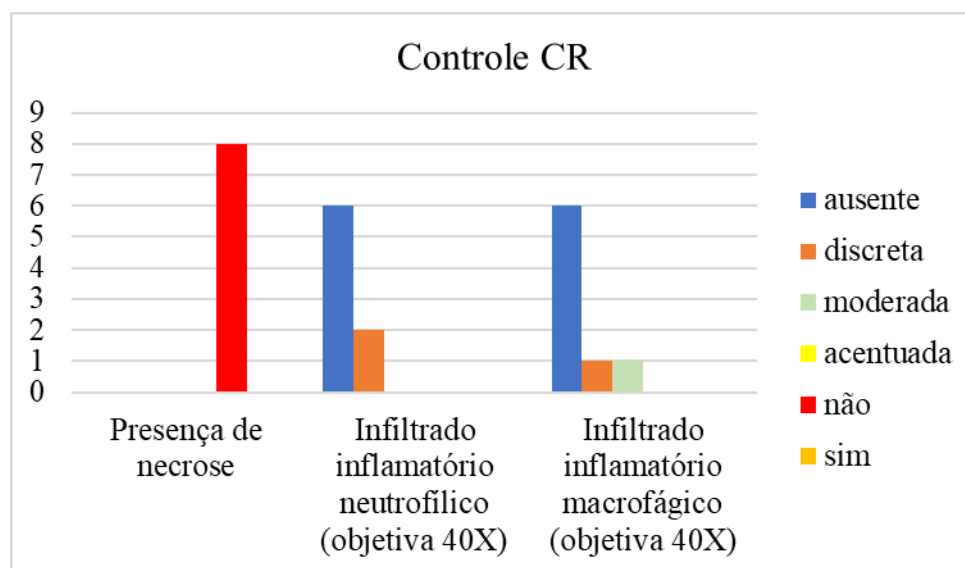


Figura 8. Representação gráfica da análise quantitativa das variáveis microscópicas analisadas no estudo no grupo controle na região cranial do retalho em D7 (7º dia de pós operatório). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019.

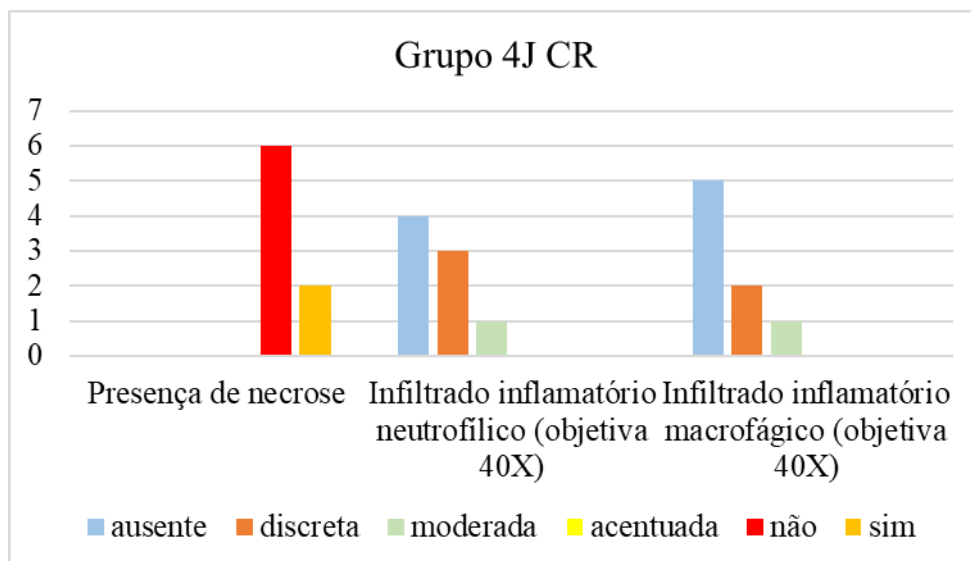


Figura 9. Representação gráfica da análise quantitativa das variáveis microscópicas analisadas no estudo no grupo 4J na região cranial do retalho em D7 (7º dia de pós operatório). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019.

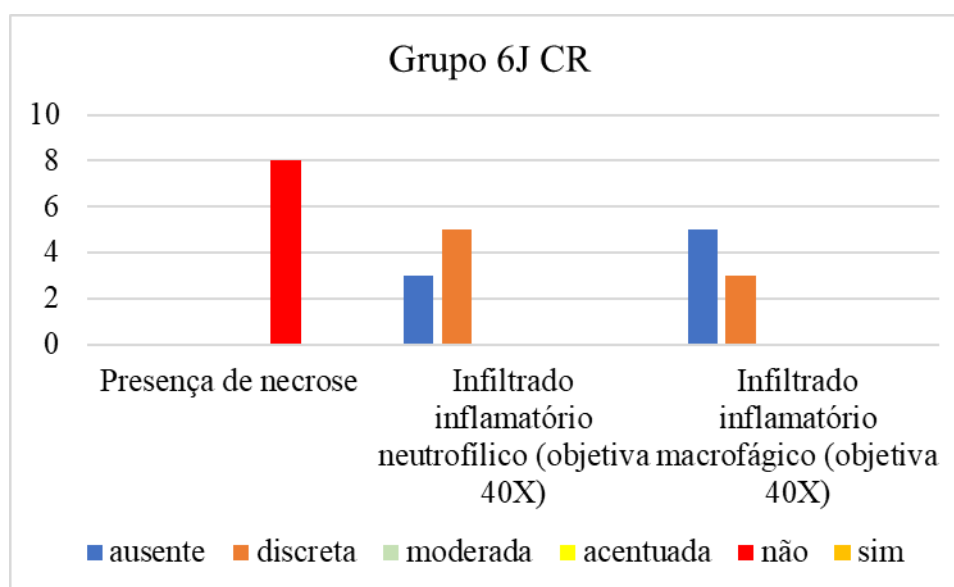


Figura 10. Representação gráfica da análise quantitativa das variáveis microscópicas analisadas no estudo no grupo 6J na região cranial do retalho em D7 (7º dia de pós operatório). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019.

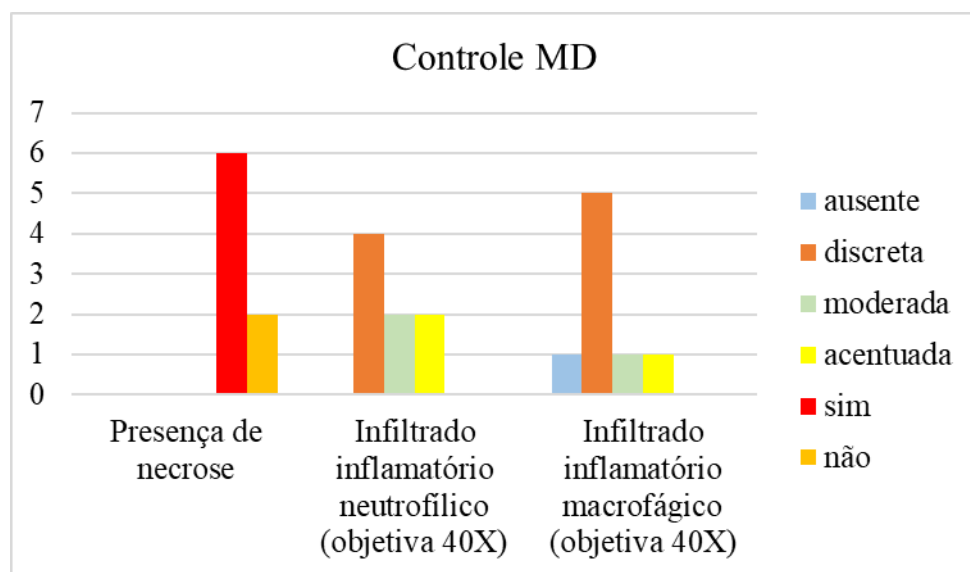


Figura 11. Representação gráfica da análise quantitativa das variáveis microscópicas analisadas no estudo no grupo controle na região medial do retalho em D7 (7º dia de pós operatório). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019.

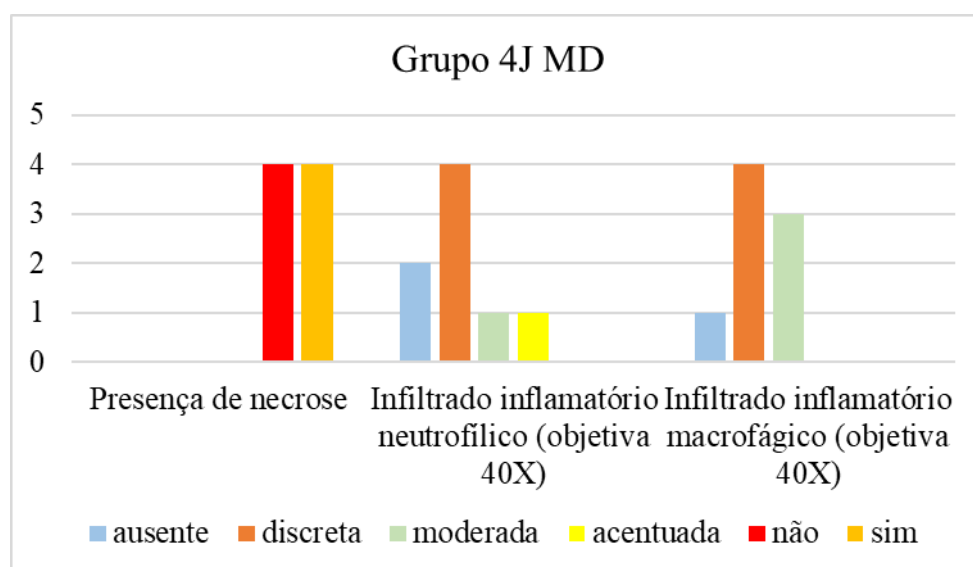


Figura 12. Representação gráfica da análise quantitativa das variáveis microscópicas analisadas no estudo no grupo 4J na região medial do retalho em D7 (7º dia de pós operatório). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019.

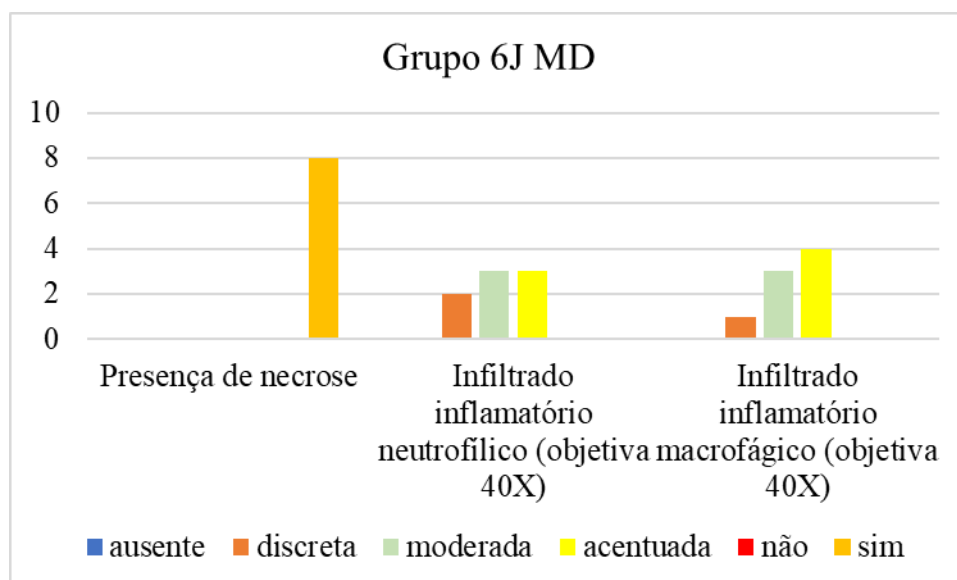


Figura 13. Representação gráfica da análise quantitativa das variáveis microscópicas analisadas no estudo no grupo 6J na região medial do retalho em D7 (7º dia de pós operatório). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019.

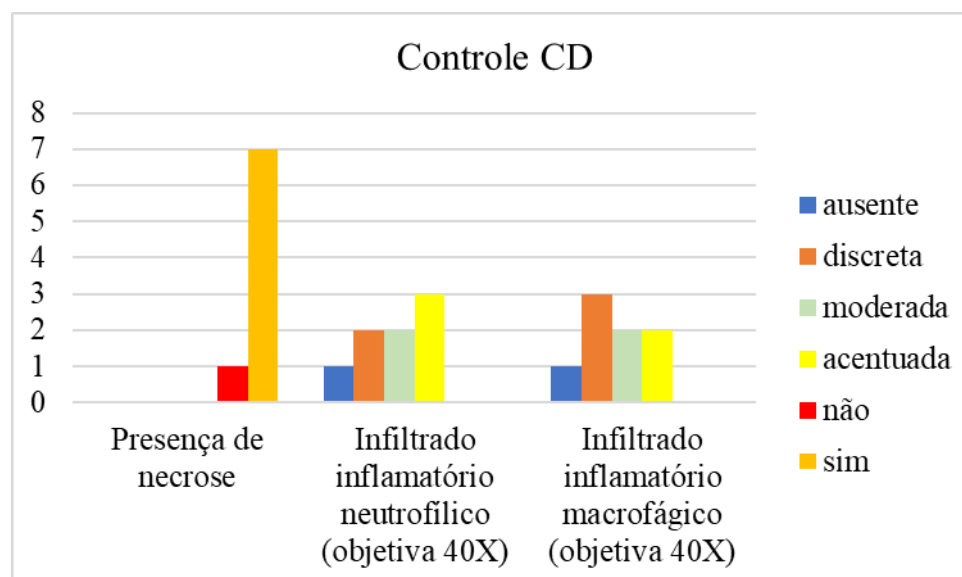


Figura 14. Representação gráfica da análise quantitativa das variáveis microscópicas analisadas no estudo no grupo controle na região caudal do retalho em D7 (7º dia de pós operatório). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019.

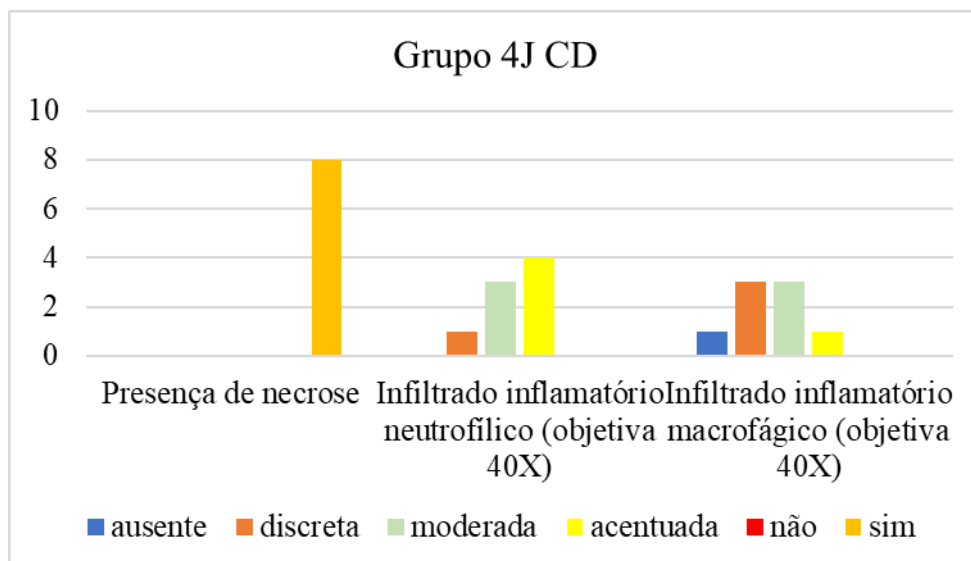


Figura 15. Representação gráfica da análise quantitativa das variáveis microscópicas analisadas no estudo no grupo 4J na região caudal do retalho em D7 (7º dia de pós operatório). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019.

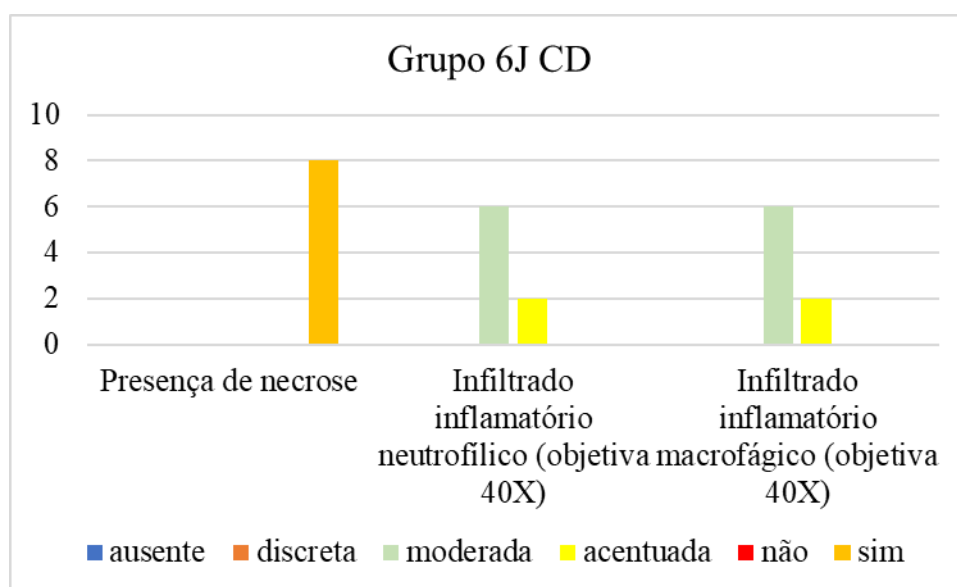


Figura 16. Representação gráfica da análise quantitativa das variáveis microscópicas analisadas no estudo no grupo 6J na região caudal do retalho em D7 (7º dia de pós operatório). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 2019.

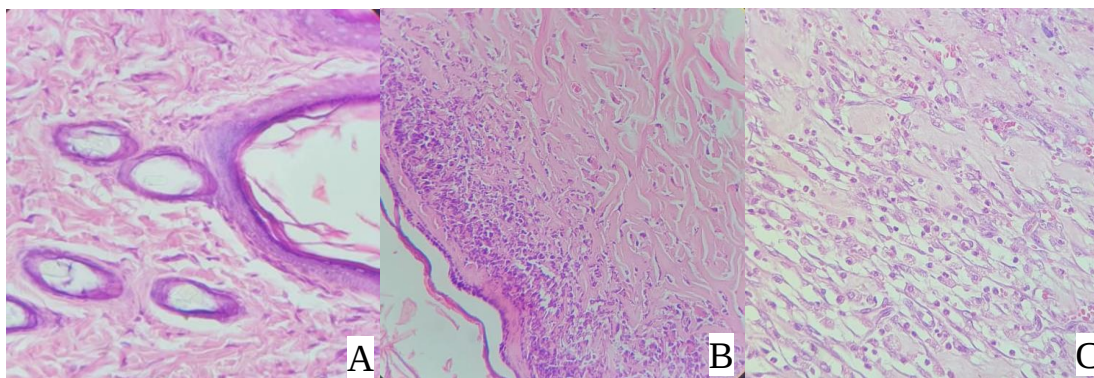


Figura 17. Imagens fotográficas da avaliação microscópica exemplificando os animais do Grupo Controle, 40x de aumento na objetiva. A) Região Cranial do retalho. Fotomicrografia de tecido cutâneo. Seção transversal de pele evidenciando epiderme e derme, com presença de folículos pilosos na derme superficial, envoltos em tecido conjuntivo.. B) Região Média do retalho. Fotomicrografia de tecido cutâneo. Seção transversal de pele com moderado infiltrado inflamatório neutrofílico em derme superficial. C) Região Caudal do retalho. Fotomicrografia de tecido cutâneo. Seção transversal de pele com discreto infiltrado inflamatório neutrofílico e moderado infiltrado inflamatório macrófágico na derme profunda, associado a moderada vascularização da derme.

DISCUSSÃO

De acordo com McFarlane et al (1965), a proporção máxima de um retalho deve ser de 2,5x1, para que não ocorra necrose do retalho e se obtenha sucesso no procedimento. Sendo assim, neste trabalho, hipotetizou-se que a laserterapia de baixa intensidade pudesse contribuir para aumentar a proporção do retalho, diminuindo a inflamação e melhorando a vascularização, minimizando as complicações decorrentes da técnica.

A técnica de McFarlane modificada institui que o retalho de tamanho 3x10cm, no dorso de ratos, provoca cerca de 37% de necrose de borda distal. A partir deste trabalho, confeccionou-se retalhos no dorso de ratos com mesma proporção, entretanto com tamanho menor, com 2,4x8cm, em consonância ao tamanho dos animais experimentais, menores. Acredita-se que a nova modificação do modelo experimental não interferiu nos resultados do estudo, pois os animais eram homogêneos; os retalhos

eram proporcionais em relação aos de McFarlane modificado; o cirurgião o mesmo em todos os animais operados e a comparação dos dados obtidos foram realizados entre os grupos do próprio estudo.

A LBI foi utilizada com intuito de diminuir a ocorrência de necrose do retalho, já prevista por modelo experimental descrito anteriormente. Mesmo que não houve diferença estatística, foi possível notar a partir da análise dos dados dos gráficos, que o grupo de 6J apresentaram resultados um pouco inferiores aos demais. De acordo com Baldan et al (2015), estímulos intensos, em potências e frequências maiores podem resultar em respostas negativas para o tecido em tratamento. Reforçando mais a hipótese de que a dosagem e a frequência devem ser analisadas para obtenção de um resultado positivo.

Baxter e McDonough (2007) relataram que a LBI estimula o processo cicatricial, auxilia na reabilitação de pacientes, principalmente, no alívio de dor e edema. Segundo Silva et al (2010) e Esteves Jr et al (2012), a redução da dor se deve à modulação da inflamação promovida pela liberação de opióides endógenos, redução de prostaglandinas, e a redução do edema, devido à ativação do sistema linfático. Neste trabalho, não se observou grande significância entre os diferentes grupos, mas pode notar que nenhum animal do grupo de 4J apresentou edema no 7º dia de pós operatório.

Outro fator que deve ser levado em consideração é o uso da LBI em pacientes oncológicos, em que é realizado a cirurgia reconstrutiva após a remoção de neoplasias, ainda não se sabe ao certo se a LBI pode estimular o aumento da proliferação e diferenciação celular, já que a mesma apresenta importantes efeitos bioestimulatórios. Este fato depende tanto dos parâmetros da luz e da taxa de proliferação celular no momento da irradiação (Pinheiros et al., 2002; Henriques et al., 2010). Esta é uma importante área a ser estudada para obtenção de resultados para a rotina clínica.

Ainda que os trabalhos citados apresentassem resultados promissores, as diferenças entre o intervalo de aplicação do laser a cada 24 horas ou 48 horas, dosagem de joules empregada, período de avaliação dos animais com eutanásia em 7 dias ou em 15 dias, tamanho do defeito são fatores que influenciam diretamente. Sendo assim, novos estudos devem ser realizados, levando todos esses fatores em consideração para

trazer benefícios e aplicabilidade clínica nos pacientes. Pode-se observar que não houve retardo na cicatrização, nem ao menos, predisposição à infecção dos animais ou qualquer tipo de injúria tecidual com as modalidades terapêuticas estabelecidas.

CONCLUSÕES

Nas condições estudadas, pode-se concluir que o uso da LBI não interferiu na qualidade dos retalhos e nem no aumento da proporção dos retalhos, em ratos, na proporção utilizada.

Não se pôde perceber se houve diminuição da inflamação, necrose ou estímulo cicatricial no *Rattus norvegicus* linhagem wistar albino.

Novos estudos devem ser realizados com um maior número de animais, utilizando dosagens, frequência e tamanho de retalhos diferentes como tentativa de encontrar a melhor terapêutica, para melhor tratamento dos pacientes na rotina clínica.

REFERÊNCIAS

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 Cirurgia*, v.41, n.2, p.129-133, 2014.

BAXTER, G.D.; MCDONOUGH, S.M. Principles of electrotherapy in veterinary physiotherapy. *Animal Physiotherapy: Assessment, Treatment and Rehabilitation of Animals*. Oxford: Blackwell, p. 177-186, 2007.

BUSNARDO, V.L.; BIONDO-SIMÕES, M.L.P. Os efeitos do laser hélio-neônio de baixa intensidade na cicatrização de lesões cutâneas induzidas em ratos. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, v.14, n.1, p.45-51, 2010.

CASTRO, J. L. C.; HUPPES, R. R.; DE NARDI, A. B.; PAZZINI, J. M. Introdução à Anatomia. In: Castro, J. L. C.; Huppess, R. R.; De Nardi, A. B.; Pazzini, J. M. *Princípios e Técnicas de Cirurgias Reconstructivas da Pele de Cães e Gatos*. 1ed. Curitiba - PR: MedVep, v. 1, p. 10-16, 2015.

CORAZZA, A. V.; JORGE, J.; KURACHI, C.; BAGNATO, V. S. Photobiomodulation on the angiogenesis of skin wounds in rats using different light sources. *Photomedicine and Laser Surgery*, New York, v. 25, n. 2, p. 102-106, 2007.

CURY, V.; MORETTI, A.I.S.; ASSIS, L.; BOSSINI, P. et al. Low level laser therapy increases angiogenesis in a model of ischemic skin flap in rats mediated by VEGF, HIF-1 α and MMP-2. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 125, p. 164-170, 2013.

ESTEVEES JÚNIOR, I.; MASSON, I.B.; OSHIMA, C.T.F. et al. Low-level laser irradiation, cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and necrosis of random skin flaps in rat. *Lasers in Medical Science*, v.27, p.655-660, 2012.

HENRIQUES, Á.C.G.; CAZAL, C.; CASTRO, J.F.L.D. Ação da laserterapia no processo de proliferação e diferenciação celular: revisão da literatura. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, v. 37, n. 4, p. 295-302, 2010.

MacPHAIL C.M. (2014) Cirurgia do sistema tegumentar. In FOSSUM TW. Cirurgia de Pequenos Animais. 4.ed. Rio de Janeiro, Elsevier, cap. 16, p. 222-257.

MARTINS, M.I.M.; ELIAS, B.C.; JUSTINO, R.C. Cirurgia reconstructiva com retalho cutâneo de avanço como técnica alternativa para tratamento de carcinoma de células escamosas em cães: relato de caso. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.22, n.3-4, p.131-136, 2015.

MCFARLANE, R.M.; DEYOUNG, G.; HENRY RA. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plast Reconstr Surg*. v.35: 177-82, 1965.

MONTINARO, V.; MASSARI, F.; VEZZONI, L. et al. Lateral Caudal Axial Pattern Flap in 13 Dogs. *Veterinary Surgery*. v.43, p.1-6, 2014.

MUSSTAF, R. A.; JENKINS, D. F. L.; JHA, A. N. Assessing the impact of low level laser therapy (LLLT) on biological systems: a review. *International journal of radiation biology*, v. 95, n. 2, p. 120-143, 2019.

PAVLETIC, M.M. (2018) Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery. 4.ed. Hoboken, NJ, Wiley.

PAVLETIC, M. M. Tegumento. In: SLATTER, D.S. *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais*. 3.ed. v.1. São Paulo: Manole, cap. 20, p.250-259, 2007.

PAZZINI J. M.; DE NARDI A. B.; CASTRO J. L. C.; HUPPES R. R. Cirurgia reconstrutiva aplicada na oncologia. DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. *Oncologia em cães e gatos*. 2.ed. Rio de Janeiro. Roca, 2016, cap. 13, p. 179 – 186.

PINHEIRO, A.L.B.; NASCIMENTO, S.C.; BARROS VIEIRA, A.L.; BRUGNERA Jr,A. et al, Effects of low-level laser therapy on malignant cells: in vitro study. *Journal of clinical laser medicine & surgery*, v. 20, n. 1, p. 23-26, 2002.

SILVA, T.S.; MENDES, F.; ALVES, A.M.P. Estudo microscópico da lesão tecidual em pele de ratos Wistar, tratados com laser de baixa potência. *Revista Brasileira de Biociência*, v.8, n.3, p.264-267, 2010.

SLATTER, D.H. (2007) Manual de cirurgia de pequenos animais: Pele e órgãos anexos. 3.ed. São Paulo, Manole, cap.22, p. 304-309.

STANLEY, B.J.; PITT, K.A.; WEDER, C.D. et al. Effects of Negative Pressure Wound Therapy on Healing of Free Full-Thickness Skin Grafts in Dog. *Veterinary Surgery*, v.42, n.5, p.511-522, 2013.

APÊNDICE A

Grupos de animais conforme o tamanho do retalho, densidade de energia da laserterapia e intervalo de exposição.

Grupos	D	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
Grupo 1 8cm x 2,4cm 0J/cm²								Coleta de amostras
Grupo 2 8cm x 2,4cm 4J/cm²	X		X		X		X	Coleta de amostras
Grupo 3 8cm x 2,4cm 6J/cm²	X		X		X		X	Coleta de amostras

APÊNDICE B

Método de avaliação das variáveis macroscópicas após o retalho cutâneo em ratos que foi realizado na FCAV/UNESP Campus de Jaboticabal

Data da cirurgia				
Data da avaliação				
Número do rato				
Variável				
Presença de secreção	() Ausente (nenhuma secreção na ferida cirúrgica)	() Discreta (secreção ao redor da ferida cirúrgica)	() Moderada (aproximadamente 50% da ferida cirúrgica apresenta secreção)	() Intensa (toda a ferida cirúrgica apresenta secreção)
Presença de tecido desvitalizado	() Ausente (tecido integro)	() Discreto (Presença de discreta quantidade de tecido desvitalizado)	() Moderado (aproximadamente 50% da ferida desvitalizada)	() Intenso (desvitalização por toda a extensão do retalho)
Edema	() Ausente (nenhuma tumefação no retalho)	() Discreto (presença de tumefação pontual proveniente de líquido intersticial)	() Moderada (50% do retalho apresenta áreas de tumefação)	() Intenso (tumefação por toda a extensão do retalho)
Deiscência de sutura	() Sim		() Não	

APÊNDICE C

Tabela 1. Tabela contendo os dados obtidos pela avaliação macroscópica.

Grupo	Presença de secreção	Presença de tecido desvitalizado	Edema	Deiscência de sutura
4J D3				
1	Ausente	Ausente	Ausente	não
2	Ausente	Ausente	Discreto	não
3	Ausente	Discreto	Ausente	sim
4	Ausente	Discreto	Ausente	sim
5	Ausente	Discreto	Ausente	não
6	Ausente	Discreto	Ausente	não
7	Discreta	Discreto	Moderado	não
8	Discreta	Discreto	Discreto	não
4J D7				
1	Ausente	Ausente	Ausente	não
2	Ausente	Moderado	Ausente	não
3	Ausente	Discreto	Ausente	sim
4	Ausente	Discreto	Ausente	sim
5	Ausente	Moderado	Ausente	não
6	Ausente	Discreto	Ausente	não
7	Ausente	Moderado	Ausente	não
8	Ausente	Discreto	Ausente	não
6J D3				
1	Ausente	Ausente	Ausente	não
2	Ausente	Ausente	Ausente	não
3	Ausente	Discreto	Ausente	não
4	Ausente	Discreto	Ausente	sim
5	Ausente	Discreto	Ausente	sim
6	Ausente	Ausente	Ausente	não
7	Ausente	Ausente	Discreto	não
8	Discreto	Ausente	Discreto	sim
6J D7				
1	Ausente	Ausente	Ausente	não
2	Ausente	Ausente	Ausente	não
3	Ausente	Ausente	Ausente	não
4	Discreto	Discreto	Discreto	sim
5	Discreto	Discreto	Discreto	sim
6	Ausente	Discreto	Ausente	não
7	Ausente	Moderado	Ausente	não
8	Discreto	Discreto	Discreto	sim
Controle D3				
1	Ausente	Discreto	Ausente	sim
2	Ausente	Ausente	Ausente	não
3	Ausente	Discreto	Ausente	não

4	Discreto	Ausente	Discreto	sim
5	Ausente	Ausente	Discreto	não
6	Discreto	Discreto	Discreto	não
7	Ausente	Ausente	Discreto	não
8	Discreto	Moderado	Moderado	não
Controle D7				
1	Ausente	Discreto	Ausente	sim
2	Ausente	Ausente	Ausente	não
3	Ausente	Discreto	Discreto	não
4	Ausente	Discreto	Ausente	sim
5	Ausente	Ausente	Ausente	não
6	Ausente	Moderado	Ausente	não
7	Ausente	Discreto	Ausente	não
8	Ausente	Ausente	Ausente	não

4J (4Joules/cm²), 6J (6Joules/cm²), D3 (3º dia de pós operatório), D7 (7º dia de pós operatório)

APÊNDICE D

Tabela 2. Tabela contendo os dados obtidos pela avaliação microscópica.

Identificação do animal	Presença de necrose	Quantidade de vasos (5 CGA) - objetiva de 40X	Infiltrado inflamatório neutrofílico (objetiva 40X)	Infiltrado inflamatório macrofágico (objetiva 40X)
1C Cd	S	16	discreta	discreta
1C CR	N	0	ausente	ausente
1C Md	S	31	acentuada	moderada
2C Cd	S	20	discreta	discreta
2C Cr	N	12	discreta	discreta
2C Md	N	20	discreta	discreta
3C Cd	S	51	acentuada	acentuada
3C Cr	N	11	ausente	ausente
3C Md	S	15	moderada	discreta
4C Cd	S	13	moderada	moderada
4C Cr	N	3	ausente	ausente
4C Md	N	15	discreta	discreta
5C Cd	S	42	moderada	discreta
5C Cr	N	17	ausente	ausente
5C Md	S	40	moderada	discreta
6C Cd	S	58	acentuada	acentuada
6C Cr	N	6	ausente	ausente
6C Md	S	46	acentuada	acentuada
7C Cd	S	35	acentuada	moderada
7C Cr	N	4	ausente	ausente
7C Md	S	5	discreta	ausente
8C Cd	N	5	ausente	ausente
8C CR	N	1	discreta	moderada
8C Md	S	9	discreta	discreta
4J N1 Cd	S	20	acentuada	acentuada
4J N1 Cr	N	5	discreta	ausente
4J N1 Md	S	28	discreta	moderada
4J N2 Cd	S	25	moderada	moderada
4J N2 Cr	N	10	ausente	ausente
4J N2 Md	N	16	discreta	discreta
4J N3 Cd	S	21	acentuada	discreta
4J N3 Cr	N	5	ausente	ausente
4J N3 Md	N	1	ausente	ausente
4J N4 Cd	S	34	acentuada	discreta
4J N4 Cr	N	0	ausente	ausente
4J N4 Md	N	12	discreta	discreta

4J N5 Cd	S	33	discreta	ausente
4J N5 Cr	S	12	moderada	moderada
4J N5 Md	S	17	ausente	discreta
4J N6 Cd	S	10	acentuada	discreta
4J N6 CR	S	29	discreta	discreta
4J N6 Md	S	104	acentuada	moderada
4J N7 Cd	S	102	moderada	moderada
4J N7 Cr	N	1	ausente	ausente
4J N7 Md	S	28	moderada	moderada
4J N8 Cd	S	28	moderada	moderada
4J N8 CR	N	0	discreta	discreta
4J N8 Md	N	35	discreta	discreta
6J N1 Cd	S	17	moderada	moderada
6J N1 Cr	N	19	discreta	discreta
6J N1 Md	S	38	moderada	moderada
6J N2 Cd	S	30	moderada	moderada
6J N2 Cr	N	3	ausente	ausente
6J N2 Md	S	31	discreta	moderada
6J N3 Cd	S	105	moderada	moderada
6J N3 Cr	N	9	discreta	ausente
6J N3 Md	S	8	moderada	acentuada
6J N4 Cd	S	106	acentuada	acentuada
6J N4 Cr	N	12	ausente	ausente
6J N4 Md	S	63	acentuada	moderada
6J N5 Cd	S	54	moderada	moderada
6J N5 Cr	N	8	ausente	ausente
6J N5 Md	S	65	discreta	discreta
6J N6 Cd	S	25	moderada	moderada
6J N6 Cr	N	2	discreta	discreta
6J N6 Md	S	30	moderada	acentuada
6J N7 Cd	S	62	acentuada	acentuada
6J N7 CR	N	1	discreta	discreta
6J N7 Md	S	27	acentuada	acentuada
6J N8 Cd	S	132	moderada	moderada
6J N8 Cr	N	18	discreta	ausente
6J N8 Md	S	13	acentuada	acentuada

C(controle), 4J (4Joules/cm²), 6J (6Joules/cm²), CD (caudal), CR (cranial), MD (média), N (número do animal).