

RODNEY GOMES RODRIGUES

**EFEITOS DO LASER DE CO₂ ULTRAPULSADO NA VIABILIDADE,
CONTRAÇÃO E FIBROPLASIA DE RETALHO CUTÂNEO DORSAL
DE RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau acadêmico de Doutor.

**Orientador:
Prof. Dr. Jurandir Marcondes Ribas Filho**

**Co-orientadora:
Prof.^a. Dr.^a. Maria de Lourdes Pessole
Biondo Simões**

**Coordenador:
Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos**

CURITIBA

2001

RODNEY GOMES RODRIGUES

**EFEITOS DO LASER DE CO₂ ULTRAPULSADO NA VIABILIDADE,
CONTRAÇÃO E FIBROPLASIA DE RETALHO CUTÂNEO DORSAL
DE RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau acadêmico de Doutor.

**Orientador:
Prof. Dr. Jurandir Marcondes Ribas Filho**

**Co-orientadora:
Prof.^a. Dr.^a. Maria de Lourdes Pessole
Biondo Simões**

**Coordenador:
Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos**

CURITIBA

2001

FICHA CATALOGRÁFICA

Rodrigues, Rodney Gomes

Efeitos do laser de CO₂ ultrapulsado na viabilidade, contração e fibroplasia de retalho cutâneo dorsal de ratos / Rodney Gomes

Rodrigues. - Curitiba, 2001.

xvii, 111 f.

Tese (Doutorado) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Área de concentração : Clínica Cirúrgica

Orientador: Jurandir Marcondes Ribas Filho

1. Lasers. 2. Retalhos cirúrgicos. 3. Cicatrização de feridas.4.Ratos

I. Título



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
 UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
 PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
 SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
 NÍVEL MESTRADO - DOUTORADO

DECLARAÇÃO


*Declaro, que o **Dr. RODNEY GOMES RODRIGUES**, completou os requisitos necessários para obtenção do Grau Acadêmico de Doutor em Clínica Cirúrgica ofertado pela Universidade Federal do Paraná.*

*Para obtê-los, concluiu os créditos didáticos previstos no Regimento do Programa e apresentou sua tese sob título: **“EFEITOS DO LASER DE CO2 ULTRAPULSADO NA VIABILIDADE, CONTRAÇÃO E FIBROPLASIA DE RETALHO CUTÂNEO DORSAL DE RATOS”**, em tempo hábil.*

*A tese foi defendida nesta data e aprovada pela Comissão Examinadora composta pelos **Professores Drs. João Carlos Repka - Membro, Jorge Rufino Ribas Timi – Membro, Clementino Zeni Neto – Membro, Vinícius M. Budel – Membro, Osvaldo Malafaia - Presidente.***

E, por ser verdade, firmo a presente.

Curitiba, 20 de dezembro de 2001


Prof. Dr. Antonio Carlos L. Campos
 Coordenador do Programa de Pós-Graduação
 em Clínica Cirúrgica da UFPR

Perlaudans NELSON ATTÍLIO UBIALI, mei magistrum optimum, peculiariter de verbo portucalensi gradu in primo, id est in re multifaria quae et in vita et in qualicumque arte vel activitate seu etiam commoditate perpetuam asserit discriminationem, istud devoveo ac offero opus.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. JURANDIR MARCONDES RIBAS FILHO, orientador e incentivador desta tese, por seus valiosos ensinamentos, infinita paciência e humor invejável, que transformaram o trabalho em prazer.

À Prof^a. Dr^a. MARIA DE LOURDES PESSOLE BIONDO SIMÕES, co-orientadora, por sua ajuda, no passado, na realização do meu primeiro trabalho científico e no presente, com suas opiniões sensatas.

Ao Prof. Dr. ANTÔNIO CARLOS LIGOCKI CAMPOS, Coordenador do Programa de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, UFPR, pela confiança em mim depositada.

Ao Prof. Dr. OSVALDO MALAFAIA, pela dedicação e competência na Coordenação do Programa de Pós-graduação em Princípios de Cirurgia da Faculdade Evangélica do Paraná, FEPAR, um exemplo a ser seguido.

Ao Prof. Dr. JOÃO CARLOS DOMINGUES REPKA, pelo auxílio na escolha do animal utilizado como modelo experimental, além da indicação e aval no concernente ao Laboratório de Química e Petroquímica do Instituto de Tecnologia do Paraná, TECPAR.

Ao Prof. VIRGILIO JOSUÉ BALESTRO, por sua valiosa orientação na correção do texto da tese no tocante à língua portuguesa, tornando-o assim mais claro e objetivo.

Aos médicos do Serviço de Cirurgia Plástica do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, HUEC, JOSÉ CARDOSO DE AZEVEDO, LUIZ HENRIQUE AUERSVALD CALOMENO, SÉRGIO LUIZ LOPES, MANOEL ALBERTO PRESTES, JOSÉ LUIZ TAKAKI e JOÃO OSÓRIO BARÉA, pelos seus ensinamentos fundamentais na minha formação cirúrgica.

À médica patologista LISMARY DE FORVILLE MESQUITA, Professora Auxiliar da Disciplina de Anatomia Patológica do Curso de Medicina da FEPAR, pela ajuda no planejamento, preparo, interpretação e descrição das peças histológicas.

Aos médicos cirurgiões plásticos RUTH MARIA GRAF, ANDRÉ AUERSVALD e AFRÂNIO BENEDITO SILVA BERNARDES, por cederem seu aparelho de laser e pela ajuda, operando-o, durante realização da parte experimental.

Aos médicos cirurgiões plásticos LUIS ROBERTO REIS DE ARAÚJO e ROSANA COSTA DAMÁSIO, pelo auxílio no preparo e tatuagem dos animais e na realização da parte experimental.

Aos médicos oftalmologistas VILMAR POLATI DA SILVA e MURILO VALADARES DOMINGUES, diretores do Centro Paranaense de Oftalmologia, CPO, por terem cedido as suas instalações para a realização de parte deste estudo.

À médica CINTIA CHRISTINE DE ARAÚJO SANTOS NIGRO, minha querida esposa, pela ajuda vital em todas as fases da elaboração desta tese e pela tradução do resumo para a língua inglesa.

Aos químicos GUILHERME WIEGAND ZEMKE e ODILON VIDAL, do Laboratório de Química e Petroquímica do TECPAR, por cederem sua máquina universal de ensaio de tração e pela ajuda na realização dos testes tensiométricos.

Aos acadêmicos de medicina da FEPAR CHRISTIE MICHELLE GRAF, LISANDRO LIMA RIBEIRO, LEANDRA P. MUNIZ e ALESSANDRO HARTMANN, por sua ajuda em vários estágios deste trabalho, em que demonstraram total interesse e dedicação.

Às instrumentadoras cirúrgicas SIMONE SCUISSIATO NAKAMURA, BEATRIZ DELLA B. D. DA SILVA, MARIZA L. E. TARGA, CRISTIANE BORNIA e à fotógrafa DEISE MARA SCUISSIATO HANSEL, por sua ajuda precisa, sem a qual a parte experimental não teria sido realizada dentro dos prazos previstos.

Ao auxiliar de biotério do Instituto de Pesquisas Médicas, IPEM, pertencente ao Programa de Pós-graduação em Princípios de Cirurgia da FEPAR, JOÃO BRITO DE FREITAS, pelo grande auxílio no desenrolar de toda a parte experimental.

Às secretárias EDILAINE ARAÚJO DOS SANTOS e MARLEI VIEIRA RIBEIRO, pela dedicação no Programa de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica da UFPR.

Meus agradecimentos estendem-se também a todos os que participaram em alguma etapa da elaboração desta tese.

Seleção e fornecimento dos animais: médico veterinário EURICO ELOI FERREIRA JUNIOR, gerente do biotério do TECPAR.

Preparo e coloração de lâminas de histologia: técnico em patologia RUBENS SIMÕES GAIER.

Planimetria digital : analista de sistemas ANA LÚCIA METCHKO.

Análise estatística: Professor convidado da disciplina de Estatística do Programa de Pós-graduação em Princípios de Cirurgia da FEPAR e Professor do Departamento de Estatística da UFPR, ARY ELIAS SABBAG JUNIOR, bem como a Professora do Departamento de Informática do Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná, CEFET-PR, MARCIA OLANDOSKI ERBANO.

Uma árvore cuja copa você não pode alcançar
cresce de uma pequena semente.
Uma construção de mais de nove andares de altura
começa com um pedaço de terra.
Uma viagem de mil milhas se inicia com um único passo.

(TAO, 64)

SUMÁRIO

LISTA DE FOTOGRAFIAS	11
LISTA DE GRÁFICOS	13
LISTA DE TABELAS	14
LISTA DE ABREVIATURAS	15
LISTA DE SIGLAS	16
LISTA DE SÍMBOLOS	17
RESUMO	18
ABSTRACT	19
1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO DA LITERATURA	25
2.1 MODELO DE RETALHO CUTÂNEO.....	26
2.2 CONTRAÇÃO DO COLÁGENO.....	31
3 MATERIAL E MÉTODO	36
3.1 AMOSTRA.....	37
3.2 ALOJAMENTO.....	38
3.3 ANESTESIA.....	38
3.4 PROCEDIMENTO PRÉ-OPERATÓRIO.....	38
3.5 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO.....	40
3.5.1 Grupo controle.....	40
3.5.2 Grupo experimento.....	41
3.6 PÓS-OPERATÓRIO.....	45
3.7 PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO.....	45
3.8 PESAGEM DOS ANIMAIS.....	45
3.9 PLANIMETRIA DIGITAL.....	46
3.9.1 Avaliação da área do retalho cutâneo.....	48
3.9.2 Avaliação da área da figura tatuada.....	48
3.10 ESTUDO HISTOLÓGICO.....	48
3.11 MORFOMETRIA DIGITAL.....	49
3.12 ESTUDO TENSIOMÉTRICO.....	51
3.12.1 Carga de ruptura.....	52
3.12.2 Alongamento de ruptura.....	52
3.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	53

4 RESULTADOS	54
4.1 PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO.....	55
4.1.1 Grupo controle.....	55
4.1.2 Grupo experimento.....	58
4.2 PESAGEM DOS ANIMAIS.....	61
4.3. PLANIMETRIA DIGITAL.....	63
4.3.1 Avaliação da área do retalho cutâneo.....	63
4.3.2 Avaliação da área da figura tatuada.....	65
4.4 ESTUDO HISTOLÓGICO.....	69
4.4.1 Aspectos histológicos da pele do retalho controle.....	69
4.4.2 Aspectos histológicos da pele do retalho experimento no dia 14.....	71
4.4.3 Aspectos histológicos da pele do retalho experimento no dia 28.....	72
4.4.4 Aspectos histológicos da pele do retalho experimento no dia 56.....	73
4.4.5 Aspectos histológicos da pele do retalho experimento no dia 84.....	75
4.4.6 Aspectos histológicos da pele do retalho experimento no dia 112.....	76
4.5 MORFOMETRIA DIGITAL.....	77
4.6 ESTUDO TENSIOMÉTRICO.....	78
4.6.1 Carga de ruptura.....	78
4.6.2 Alongamento de ruptura.....	80
5 DISCUSSÃO	82
5.1 MODELO EXPERIMENTAL.....	83
5.2 VIABILIDADE DO RETALHO CUTÂNEO.....	86
5.3 CONTRAÇÃO CUTÂNEA DO RETALHO.....	88
5.4 DEPOSIÇÃO DE FIBRAS COLÁGENAS E ELÁSTICAS.....	91
6 CONCLUSÕES	94
REFERÊNCIAS	96
APÊNDICE 1 - ENVELHECIMENTO CUTÂNEO	102
APÊNDICE 2 - PRINCÍPIOS DO LASER	106
APÊNDICE 3 - ASSOCIAÇÃO DO LASER COM A RITIDOPLASTIA	111
ANEXO - TABELAS	116

LISTA DE FOTOGRAFIAS

FOTOGRAFIA 1 - DORSO DE ANIMAL COM DESENHO DO RETALHO E DA FIGURA.....	39
FOTOGRAFIA 2 - DETALHE DA FIGURA NA BASE DO RETALHO APÓS SER TATUADA.....	39
FOTOGRAFIA 3 - RETALHO APÓS SÍNTESE EM ANIMAL DO GRUPO CONTROLE.....	40
FOTOGRAFIA 4 - APARELHO DE LASER ULTRAPULSE® 5000.....	41
FOTOGRAFIA 5 - OPÇÕES DO GERADOR DE PADRÕES COMPUTADORIZADO.....	42
FOTOGRAFIA 6 - PARÂMETROS PROGRAMADOS NO APARELHO DE LASER.....	43
FOTOGRAFIA 7 - APLICAÇÃO DO LASER NO DESENHO DO RETALHO EM ANIMAL DO GRUPO EXPERIMENTO.....	43
FOTOGRAFIA 8 - DETALHE DO RETALHO ELEVADO APÓS A APLICAÇÃO DO LASER EM ANIMAL DO GRUPO EXPERIMENTO.....	44
FOTOGRAFIA 9 - DETALHE DA FIGURA TATUADA NA BASE DO RETALHO APÓS SÍNTESE EM ANIMAL DO GRUPO EXPERIMENTO.....	44
FOTOGRAFIA 10 - CÓPIA DE ÁREAS POR APOSIÇÃO PARA PLANIMETRIA DIGITAL.....	46
FOTOGRAFIA 11 - OBTENÇÃO DE LARGURA E COMPRIMENTO MÉDIOS PELO PROGRAMA COREL DRAW 9®	47
FOTOGRAFIA 12 - OBTENÇÃO DE ÁREA EM CM ² PELO APLICATIVO EXEL 97®	47
FOTOGRAFIA 13 - EQUIPAMENTO DE ANÁLISE DIGITAL DE IMAGENS.....	49
FOTOGRAFIA 14 - CALIBRAGEM DO PROGRAMA OPYMAS® 6.2 PARA AUMENTO DE 100X.....	50
FOTOGRAFIA 15 - DETERMINAÇÃO DE ESPESSURA DA FIBROPLASIA PARA MEDIÇÃO.....	50
FOTOGRAFIA 16 - SEGMENTO CENTRAL DO FRAGMENTO MARCADO PARA TENSIOMETRIA.....	51
FOTOGRAFIA 17 - DEMONSTRAÇÃO DA CARGA DE RUPTURA NA TENSIOMETRIA.....	52
FOTOGRAFIA 18 - DEMONSTRAÇÃO DO ALONGAMENTO DE RUPTURA NA TENSIOMETRIA.....	52
FOTOGRAFIA 19 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 02.....	55
FOTOGRAFIA 20 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 03.....	55
FOTOGRAFIA 21 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 05.....	56
FOTOGRAFIA 22 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 10.....	56
FOTOGRAFIA 23 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 2 (C) NO DIA 21.....	57
FOTOGRAFIA 24 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 2 (C) NO DIA 28.....	57
FOTOGRAFIA 25 - RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 1 (E) NO DIA 02.....	58
FOTOGRAFIA 26 - RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 1 (E) NO DIA 05.....	58
FOTOGRAFIA 27 - RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 1 (E) NO DIA 10.....	59
FOTOGRAFIA 28 - RETALHO DO ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 1 (E) NO DIA 10.....	59
FOTOGRAFIA 29 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 2 (E) NO DIA 14.....	60
FOTOGRAFIA 30 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 2 (E) NO DIA 28.....	60
FOTOGRAFIA 31 - RETALHO DO ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 3 (E) E RETALHO DO ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 3 (C), NO DIA 56.....	66

FOTOGRAFIA 32 - RETALHO DO ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 4 (E) E RETALHO DO ANIMAL 1 DO SUBGRUPO 4 (C), NO DIA 84.....	66
FOTOGRAFIA 33 - RETALHO DO ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 5 (E) E RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 5 (C), NO DIA 112.....	67
FOTOGRAFIA 34 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 112, ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 5 (C), HE, 100X.....	69
FOTOGRAFIA 35 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 112, ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 5 (C), WEIGERT, 400X.....	70
FOTOGRAFIA 36 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 14, ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 1 (E), HE, 100X.....	71
FOTOGRAFIA 37 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 28, ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 2 (E), HE, 100X.....	72
FOTOGRAFIA 38 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 56, ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 3 (E), TM, 100X.....	73
FOTOGRAFIA 39 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 56, ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 3 (E), WEIGERT, 400X.....	74
FOTOGRAFIA 40 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 84, ANIMAL 1 DO SUBGRUPO 4 (E), HE, 100X.....	75
FOTOGRAFIA 41 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 112, ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 5 (E), HE, 100X.....	76

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - PESO DOS ANIMAIS (C), EM GRAMAS, DO DIA 01 AO DIA 112.....	61
GRÁFICO 2 - PESO DOS ANIMAIS (E), EM GRAMAS, DO DIA 01 AO DIA 112.....	61
GRÁFICO 3 - PESO DOS ANIMAIS (C + E), COMO % DO PESO INICIAL, DO DIA 01 AO DIA 112.....	62
GRÁFICO 4 - ÁREA DO RETALHO (C), EM CM ² , NO DIA 14.....	63
GRÁFICO 5 - ÁREA DO RETALHO (E), EM CM ² , NO DIA 14.....	63
GRÁFICO 6 - ÁREA DO RETALHO (E + C), COMO % DA ÁREA TOTAL, NO DIA 14.....	64
GRÁFICO 7 - ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO (C), EM CM ² , DO DIA 01 AO DIA 112.....	65
GRÁFICO 8 - ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO (E), EM CM ² , DO DIA 01 AO DIA 112.....	65
GRÁFICO 9 - ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO (C + E), COMO % DA ÁREA INICIAL, DO DIA 01 AO DIA 112.....	67
GRÁFICO 10 - ESPESSURA DA FIBROPLASIA NO RETALHO (E), EM μm, DO DIA 14 AO 112.....	77
GRÁFICO 11 - CARGA DE RUPTURA DO RETALHO (C), EM KGF, DO DIA 14 AO 112.....	78
GRÁFICO 12 - CARGA DE RUPTURA DO RETALHO (E), EM KGF, DO DIA 14 AO 112.....	78
GRÁFICO 13 - ALONGAMENTO DE RUPTURA DO RETALHO (C), EM %, DO DIA 14 AO 112.....	80
GRÁFICO 14 - ALONGAMENTO DE RUPTURA DO RETALHO (E), EM %, DO DIA 14 AO 112.....	80

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL PERCENTUAL DE VIABILIDADE.....	64
TABELA 2 - DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL ÁREA DA FIGURA TATUADA.....	68
TABELA 3 - NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA (p) PARA AS DIFERENÇAS DAS ÁREAS DA FIGURA TATUADA.....	68
TABELA 4 - DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL CARGA DE RUPTURA.....	79
TABELA 5 - NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA (p) PARA AS DIFERENÇAS DAS CARGAS DE RUPTURA.....	79
TABELA 6 - DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL ALONGAMENTO DE RUPTURA.....	81
TABELA 7 - NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA (p) PARA AS DIFERENÇAS DOS ALONGAMENTOS DE RUPTURA....	81
TABELA 8 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO O PESO, EM GRAMAS, DO DIA 01 AO DIA 112.....	117
TABELA 9 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO O PESO, EM GRAMAS, DO DIA 01 AO DIA 112.....	118
TABELA 10 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO A ÁREA DO RETALHO, EM CM ² E %, NO DIA 14....	119
TABELA 11 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ÁREA DO RETALHO, EM CM ² E %, NO DIA 14....	120
TABELA 12 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO A ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO, EM CM ² , DO DIA 01 AO DIA 112.....	121
TABELA 13 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO, EM CM ² , DO DIA 01 AO DIA 112.....	122
TABELA 14 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM μm, NO DIA 14.....	123
TABELA 15 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM μm, NO DIA 28.....	124
TABELA 16 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM μm, NO DIA 56.....	125
TABELA 17 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM μm, NO DIA 84.....	126
TABELA 18 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM μm, NO DIA 112.....	127
TABELA 19 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 14.....	128
TABELA 20 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 28	128
TABELA 21 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 56.....	128
TABELA 22 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 84.....	129
TABELA 23 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 112.....	129
TABELA 24 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 14.....	130
TABELA 25 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 28.....	130
TABELA 26 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 56.....	130
TABELA 27 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 84.....	131
TABELA 28 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 112.....	131

LISTA DE ABREVIATURAS

A - animal

cm - centímetro

cm² - centímetro quadrado

C - controle

CO₂ - gás carbônico ou dióxido de carbono

D - dia

E - experimento

et al. - e outros

f. - folha

HE - hematoxilina eosina

J/cm² - joule por centímetro quadrado

kg - quilograma

kgf - quilograma força

mJ - milijoule

ml - mililitro

mm - milímetro

mm² - milímetro quadrado

ms - milisegundo

n. - número

nm - nanômetro

p. - página

SG - subgrupo

TM - tricrômico de Mallory

v. - volume

W - Watt

µm - micrômetro

µs - microssegundo

LISTA DE SIGLAS

Cefet-PR - Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná

CPG - sigla em língua inglesa *Computer Pattern Generator*,
significa em português Gerador de Padrões Computadorizado

CPO - Centro Paranaense de Oftalmologia

Er:YAG - sigla em língua inglesa *Erbium : Yttrium-Aluminum-Garnet*

FEPAR - Faculdade Evangélica do Paraná

IPEM - Instituto de Pesquisas Médicas

laser - palavra originada da sigla em língua inglesa *laser*
(*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*)

Nd:YAG - sigla em língua inglesa *Neodymium : Yttrium-Aluminum-Garnet*

PUC-PR - Pontifícia Universidade Católica do Paraná

SMAS - Sistema Músculo Aponeurótico Superficial

TECPAR - Instituto de Tecnologia do Paraná

UFPR - Universidade Federal do Paraná

LISTA DE SÍMBOLOS

α - alfa

$^{\circ}\text{C}$ - grau Celcius

n - número de amostra

p - nível de significância

x - por (descrição de área)

X - aumentos ao microscópio

$\%$ - porcentagem

- - dado não mensurado

$<$ - menor que

$=$ - igual a

\leq - menor ou igual a

\pm - mais ou menos (seguido do valor de desvio padrão)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a viabilidade, a contração cutânea e a deposição de colágeno após a aplicação de laser de CO₂ ultrapulsado em retalho cutâneo dorsal de ratos, por meio de planimetria e morfometria digital, histologia e tensiometria. Foram utilizados 50 ratos da linhagem Wistar, distribuídos em 2 grupos de 25 animais, experimento e controle, divididos em 5 subgrupos de 5 animais submetidos a eutanásia decorridos 14, 28, 56, 84 e 112 dias da aplicação do laser. Um dia antes do procedimento cirúrgico, após anestesia inalatória com éter etílico, foi desenhado um retalho cutâneo no dorso de cada animal, conforme descrito por McFARLANE, DeYONG e HENRY (1965) e modificado por KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986), ao longo da coluna vertebral, medindo 10 x 3 cm, com pedículo caudal e foi tatuada uma figura de 22 x 22 mm dentro dos limites de seu pedículo. No dia do procedimento cirúrgico, após anestesia inalatória, o desenho do retalho do grupo experimento recebeu antes de sua incisão 3 aplicações de laser de CO₂ ultrapulsado com gerador de padrões computadorizado ativado, potência de 300 mJ, energia de 60 W e fluência de 7,5 J/cm². O desenho do retalho do grupo controle não recebeu nenhum tratamento. Os retalhos dos 50 animais foram imediatamente incisados, elevados da musculatura dorsal e submetidos a síntese na sua posição de origem. As figuras tatuadas, logo após a síntese dos retalhos, foram avaliadas por planimetria digital, apresentando-se no retalho do grupo experimento 52,18% menores que no controle (p<0,0001). No dia 14, por planimetria digital, foi avaliada a área total, a área viva proximal e a área de necrose isquêmica distal dos 50 retalhos, apresentando os retalhos do grupo controle viabilidade de 72,57% (± 4,62%) e do grupo experimento de 74,61% (± 5,25%). Em todo o período do estudo, as figuras tatuadas experimento mantiveram sua contração inicial, estando 52,31% menores que as controle no dia 112 (p=0,0045). O estudo histológico dos retalhos do grupo experimento demonstrou na derme superior, com a cicatrização, uma zona de deposição de fibras colágenas mais finas, compactas, regulares e dispostas paralelamente à epiderme, deposição essa ausente em fibras elásticas, denominada zona de fibroplasia, que atingiu sua maior espessura no dia 84, com 296,52 µm (± 37,76 µm), e, no dia 112, apresentava 294,74 µm (± 40,85 µm). A tensiometria demonstrou que, no dia 56, os retalhos do grupo experimento apresentaram sua maior carga de ruptura de 12,34 kgf, aumentada em relação ao controle de 7,71 kgf (p=0,0090). O alongamento de ruptura foi sempre menor nos retalhos do grupo experimento, sendo, no dia 56, de 28,46%, diminuída em relação ao controle de 40,68% (p=0,0088). A conclusão do estudo foi que a aplicação de laser de CO₂ ultrapulsado em retalho cutâneo dorsal de ratos não alterou a viabilidade do retalho e induziu a contração cutânea e a deposição de colágeno em zona de fibroplasia, fenômenos mantidos durante os 112 dias do estudo.

Descritores: Lasers, Retalhos cirúrgicos, Cicatrização de feridas, Ratos.

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze survival, collagen deposition and contracture effect of the ultrapulse carbon dioxide (CO₂) laser on dorsal skin-flap of rats by digital planimetry and morphometry, light microscopic histologic and tensiometric evaluations. Fifty rats were randomly allocated to either control or experimental groups of 25 animals each, divided into 5 subgroups. Under inalatory anesthesia a caudal based flap 10 x 3 cm was symmetrically raised along the dorsal midline by sharp dissection according to the Khouri modification of the original McFarlane technique. A 22 x 22 mm square was tattooed on the skin-flap base of each animal of the study (n = 50). The experimental skin-flap was treated with three passes of the CO₂ laser at 300 mJ, 60 W and fluency of 7.5 J/cm² by the Computer Pattern Generator. After three passes, the evaluation by digital planimetry revealed that the area of the square was reduced by 52.18 percent (p < 0,0001). Over the next 112 days, the laser-treated areas were 52.31 percent smaller than the control areas (p=0.0045). The evaluation on the 14th day by digital planimetry revealed that the control group flaps survival was 72.57% (± 4.62%). The experimental group flaps survival was 74.61% (± 5.25%). Skin specimens from the animals were analyzed at 14th, 28th, 56th, 84th and 112nd day. The experimental group histological examination demonstrated a higher content of collagen in the upper dermis, called fibroplasia area, which was more compact than that of the normal skin. The greatest thickness of 296.52 µm (± 37.76 µm) was observed at the 84th day. and on the day 112 it was of 294,74 µm (± 40.85 µm). Laser treatment significantly altered the tensile strength of the skin in all stages. At the 56th day the treated areas had a higher tensile strength of 12.34 kgf and the control ones of 7.71 kgf (p=0.0090). This study showed that the laser had not altered skin-flap survival although it affected collagen deposition and contracture effect in the treated areas, which persisted beyond the 112 days.

Subject headings: Lasers, Surgical flaps, Wound healing, Rats.

1 INTRODUÇÃO

Muitos pacientes, após ritidoplastias, demonstram descontentamento com o resultado obtido por este procedimento cirúrgico de rejuvenescimento facial. Apesar de que a face se apresente mais jovem, com ótimos resultados na região cervical e malar pela tração do plano músculo aponeurótico e reposicionamento da pele, as regiões centrais, como a periorbitária e perioral, devido à sua relativa imobilidade à tração, pouco se beneficiam.

Na ritidoplastia, resseca-se a pele em excesso, atuando-se somente na flacidez. Nada se faz contra o envelhecimento cutâneo (descrito no apêndice 1), seja ele epidérmico com alterações da pigmentação, da hidratação e da textura, seja dérmico com alterações das fibras elásticas e colágenas que levam à perda de espessura, do turgor e da elasticidade, aumentando a fragilidade cutânea e levando ao aparecimento das rugas.

Buscando um resultado estético mais satisfatório, foi proposto por cirurgiões a associação de métodos num mesmo tempo operatório: a ritidoplastia com função de correção dos efeitos gravitacionais e, para minimizar o envelhecimento cutâneo, foram utilizados inicialmente *peelings* químicos (BAKER, 1962) e dermoabrasões e, mais recentemente, o laser (MAYL e FELDER, 1997).

O temor dos médicos que não realizam tratamentos para a pele envelhecida no mesmo tempo cirúrgico da ritidoplastia, é de que estes procedimentos poderiam aumentar as complicações inerentes a uma cirurgia que envolve retalhos cutâneos, como a infecção, a cicatrização retardada e, principalmente, a necrose da porção distal menos vascularizada do retalho.

A fisiologia do rejuvenescimento cutâneo facial não se altera, quer o agente seja químico (*peeling*), mecânico (dermoabrasão) ou físico (laser). Após ser removida, a epiderme se regenera a partir de células de anexos remanescentes, e a derme, da deposição mais abundante e regular de colágeno, promovido por fibroblastos presentes nas camadas dérmicas mais profundas e não afetadas.

Um rejuvenescimento superficial remove a epiderme e a derme papilar, o que inclui o colágeno envelhecido causador de rugas rasas. Já um rejuvenescimento profundo remove o tecido até a derme reticular superficial, eliminando assim as rugas mais profundas. O limitante da profundidade é a possibilidade de lesar a pele abaixo da derme reticular superficial, causando seqüelas como cicatrizes e alterações da pigmentação.

Na dermoabrasão é empregado aparelho elétrico de rotação ou lixa manual para causar o efeito abrasivo, sendo difícil determinar a profundidade em que a pele está sendo removida. Nos *peelings*, variações da espessura, hidratação, oleosidade e acidez da pele dificultam a determinação da concentração do agente químico e do tempo de contato.

O rejuvenescimento facial a laser reduz os riscos associados a qualquer das outras técnicas por produzir remoção precisa do tecido em profundidade e regularidade, colaborando para a regeneração uniforme da epiderme e da derme, preservando a integridade dos vasos sanguíneos subdérmicos responsáveis pela nutrição da pele.

O laser de CO₂ passou por vários avanços tecnológicos. Inicialmente, era um feixe contínuo, que volatilizava o tecido, mas produzia extensa lesão dérmica residual semelhante a uma queimadura de segundo grau, devido à transmissão do calor produzido para áreas adjacentes (a descrição dos princípios do laser encontram-se no apêndice 2).

Esta lesão dérmica residual diminuiu com o laser de CO₂ pulsado, depois superpulsado e, a partir de 1994, com o laser ultrapulsado. Este aparelho emite o seu feixe de laser em pulsos muito breves de milissegundos, causando ablação da pele, mas permitindo que o calor se dissipe a intervalos regulares, antes que se transmita para os tecidos vizinhos, evitando, assim, grande dano térmico residual.

Observou-se no uso do laser de CO₂ ultrapulsado em ratos que a pele se contraiu imediatamente após sua aplicação, e que esta se manteve após a cicatrização dos tecidos. Outro efeito observado durante a cicatrização foi uma grande e regular deposição de fibras colágenas em zona de fibroplasia (RODRIGUES, 2000).

Devido às grandes dificuldades de estudos em humanos que envolvam viabilidade de retalhos faciais, a questão de se utilizar ou não laser associado à ritidoplastias está ainda indefinida (descrita no apêndice 3), merecendo intenso estudo e discussão (GOODMAN, 1998).

Neste estudo se propôs aplicar laser de CO₂ ultrapulsado, utilizando modelo experimental para pele dorsal de ratos proposto por RODRIGUES (2000) sobre retalho cutâneo dorsal em ratos descrito por McFARLANE, DeYONG e HENRY (1965) e modificado por KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) e avaliar:

1. a influência da aplicação do laser na viabilidade do retalho, por planimetria digital, no dia 14 do estudo;
2. a presença de contração cutânea, sua intensidade e manutenção, por planimetria digital, durante o período de 112 dias;
3. a deposição de fibras colágenas, por histologia, morfometria digital e tensiometria, durante o período de 112 dias;
4. a deposição de fibras elásticas, por histologia e tensiometria, durante o período de 112 dias.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MODELO DE RETALHO CUTÂNEO

McFARLANE, DeYONG e HENRY (1965) desenvolveram um retalho cutâneo em dorso de ratos para estudar os fatores que interferem na necrose isquêmica. Utilizaram animais adultos, pesando entre 250 e 350 gramas, pois o retalho apresentava 10 cm de comprimento por 4 cm de largura. Centralizado e ao longo da coluna vertebral, seu pedículo vascular era cranial e sua necrose distal, já definida entre o sétimo e décimo dia; era de um terço a um quarto de seu comprimento.

Utilizando o modelo que haviam proposto, McFARLANE et al. (1965) estudaram o fenômeno da autonomização. Na investigação do grupo experimento, não foi encontrado aumento significativo do número e calibre dos vasos ou do fluxo sanguíneo para a porção distal do retalho; e a causa que levou a ausência de necrose distal permaneceu desconhecida.

Testando o papel da hipóxia tecidual na necrose de retalhos, McFARLANE e WERMUTH (1966) estudaram com o mesmo modelo experimental a ação do oxigênio hiperbárico na prevenção da necrose distal. Observaram no grupo experimento uma importante limitação da necrose isquêmica diretamente relacionada às atmosferas de pressão de oxigênio administradas e ao número e tempo das sessões.

A partir dos trabalhos de McFARLANE, multiplicaram-se os autores que se propuseram a estudar a influência de substâncias e outros fatores na viabilidade de variados formatos de retalhos animais que apresentavam necrose distal isquêmica. Descrevem-se abaixo alguns exemplos:

ADAMSOM et al. (1967) estudaram a influência da dimetil-sulfoxide tópica na sobrevivência de retalho dorsal, em ratos, com 9 x 3 cm (proporção comprimento - largura de 3 para 1), pedículo caudal e necrose distal do grupo controle de 30 a 60%. Referiram diminuição da necrose no grupo experimento para 20% em média, justificando-a como efeito vasodilatador da substância aplicada.

REINISCH (1974), observando a autonomização de retalhos em porcos, propôs que existe circulação na porção distal de retalhos longos; mas, devido à abertura de pontes artério-venosas que desviam sangue do território capilar, ocorre a necrose do tecido. Essa abertura seria devida à perda do controle simpático por seção da inervação, que posteriormente retornaria ao seu tônus normal. O benefício da autonomização seria, então, promover esta abertura quando o retalho é bipediculado, e não suscetível a isquemias distais.

KERRIGAN (1983) após estudar vários modelos de retalhos cutâneos em porcos, relatou que a necrose distal pode ser atribuída a fatores extrínsecos sistêmicos (infecção, arteriosclerose, desnutrição e hipotensão) ou locais (compressão, tensão, trombose e torção de pedículo) e que estes podem ser evitados com adequado preparo pré-operatório e cirurgia; e o único fator intrínseco identificado, e o mais importante de todos, é o inadequado fluxo sanguíneo.

COHEN, HARMON e PHIZACKERLEY (1983) descreveram as alterações do metabolismo da glicose em retalhos abdominais isquêmicos de ratos de 11 x 3 cm e não isquêmicos de 5 x 3 cm. Demonstraram que a isquemia levava à diminuição das reservas de glicose e ao aumento de ácido láctico.

Os efeitos do tabagismo na sobrevivência de retalhos dorsais de ratos foi estudado por dois grupos de pesquisadores. LAWRENCE et al. (1984) utilizaram retalho de 10 x 4 cm de base cefálica e NOLAN et al. (1985) utilizaram retalho de 10 x 2,5 cm de base caudal. Apesar de os dois trabalhos demonstrarem os efeitos vasoconstrictores nocivos do tabaco, a falta de padronização dos retalhos dificultou a comparação de resultados.

Havia uma predileção dos pesquisadores por utilizar, em dorso de ratos, retalhos de base caudal. KAUFMAN et al. (1985), utilizando retalho de 10 x 3 cm, demonstraram que, em condições especiais, a porção distal que evoluiria para necrose poderia sobreviver, em parte, como um enxerto; MONTEIRO, SANTAMORE e NEMIR (1986), utilizando retalho de 9 x 3 cm, evidenciaram o efeito benéfico da pentoxifilina, que diminuiu o percentual de necrose distal.

KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) publicaram estudo no qual propuseram uma padronização do retalho dorsal em ratos para que os resultados de diferentes trabalhos fossem comparáveis. O retalho original de McFARLANE, DeYONG e HENRY (1965), anteriormente modificado de diferentes formas, foi aqui avaliado quanto à largura (3 ou 4 cm) e pedículo vascular (cranial ou caudal), permanecendo com comprimento padrão de 10 cm. O desenho que apresentou comportamento mais constante foi o de 10 x 3 cm com pedículo caudal, com viabilidade no oitavo dia de pós-operatório de 63,2% e desvio padrão de 5,4%, necessitando de apenas 14 retalhos por grupo para poder evidenciar um $p < 0,05$.

KHOURI, EDSTROM e ANGEL (1987) publicaram revisão, em que analisam 91 trabalhos, nos quais o retalho dorsal em ratos foi utilizado como meio de estudo da fisiologia dos retalhos cutâneos. Encontraram 26 diferentes desenhos de retalho, com diversidades também em parâmetros como peso, sexo e idade dos animais, dieta, condições de alojamento, depilação, anestesia, material e técnica para síntese e hemostasia, curativo, data de avaliação da viabilidade e o método utilizado, além de outros. Esta publicação reforçou a necessidade de uma padronização.

A partir destes estudos, os autores referem-se ao retalho com 10 x 3 cm e pedículo caudal como retalho cutâneo dorsal em ratos descrito por McFARLANE e modificado por KHOURI. São descritos alguns exemplos abaixo.

ANGEL et al. (1986) utilizaram-no para estudar a importância do leito do retalho na sobrevivência da porção distal isquêmica. Demonstraram, por meio da fluoresceína, que a viabilidade da região distal era, neste retalho, menor do que seria se esta região fosse tratada como enxerto.

Em outro trabalho, ANGEL et al. (1988) apresentaram hipótese que explicaria os resultados obtidos no estudo anterior. Referem que um enxerto de pele representa um estado de completa isquemia e que a porção distal de um retalho apresenta uma perfusão marginal, que seria responsável pela produção de radicais livres, promotores da morte tecidual.

HAMMOND et al. (1993) estudando a porção distal isquêmica do retalho demonstraram que, após dez dias, parte desta poderia sobreviver como um enxerto, retirando a nutrição do leito; discutem se este fato não alteraria os resultados obtidos nos experimentos. Referem que, quando for imperioso evitar este fenômeno, será necessário isolar o retalho de seu leito, e propõem maneiras de realizá-lo.

HAYDEN e SNYDER (1993) relataram que a capacidade da pentoxifilina em diminuir a porcentagem de necrose distal de retalhos é controversa na literatura, sendo os trabalhos já publicados incapazes de ser comparados, devido à variada metodologia. Utilizando o retalho cutâneo dorsal em ratos, descrito por McFARLANE, DeYONG e HENRY (1965) e modificado por KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986), os autores não encontraram diferença significativa na viabilidade da porção distal, após sete dias.

SCHWEIZER et al. (1995) encontraram menor necrose distal, após sete dias, em animais jovens, comparados com animais velhos (idades de 180, 360 e 720 dias). Discutem as causas deste achado e referem que não se alterariam os resultados obtidos em experimentos, visto que, quando bem planejados, os animais tanto do grupo experimento como do controle apresentam a mesma média de idade, geralmente adultos jovens de 180 dias.

DAVIS et al. (1995) estudaram a influência da analgesia pós-operatória na viabilidade do retalho. Avaliando a necrose distal após catorze dias, não encontraram diferença significativa entre o grupo experimento no qual havia sido aplicado Ketorolac[®], um analgésico intramuscular, em diferentes dosagens, e o grupo controle, ao qual não fizeram analgesia pós-operatória.

MOST et al. (1996) avaliaram o papel das citocinas na isquemia e necrose da porção distal do retalho até 48 horas. Encontraram um pico de citocinas na base do retalho após 8 horas de sua confecção, sendo que sua porção distal ainda não demonstrava sinais de isquemia. Este pico se manteve até 16 horas, decaindo após. Com 16 horas a isquemia distal já era evidente. Discutiram se o pico de citocinas poderia ser um marcador precoce da necrose dos retalhos.

AKER et al. (1997), em animais submetidos à ação da nicotina, que foi injetada no subcutâneo durante 24 semanas, estudaram se a pentoxifilina alteraria a viabilidade do retalho avaliada após 7 dias. Observaram que a nicotina diminuía a viabilidade do retalho (59%), comparada com o controle, que não utilizou nicotina (73%). A administração de pentoxifilina, concomitante à nicotina, durante 30 dias de pré-operatório e 7 dias no pós-operatório, aumentou a viabilidade do retalho (80%). A suspensão da nicotina 2 semanas antes da realização do retalho, tendo sido utilizada nas 22 semanas anteriores, levou a viabilidade semelhante a do controle (73%).

BEKERECIOGLU, TERCAN e OZYAZGAN (1998) avaliaram os efeitos de substâncias antioxidantes, protetoras dos efeitos dos radicais livres, na viabilidade de retalhos. Utilizaram-se de vitamina E, vitamina C, Deferoxamine e extrato de Ginko biloba. Na avaliação dez dias após a realização dos retalhos, encontraram no grupo que foi tratado com o extrato de Ginko biloba o melhor efeito de diminuição da necrose distal.

2.2 CONTRAÇÃO DO COLÁGENO

O efeito de encurtamento da fibra colágena com o aquecimento, que precede imediatamente a sua desnaturação como proteína, já foi citado e estudado por vários autores, mas é fenômeno ainda não totalmente compreendido.

O primeiro autor a descrever a contração do colágeno devida ao seu aquecimento foi LENNOX em 1949, que referiu, em pele de ovelha, encurtamento do colágeno entre 63 e 67°C (LENNOX, citado por KIRSCH et al.).

GROSS (1964) descreveu que, em tendão intacto de rato, o encurtamento do colágeno apresentava-se entre 54 e 59°C e a desnaturação a partir de 59°C, sendo que essas mesmas fibrilas de colágeno, em soluções de concentrações variadas, encurtavam entre 45 e 56°C e se desnaturavam a partir de 52°C. O autor atribuiu essa maior estabilidade do colágeno no tecido intacto à presença de fortes pontes intermoleculares entre as fibrilas que aumentariam a estabilidade individual da molécula.

STRINGER e PARR (1964) observaram que, em olhos humanos normais, o encurtamento do colágeno da esclera apresentava-se entre 61 e 63°C e o encurtamento de colágeno da córnea entre 55 e 59°C, e que esses valores não se alteravam com o envelhecimento. Os autores atribuíram essas diferentes estabilidades térmicas do colágeno em tecidos humanos a particularidades no colágeno do qual são constituídos.

GELMAN et al. (1976) propuseram que o conteúdo dos aminoácidos prolina e hidroxiprolina seriam os responsáveis pela estabilidade térmica do colágeno. Concluíram que o tipo de colágeno e a sua proporção na constituição do tecidos seriam os determinantes da temperatura de encurtamento térmico de cada tecido. Esta contração seria devida à ruptura térmica parcial da molécula, mantendo-se a estrutura terciária em tripla- α -hélice, induzindo a uma fase de transição com contração da fibra colágena no sentido do comprimento.

Na década de 80, com o desenvolvimento da tecnologia, iniciaram-se estudos da radiação laser como fonte de fornecimento de energia e, conseqüentemente, de aquecimento aos tecidos e seus efeitos sobre as fibras colágenas.

SCHOBBER et al. (1986) relataram que, em artérias carótidas de ratos irradiadas com laser de Nd:YAG, na área que sofrera contração tecidual, observaram, por meio de microscopia eletrônica, certo aumento do diâmetro das fibrilas colágenas e diminuição de sua periodicidade (regularidade característica entre as bandas). Essas fibrilas alteradas podiam ser reconhecidas individualmente, mas estavam menos separadas entre si que as normais e havia nelas interdigitações.

ZWEIG et al. (1990), estudando pele murina irradiada com laser de CO₂, examinaram o dano térmico residual sob microscopia eletrônica e óptica de luz polarizada. Identificaram duas zonas de colágeno alterado: uma zona de coagulação, na qual as fibras colágenas se mostravam espessadas e destituídas de periodicidade e birrefringência (difração de planos sob luz polarizada), caracterizando colágeno desnaturado; e uma zona de transição, na qual fibras colágenas normais estavam misturadas com fibras colágenas alteradas, que apresentavam aumento de diâmetro, periodicidade parcialmente reconhecível e diminuição da birrefringência.

BASS et al. (1992), estudando alterações estruturais do colágeno, aplicaram energia de um laser de diodo de 808 nm sobre tendão da cauda de ratos; após a extração do colágeno da área que sofreu contração, concluíram que estas eram devidas a ligações não-covalentes entre as fibrilas parcialmente desnaturadas, que são ligações químicas criadas por picos de temperatura máxima e tempo de exposição controlados.

TANG et al. (1997), em fibras de colágeno de aorta de rato irradiadas com laser diodo, observaram, por meio de microscopia eletrônica e óptica de luz polarizada, três grupos de morfologias: um grupo normal em diâmetro, periodicidade e birrefringência; um grupo com alterações intermediárias (aumento do diâmetro, com periodicidade normal, mas redução da birrefringência) e um grupo de desnaturação completa (perda total de estrutura fibrilar reconhecível, periodicidade e birrefringência).

KIRSCH et al. (1998), estudando pele facial humana e tendão de calcâneo bovino, nos quais utilizaram laser de CO₂ ultrapulsado, demonstraram, na área de dano térmico residual, que a zona de transição, visibilizada sob microscopia eletrônica e óptica de luz polarizada, podia também ser identificada sob microscopia óptica comum (aumento de eosinofilia, com fibras colágenas engrossadas, mas ainda identificáveis, com o núcleo dos fibroblastos mostrando hipercromasia e picnose), com limites pouco definidos, apresentando uma transição gradual para a zona de coagulação acima e para a zona de colágeno normal abaixo.

SECKEL, YOUNAI e WANG (1998) estudaram a contração cutânea após a aplicação de laser de CO₂ ultrapulsado em pele de cobaio (4 grupos de 3 animais, avaliados no dia 01, 28, 56 e 84). Utilizaram-se de planimetria cutânea, microscopia óptica e eletrônica e tensiometria. Tatuaram 2 figuras de 20 x 20 mm na pele dorsal de cada animal, sendo uma figura controle e outra experimento. As figuras experimento receberam três aplicações de laser com fluência de 5 J/cm². Após as aplicações, as figuras experimento estavam 33,5% menores que as controle (p<0,05) e após 84 dias mantinham-se 29,2% menores (p<0,05). A microscopia eletrônica mostrou encurtamento imediato das fibras de colágeno de 7,45% em relação ao controle (p<0,05), sendo de 6,83% no dia 84 (p<0,05). As figuras experimento mostraram conteúdo maior de colágeno, com pico de deposição no dia 56, o qual se apresentava mais compacto que o controle. Na avaliação tensiométrica, as figuras experimento mostraram no dia 28 uma carga de ruptura maior e não significativa que as figuras controle, no dia 56 uma carga de ruptura maior e significativa (p<0,05) e no dia 84 mostraram-se praticamente iguais.

AUERSVALD (1999) aplicou laser de CO₂ ultrapulsado em pele dorsal de oito ratos da linhagem Wistar, nos quais estudou o dano de ablação e o dano térmico residual. Os animais receberam 2 aplicações de laser regulado com gerador de padrões computadorizado, potência de 300 mJ, energia de 60 W e fluência de 7,5 J/cm². Descreveu modelo morfométrico para medir ablação tecidual e dano térmico residual que foram respectivamente de 178,50 µm e de 100,68 µm.

ROSS et al. (1999) realizaram de 2 a 4 aplicações de laser de CO₂ ultrapulsado regulado com gerador de padrões computadorizado, potência de 300 mJ e fluência de 7,5 J/cm², em pele do flanco de porcos, com o objetivo de avaliarem o dano de ablação, o dano térmico residual e a cicatrização dos tecidos. Concluíram que, comparando 2, 3 e 4 aplicações, havia aumento importante da ablação tecidual (20, 30 e 50 µm, respectivamente), com aumento discreto do dano térmico residual (134, 150 e 158 µm), dividido em zona de coagulação na porção superior (118, 132 e 135 µm) e zona de transição na inferior (16, 18 e 23 µm). A zona de fibroplasia aumentou conforme o aumento do número de aplicações, tanto no dia 21 (172, 191 e 225 µm), quanto no dia 42 (195, 218 e 245 µm).

SINGER e CLARK (1999) publicaram extenso artigo de revisão sobre cicatrização cutânea, discutindo-a de maneira atual e objetiva. Confirmaram a reconstituição da matriz dermal por meio da ação de um número aumentado de fibroblastos, sintetizando e depositando quase exclusivamente fibras colágenas, em detrimento das fibras elásticas. Na fase de remodelação tecidual, observaram um número menor de fibroblastos, promovendo-se reabsorção e remodelação do colágeno, após seu pico de deposição em torno do segundo mês do processo cicatricial.

RODRIGUES (2000) avaliou a contração tecidual e a deposição de colágeno após a aplicação de laser de CO₂ ultrapulsado na pele de 35 ratos Wistar (7 grupos de 5 animais, avaliados no dia 01, 07, 14, 28, 56, 84 e 112). Tatuou 2 figuras de 22 x 22 mm no dorso de cada animal, denominadas controle e experimento. As figuras experimento receberam 3 aplicações de laser na regulagem proposta por AUERSVALD (1999). No dia 01, a planimetria digital demonstrou que as figuras experimento estavam-se 49,71% menores que as controle (p<0,0001) e após 112 dias mantinham-se 62,95% menores (p=0,0339). O estudo histológico demonstrou no dia 01 ablação tecidual de 154,80 µm e dano térmico residual de 235,89 µm (dividido em zona de coagulação de 145,23 µm e zona de transição de 67,59 µm). A soma da ablação tecidual e do dano térmico residual foi de 390,69 µm para uma espessura total da pele de 932,59 µm. Observou-se presença

de zona de fibroplasia na derme da figura experimento, ausente em fibras elásticas, que apresentava espessura de 214,84 μm dia 14, 260,79 μm dia 28, 378,40 μm dia 56, 330,59 μm dia 84 e 192,76 μm no dia 112. A tensiometria demonstrou que em relação à carga de ruptura média da figura controle de 7,34 Kgf, as figuras experimento apresentaram 3,76 Kgf no dia 14, 8,12 Kgf no dia 28, 10,98 Kgf no dia 56, 9,14 Kgf no dia 84 e 8,21 Kgf no dia 112. Em relação ao alongamento de ruptura médio da figura controle de 50,88%, as figuras experimento apresentaram 22,78% no dia 14, 26,64% no dia 28, 29,08% no dia 56, 27,20% no dia 84 e 24,23% no dia 112.

GRAF (2000) utilizou a metodologia proposta por RODRIGUES (2000) com outro laser, o Er:YAG. O estudo histológico demonstrou no dia 01 dano de ablação de 215,24 μm e dano térmico residual de 41,45 μm . A fibroplasia cicatricial já estava presente no dia 7 com 55,58 μm , aumentando até o dia 28 para 209,49 μm , quando atingiu um platô e se manteve até o dia 112. A planimetria digital mostrou que após as três passadas do laser a figura se contraiu 37,76% ($p < 0,05$) e que após 112 dias estava 48% menor ($p < 0,05$) que as figuras controle. Na tensiometria, a carga de ruptura da figura experimento encontrava-se elevada a partir do dia 56 com 9,27 Kgf, apresentando o controle 7,33 Kgf e o alongamento de ruptura manteve-se diminuído durante todo o experimento com média de 27,01%, apresentando o controle média de 50,17%.

3 MATERIAL E MÉTODO

O estudo foi realizado no Instituto de Pesquisas Médicas, IPEM, pertencente à Pós-graduação em Princípios de Cirurgia da Faculdade Evangélica do Paraná, FEPAR. Neste local os animais foram mantidos durante o período pré e pós-operatório e foram coletados os dados para planimetria digital e as peças para histologia, morfometria digital e tensiometria.

Os animais foram transportados para o Centro Paranaense de Oftalmologia, CPO, onde foi instalado o aparelho de laser CO₂ ultrapulsado para a realização do procedimento cirúrgico, após o qual retornaram ao local de origem.

Também foram utilizados o laboratório de patologia experimental da Pontifícia Universidade Católica, PUC do Paraná, onde foram realizados os estudos de histologia e morfometria digital e o laboratório de química e petroquímica do Instituto de Tecnologia do Paraná, TECPAR, onde foram feitos os estudos de tensiometria.

Neste trabalho, foram seguidas as Normas para a Apresentação de Documentos Científicos da Universidade Federal do Paraná, UFPR (2000); foi utilizada a *Nomina Anatomica Veterinaria* (1983) e foram obedecidos os princípios éticos em experimentação animal, preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, COBEA, instituição filiada ao *International Council for Laboratory Animal Science*.

3.1 AMOSTRA

Foram utilizados 50 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), da linhagem Wistar-Tecpar, machos, adultos, entre 110 e 130 dias de vida, com peso variando entre 250 e 300 gramas no início do experimento, separados aleatoriamente em 2 grupos de 25 animais, sendo um grupo controle e o outro experimento.

Os 25 animais do grupo controle (C) e os 25 do grupo experimento (E) foram separados em 5 subgrupos (SG) de 5 animais.

3.2 ALOJAMENTO

Os animais foram alojados no biotério do IPEM em caixas plásticas padrão, habitada cada uma por um subgrupo, mantidos em temperatura e umidade naturais do ambiente, com livre acesso a água potável e a ração de origem industrial, em ciclo circadiano claro/escuro normal e jejum de 12 horas anterior às anestésias.

3.3 ANESTESIA

Os animais receberam anestesia inalatória, com ventilação espontânea.

Cada animal foi colocado em campânula de vidro, que continha algodão embebido em éter etílico a 97%, na qual permaneceu em sistema fechado pelo tempo médio de cinco minutos, até a obtenção de plano anestésico. Foi considerado o animal anestesiado, quando este se apresentava imóvel e havia a perda do reflexo corneano, mas ainda com frequência e amplitude respiratórias normais.

Manteve-se o plano anestésico com sistema aberto.

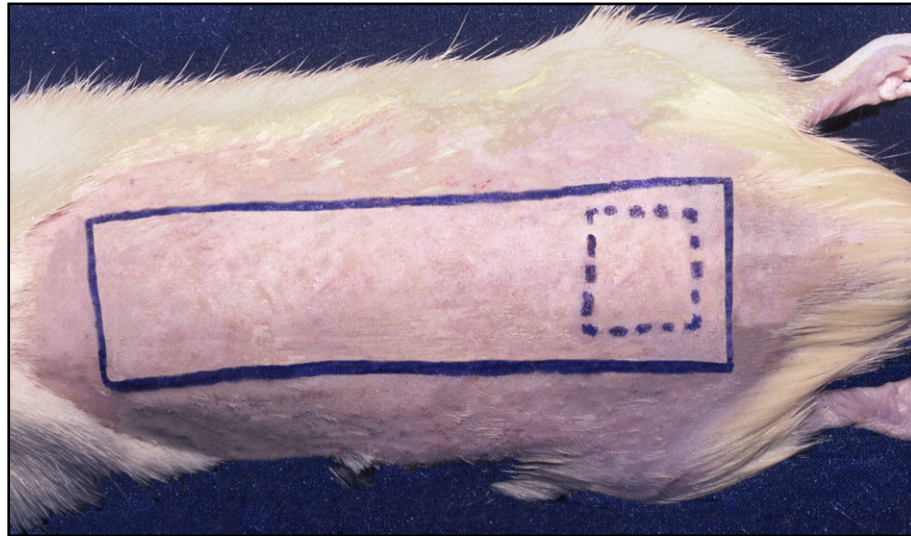
3.4 PROCEDIMENTO PRÉ-OPERATÓRIO

Um dia antes do procedimento cirúrgico, após anestesia, cada animal foi posicionado em decúbito ventral e realizada a tricotomia com lâmina de aço inoxidável de toda a região dorsal com auxílio de sabão neutro líquido. Após a limpeza local com água corrente e secagem com tecido de algodão, foi desenhado com caneta de tinta solúvel em álcool um retalho cutâneo padronizado.

Este retalho, descrito por McFARLANE, DeYONG e HENRY (1965), foi modificado por KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) e é constituído por pele e tela subcutânea, medindo 10 x 3 cm. Segundo a padronização, deve estar centralizado sobre a coluna vertebral, com sua base caudal não ultrapassando a borda inferior das cristas ilíacas e sua ponta cranial a borda superior das escápulas.

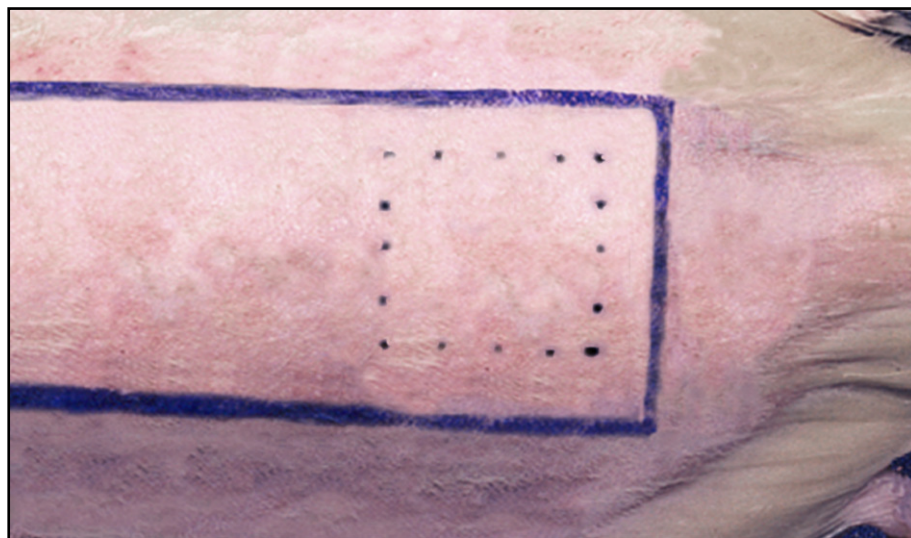
Após a demarcação do retalho foi também desenhada, com carimbo confeccionado para esse fim, uma figura de 2,2 x 2,2 cm dentro dos limites do retalho, 4 mm acima da base caudal, distanciando-se 4 mm de suas bordas laterais (fotografia 1).

FOTOGRAFIA 1 - DORSO DE ANIMAL COM DESENHO DO RETALHO E DA FIGURA



A figura anteriormente carimbada foi tatuada com tinta de natureza atóxica (fotografia 2). Também foram tatuadas linhas transversais (I a IIIII) na cauda de cada rato para identificação do animal dentro de seu subgrupo.

FOTOGRAFIA 2 - DETALHE DA FIGURA NA BASE DO RETALHO APÓS SER TATUADA



3.5 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

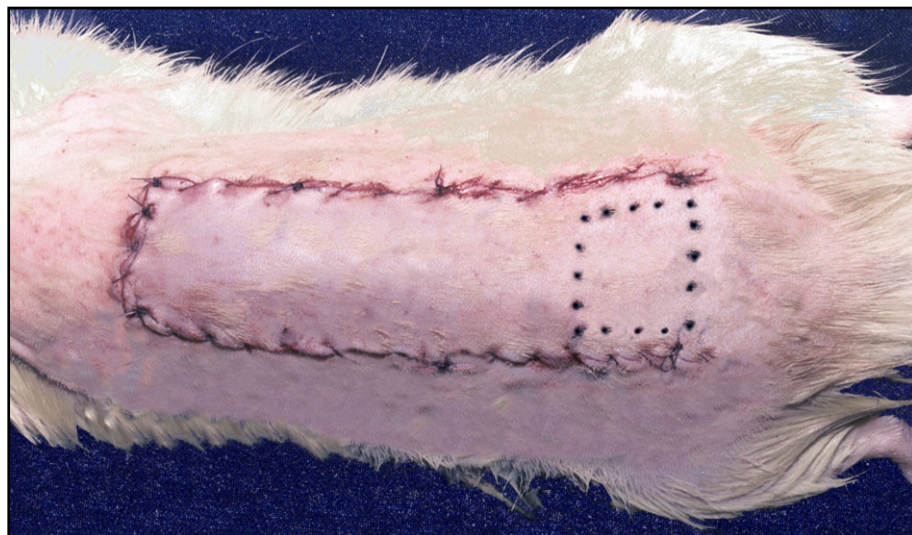
3.5.1 Grupo controle

Após procedimento anestésico, os animais foram posicionados em decúbito ventral e realizada anti-sepsia local com solução aquosa de polivinilpirrolidona-iodo. O retalho anteriormente desenhado foi então incisado com bisturi de lâmina número 15 e elevado da musculatura dorsal, utilizando-se como plano de dissecação a fáscia aponeurótica e realizada hemostasia com eletrocautério monopolar.

Foi tomado cuidado para não se lesarem os dois vasos axiais sacrais que penetram na base do retalho.

Neste grupo, o retalho foi imediatamente recolocado em sua posição original por meio de síntese de chuleio contínuo com fio monofilamentar de poliglecaprone 25 de espessura 4-0 e agulha PS-2. Não foi realizado curativo (fotografia 3).

FOTOGRAFIA 3 - RETALHO APÓS SÍNTESE EM ANIMAL DO GRUPO CONTROLE



3.5.2 Grupo experimento

Foi tomado o cuidado de se utilizar uma sala em separado para a aplicação do laser, na qual foram respeitadas normas de segurança tais como medidas de prevenção de explosões, evitando-se substâncias comburentes (gás oxigênio) ou combustíveis (álcool ou éter) no ambiente e óculos de proteção específicos.

Foi utilizado o aparelho de laser CO₂ ultrapulsado (UltraPulse® 5000 - Coherent Medical Group) com altura de 196 cm, comprimento de 48 cm, profundidade de 84 cm e peso de 160 kg (fotografia 4).

FOTOGRAFIA 4 - APARELHO DE LASER ULTRAPULSE® 5000

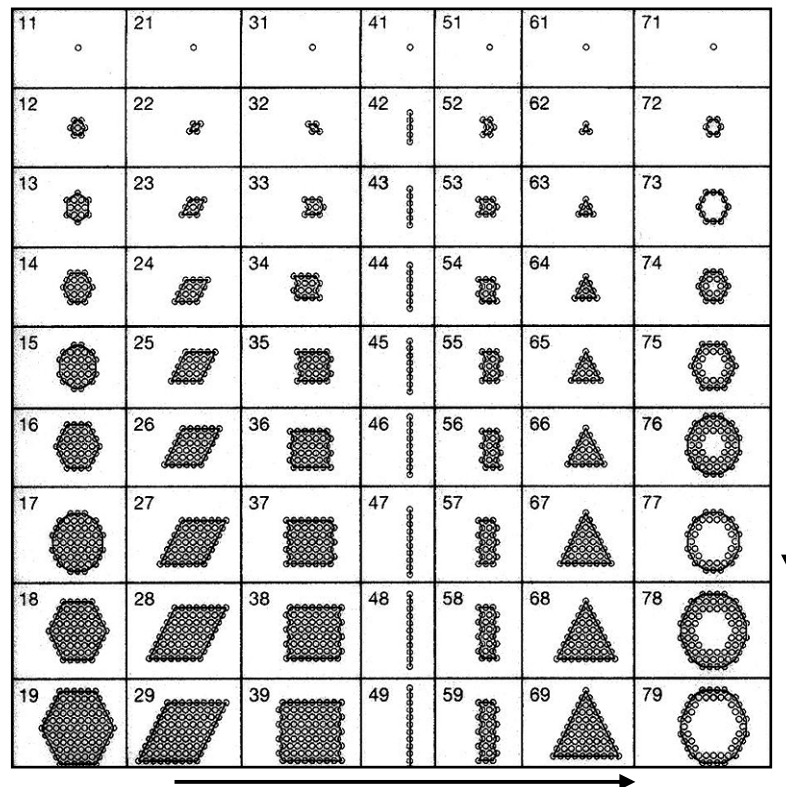


O feixe de laser emitido pelo aparelho apresentava diâmetro circular de 2,25 mm (área de 4 mm²), energia de pulso máxima de 300 milijoules (mJ), potência máxima de 60 watts (W) e frequência de repetição máxima de 200 pulsos por segundo. A duração de pulso variava entre 500 a 800 microsegundos (μ s).

O aparelho era equipado com tela do monitor de vídeo, sensível ao toque, e um gerador de padrões computadorizado (CPG), com a finalidade de dar rapidez e segurança ao procedimento.

O CPG padronizava a área atingida na pele no instante do disparo dos pulsos de laser, com opções por formas como o hexágono (que correspondia na tela do monitor ao número 1), losango (2), quadrado (3), linha (4), retângulo (5), triângulo (6) ou círculo (7). Também era possível a variação do tamanho da forma em mm^2 (1 a 9) como demonstrado na fotografia 5.

FOTOGRAFIA 5 - OPÇÕES DO GERADOR DE PADRÕES COMPUTADORIZADO

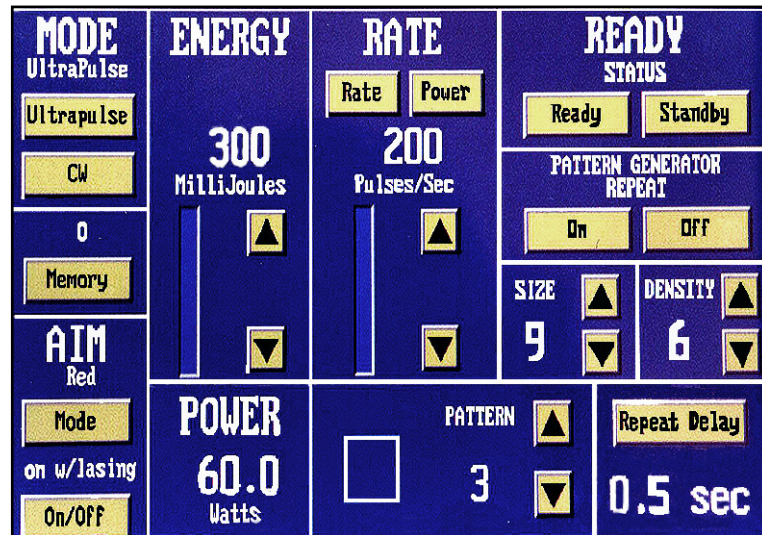


NOTA: Observar padrões de forma na horizontal (→) e de tamanho na vertical (↓).

Este CPG também permitia variar a densidade de energia fornecida ao tecido, por meio de um comando que disponibilizava a separação de pulsos de 10% (1), um comportamento neutro (2) ou a sobreposição de pulsos de 10% (3), 20% (4), 30% (5), 35% (6), 40% (7), 50% (8) até 60% (9).

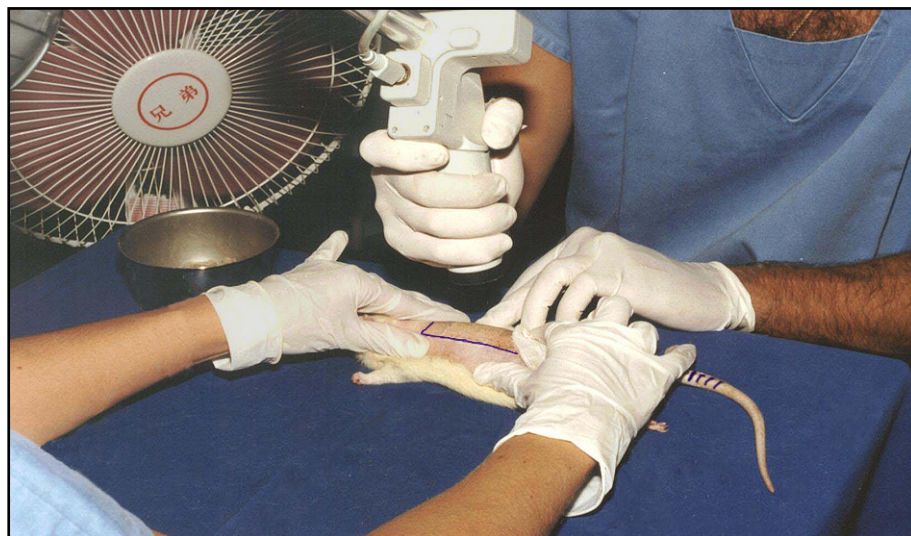
Neste estudo, o aparelho foi programado com os seguintes parâmetros: energia de 300 mJ, potência de 60 W, frequência de 200 pulsos por segundo, CPG ativado com padrão 3, tamanho 9 e densidade 6. Esses parâmetros forneciam fluência de 7,5 J/cm² por aplicação, conforme mostra a fotografia 6.

FOTOGRAFIA 6 - PARÂMETROS PROGRAMADOS NO APARELHO DE LASER



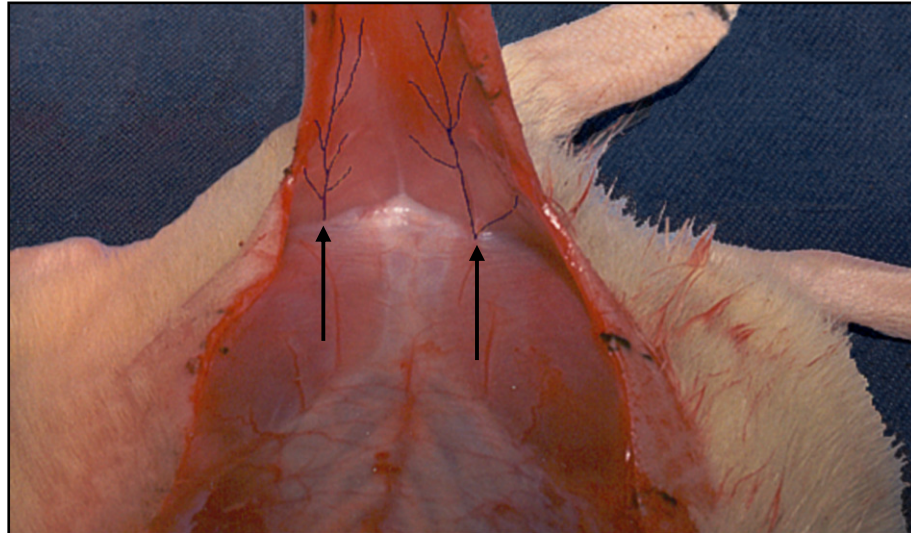
Nos animais previamente anestesiados, a área desenhada correspondente ao retalho recebeu três aplicações de laser (fotografia 7).

FOTOGRAFIA 7 - APLICAÇÃO DO LASER NO DESENHO DO RETALHO EM ANIMAL DO GRUPO EXPERIMENTO



A área correspondente ao retalho, após receber as três aplicação de laser CO₂ ultrapulsado, foi incisada e elevada da musculatura dorsal (fotografia 8).

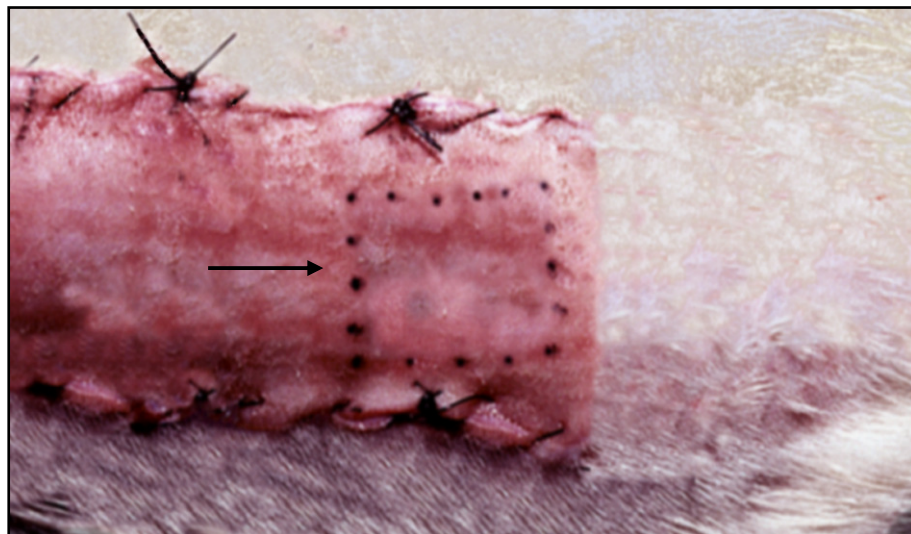
FOTOGRAFIA 8 - DETALHE DO RETALHO ELEVADO APÓS A APLICAÇÃO DO LASER EM ANIMAL DO GRUPO EXPERIMENTO



NOTA: Observar integridade dos vasos que penetram na base do retalho (↑).

Após realizada a hemostasia, o retalho foi recolocado em sua posição original, com o mesmo material e método utilizado no grupo controle (fotografia 9).

FOTOGRAFIA 9 - DETALHE DA FIGURA TATUADA NA BASE DO RETALHO APÓS SÍNTESE EM ANIMAL DO GRUPO EXPERIMENTO



NOTA: Figura tatuada no retalho ainda visível, devido à deposição de pigmento na derme profunda (→).

3.6 PÓS-OPERATÓRIO

Foram mantidas as condições anteriores de alojamento e todos os procedimentos pós-operatórios foram realizados igualmente nos subgrupos do grupo controle e do experimento, exceto a morfometria digital da fibroplasia que se apresentava apenas nos subgrupos do experimento.

Os animais foram submetidos à eutanásia com dose inalatória letal de éter etílico a 97% nos seguintes dias: SG1 no dia 14, SG2 no dia 28, SG3 no dia 56, SG4 no dia 84 e SG5 no dia 112.

3.7 PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO

No grupo controle foram observados vários fatores que podem ou não ocorrer a um procedimento cirúrgico que envolve retalho como: hematoma, deiscência da sutura, infecção, necrose e a presença de tecido de granulação. No grupo experimento, além dos fatores anteriores, também foi observado a cicatrização da superfície da derme exposta causada pelo laser.

Estes dados foram obtidos, sem anestesia, nos seguintes subgrupos diariamente: SG1 a SG5 do dia 01 ao dia 14 e SG2 a SG5 do dia 14 ao dia 28.

3.8 PESAGEM DOS ANIMAIS

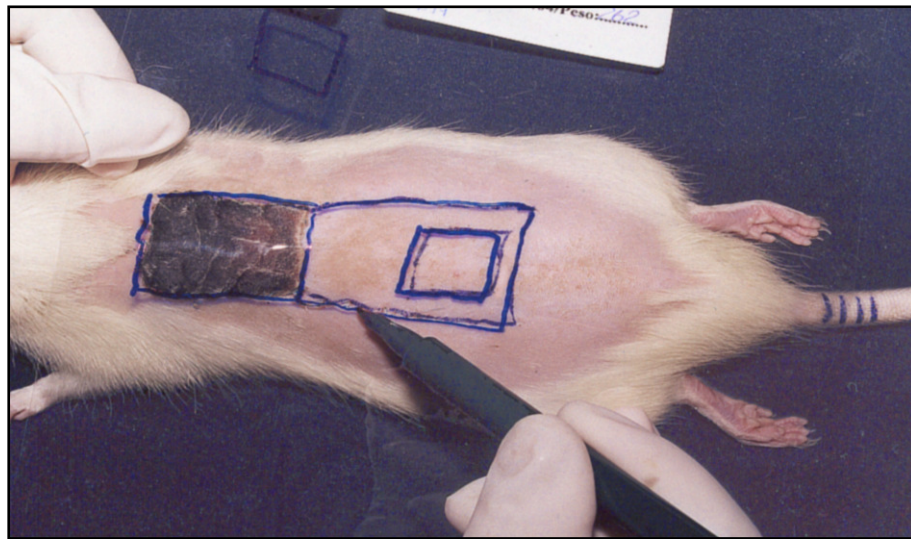
Para a pesagem foi utilizada balança eletrônica. O peso dos animais foi determinado em gramas e também como variação percentual em relação ao peso inicial, para se avaliar indiretamente o seu crescimento.

Estes dados foram obtidos, após anestesia, nos seguintes subgrupos e dias: SG1 a SG5 no dia 01 e no dia 14, SG2 a SG5 no dia 28, SG3 a SG5 no dia 56, SG4 e SG5 no dia 84 e SG5 no dia 112.

3.9 PLANIMETRIA DIGITAL

As áreas do retalho e da figura tatuada foram copiadas, de cada animal, utilizando-se da aposição de filme transparente e de caneta de tinta solúvel em álcool, conforme demonstrado na fotografia 10.

FOTOGRAFIA 10 - CÓPIA DE ÁREAS POR APOSIÇÃO PARA PLANIMETRIA DIGITAL

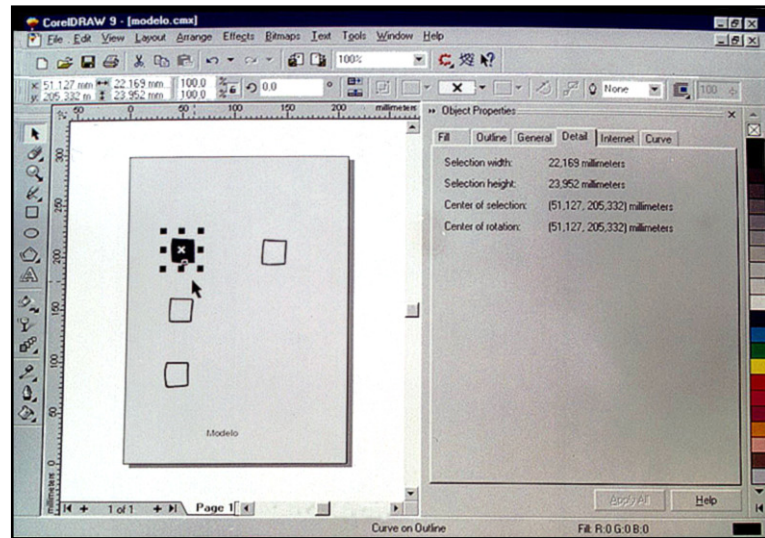


As formas obtidas por cópia foram digitalizadas por *scanner* de mesa, com resolução óptica de 100 dpi, e enviadas a um microcomputador Pentium[®], onde foram analisadas por meio do programa de computador Corel DRAW 9[®] e seus aplicativos, Corel PHOTO-PAINT[®] e Corel TRACE 9[®], na seguinte seqüência:

1. após a digitalização de cada folha do filme transparente como uma única imagem, foi utilizado o aplicativo Corel PHOTO-PAINT[®] para se eliminarem objetos indesejados, como identificações e imperfeições;
2. após a limpeza da imagem, esta foi convertida de colorida para preto e branco e de bpm para vetor pelo aplicativo Corel TRACE 9[®];

3. a imagem convertida foi enviada para o programa Corel DRAW 9[®], que desagrupou a imagem em objetos individuais e obteve as propriedades dos objetos, entre elas, as medidas da largura média e do comprimento médio (fotografia 11);

FOTOGRAFIA 11 - OBTENÇÃO DE LARGURA E COMPRIMENTO MÉDIOS PELO PROGRAMA COREL DRAW 9[®]



4. essas medidas foram enviadas para o aplicativo Excel 97[®] que, por meio da multiplicação da largura média e do comprimento médio, obteve a medida da área em cm^2 (fotografia 12).

FOTOGRAFIA 12 - OBTENÇÃO DE ÁREA EM CM^2 PELO APLICATIVO EXEL 97[®]

The screenshot shows a Microsoft Excel spreadsheet with the following data:

	A	B	C	D	E	F	G
1	RETALHO LASER CO2 GRUPO1						
2		A1	A2	A3	A4	A5	
3	MORTO	3,3020	2,9286	3,8430	2,9235	3,2182	
4		1,9304	0,9474	2,1895	1,1963	1,5748	
5		6,3742	2,7746	8,4142	3,4974	5,0680	
6	TOTAL	8,5969	7,9832	9,0706	8,5691	8,7827	
7		2,4943	2,5241	2,8938	2,3238	2,4663	
8		21,4432	20,1504	26,2485	19,9129	21,6608	
9	D00	1,5131	1,6333	1,688	1,8459	1,7272	
10		1,5823	1,5321	1,4326	1,6177	1,5579	
11		2,3942	2,5024	2,4182	2,9861	2,6908	
12	D14	1,6874	1,6112	1,7203	1,6764	1,7852	
13		1,5702	1,7132	1,5164	1,5900	1,4856	
14		2,6496	2,7603	2,6087	2,6655	2,6521	

3.9.1 Avaliação da área do retalho cutâneo

Foi determinada a área total do retalho e sua divisão em área de viabilidade proximal e de necrose distal, todas em cm^2 .

Em cada animal foram também avaliadas a área viável e a de necrose, percentualmente, em relação à área total de seu retalho, que correspondeu a 100%, neutralizando assim distorções de resultados que poderiam ocorrer devido à contração dos retalhos do grupo experimento após a aplicação do laser.

Foram obtidos os dados, após anestesia, do SG1 ao SG5 no dia 14.

3.9.2 Avaliação da área da figura tatuada

A área da figura tatuada foi medida em cm^2 .

Foi a área também calculada como variação percentual em relação à figura inicial, para que fosse possível quantificar alterações devidas ao crescimento dos animais, quando os dados obtidos fossem comparados com a variação percentual do peso.

Os dados foram coletados, após anestesia, nos seguintes subgrupos e dias: SG1 a SG5 no dia 01 e no dia 14, SG2 a SG5 no dia 28, SG3 a SG5 no dia 56, SG4 e SG5 no dia 84 e SG5 no dia 112.

3.10 ESTUDO HISTOLÓGICO

Para o estudo histológico e de morfometria digital foi ressecado de cada retalho um fragmento de forma retangular, medindo 20 x 5 mm, que foi colocado com a face dérmica sobre tira de papel de filtro, para evitar alterações de formato, sendo então fixado em 20 ml de formol a 10%.

Após 72 horas de fixação, o material foi retirado do formol a 10%, examinado macroscopicamente e, quando necessário, foi seccionado para a regularização. Todos os fragmentos foram colocados em cápsulas para a histotécnica e levados ao autotécnico, onde sofreram desidratação em álcool 70%, 80% e 90% e posteriormente diafanização em xilol e inclusão em parafina.

Para cada bloco de parafina foram preparadas três lâminas, conforme técnicas descritas em BANCROFT e STEVENS (1982). A primeira lâmina foi corada pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE), para a verificação do processo de cicatrização e de fibroplasia cutânea, a segunda pela técnica de Weigert, para as fibras elásticas e a terceira pela técnica Tricrômico de Mallory (TM), para as fibras colágenas.

As leituras histológicas foram obtidas do SG1 no dia 14, do SG2 no dia 28, do SG3 no dia 56, do SG4 no dia 84 e do SG5 no dia 112.

3.11 MORFOMETRIA DIGITAL

Para se realizar o estudo morfométrico, foi utilizado equipamento composto de microscópio binocular American Optical[®] modelo BX50, ocular de 10 aumentos (X) e objetivas de 4, 10, 20 e 40X, acoplado à vídeo-câmera CCD 101 Sony[®], que enviou imagens a um microcomputador Pentium[®], que as digitalizou e congelou para serem analisadas pelo programa Opymas[®] 6.2 (fotografia 13).

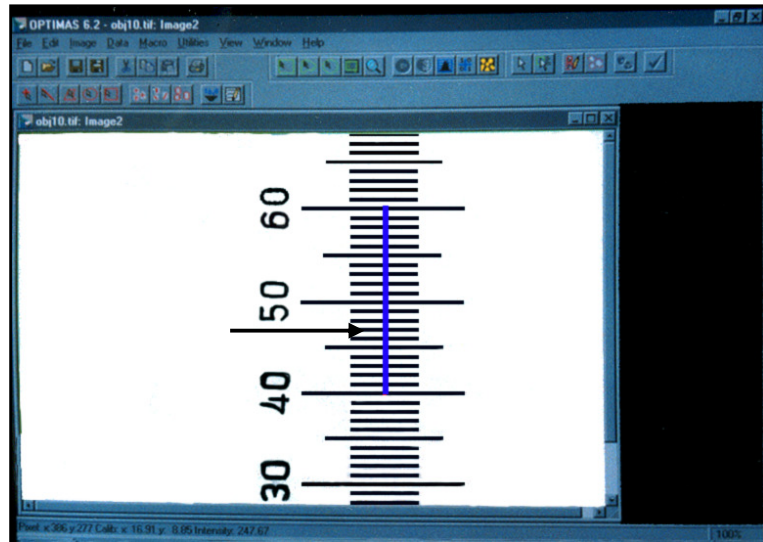
FOTOGRAFIA 13 - EQUIPAMENTO DE ANÁLISE DIGITAL DE IMAGENS



Foi medida a fibroplasia, que é a deposição de colágeno que ocorre no processo de cicatrização após a aplicação do laser na superfície da pele. Foi obtida do SG1 no dia 14, SG2 no dia 28, SG3 no dia 56, SG4 no dia 84 e do SG5 no dia 112.

Para medir a espessura da fibroplasia em lâminas coradas por HE, foi calibrado o programa Opymas[®] 6.2 em micrômetros para a objetiva de 10X, que, associada a ocular de 10X, proporcionou aumento total de 100X (fotografia 14).

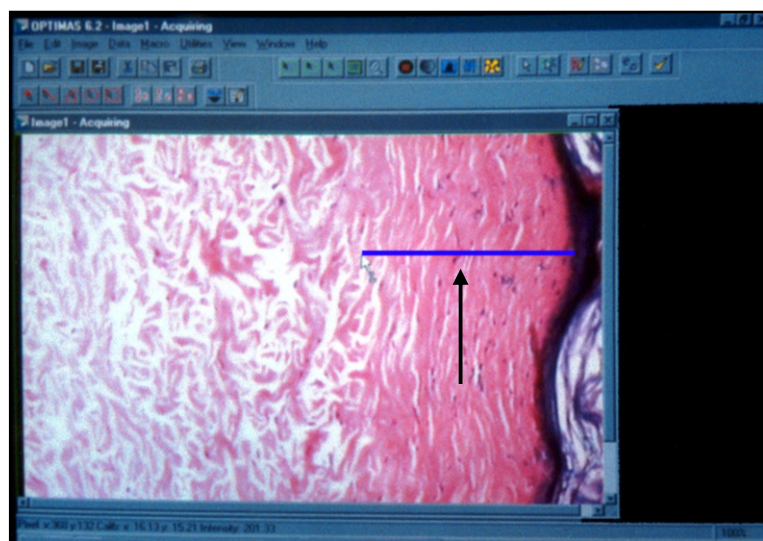
FOTOGRAFIA 14 - CALIBRAGEM DO PROGRAMA OPYMAS[®] 6.2 PARA AUMENTO DE 100X



NOTA: Em imagem arquivada obtida em aumento de 100X, foi determinada a equivalência para calibragem (→).

Foram realizadas 20 medidas para cada lâmina, 5 por campo, e foram excluídos os campos em que se encontraram artefatos técnicos (fotografia 15).

FOTOGRAFIA 15 - DETERMINAÇÃO DE ESPESSURA DA FIBROPLASIA PARA MEDIÇÃO



NOTA: A espessura da fibroplasia deve ser determinada pelo pesquisador (↑) para medição.

3.12 ESTUDO TENSIOMÉTRICO

Para a realização da tensiometria, foi utilizada Máquina Universal de Ensaios[®] (Alfred J. Amsler S., Co.), regulada para testar até 20 kgf e com velocidade de alongamento de 52 mm por minuto. Os ensaios foram realizados nos seguintes subgrupos e dias: SG1 no dia 14, SG2 no dia 28, SG3 no dia 56, SG4 no dia 84 e SG5 no dia 112.

Como descrito para tecidos biológicos por CRAWFORD, BAINS e KETCHAM (1965), foi testada a carga de ruptura que está relacionada com a resistência mecânica e, no caso do tecido cutâneo, com o conteúdo de fibras colágenas, como também o alongamento de ruptura que está relacionado com a elasticidade e, neste caso, com o conteúdo de fibras elásticas.

Foi ressecado de cada retalho um fragmento em forma de borboleta, medindo 45 x 15 mm e com a porção central medindo 15 x 8 mm, que foi imediatamente acondicionado em frasco, contendo 20 ml de soro fisiológico resfriado a 10°C e mantido nestas condições por até três horas, até ser submetido a estudo tensiométrico.

Para os estudos, foi marcada uma área teste de 10 mm de largura no segmento central do fragmento com caneta de tinta solúvel em álcool (fotografia 16).

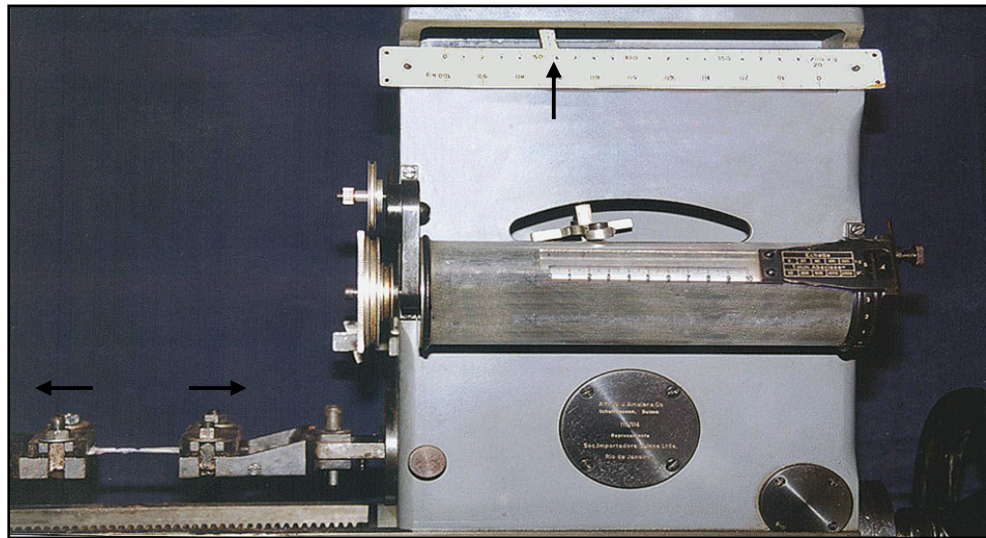
FOTOGRAFIA 16 - SEGMENTO CENTRAL DO FRAGMENTO MARCADO PARA TENSIOMETRIA



3.12.1 Carga de ruptura

Foi considerada a força necessária para o rompimento do segmento central do fragmento, expressa em quilogramas-força (kgf) como demonstra a fotografia 17.

FOTOGRAFIA 17 - DEMONSTRAÇÃO DA CARGA DE RUPTURA NA TENSIOMETRIA



NOTA: Fragmento de retalho montado na máquina e sendo testado(← →) para carga de ruptura (↑).

3.12.2 Alongamento de ruptura

Foi definido como o aumento de comprimento, em milímetros, do segmento central demarcado até o seu rompimento (fotografia 18). O resultado foi expresso em %.

FOTOGRAFIA 18 - DEMONSTRAÇÃO DO ALONGAMENTO DE RUPTURA NA TENSIOMETRIA



NOTA: Fragmento de retalho montado na máquina e sendo testado (← →) para alongamento de ruptura (↓).

3.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram consideradas as variáveis percentual de viabilidade (%), área da figura tatuada (cm²), alongamento de ruptura (%) e carga de ruptura (kgf) em retalho cutâneo dorsal de ratos.

Para a variável percentual de viabilidade foi realizada a comparação entre o retalho do grupo experimento e o retalho do grupo controle. A avaliação foi efetuada no dia 14 em todos os animais vivos.

Para a variável área da figura tatuada procedeu-se à comparação entre o retalho do grupo experimento e o retalho do grupo controle. As avaliações foram efetuadas nos dias 01, 14, 28, 56, 84 e 112 em todos os animais vivos.

Para as variáveis carga de ruptura e alongamento de ruptura foi executada a comparação entre o retalho do grupo experimento e o retalho do grupo controle. As avaliações foram efetuadas nos dias 14, 28, 56, 84 e 112 nos animais sacrificados nestas respectivas datas.

Para esses testes, que envolvem observações independentes, foi adotado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, conforme descrito por SIEGEL (1956). Em todos os testes adotou-se o nível de significância de 5% ou $p \leq 0,05$ para rejeição na hipótese de nulidade.

4 RESULTADOS

4.1 PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO

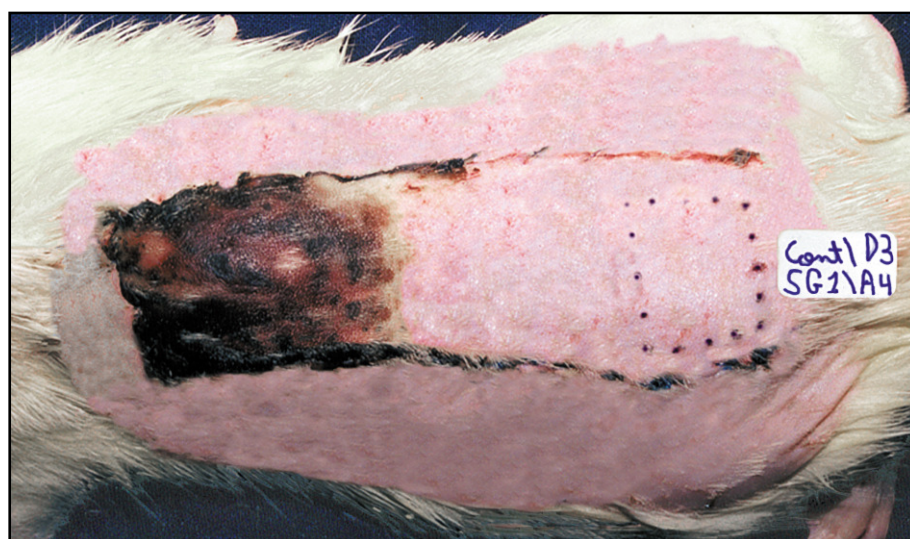
4.1.1 Grupo controle

Nos 25 animais do grupo controle, o retalho apresentava isquemia de sua porção distal no dia 02 (fotografia 19), com necrose parcial no dia 03 (fotografia 20).

FOTOGRAFIA 19 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 02

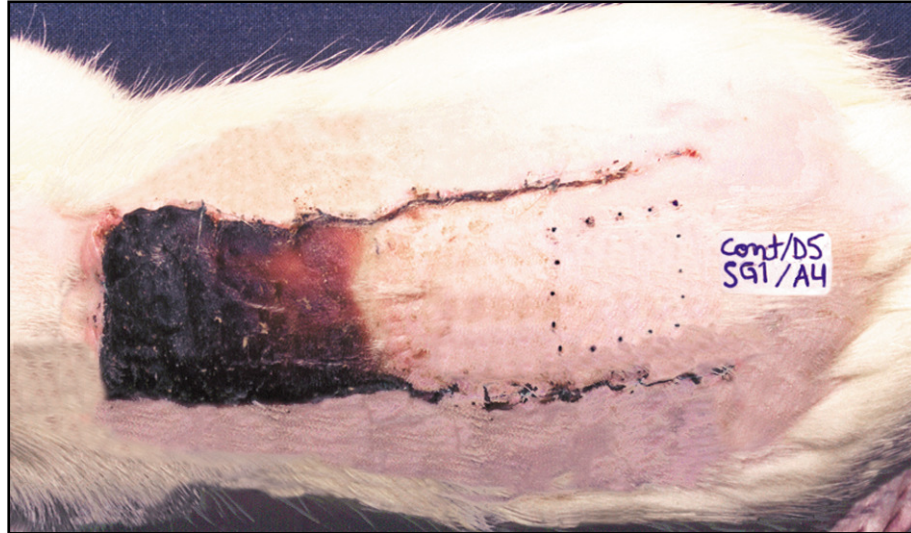


FOTOGRAFIA 20 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 03



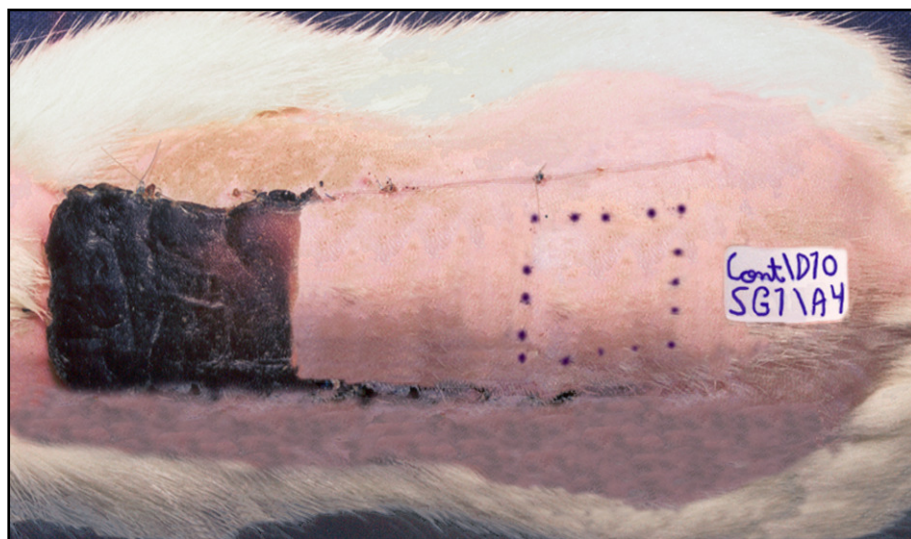
Até o dia 05, a necrose distal estava definida em todos os animais, mas a linha de transição com o retalho vivo ainda era incerta (fotografia 21).

FOTOGRAFIA 21 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 05



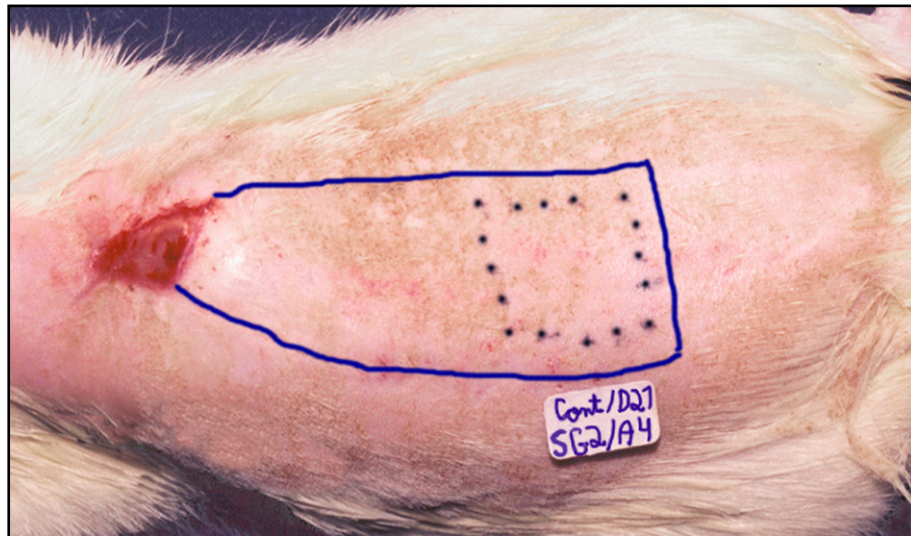
No dia 10, a transição entre o retalho que sobreviveu com a porção distal necrótica era bastante nítida em todos os 25 animais (fotografia 22).

FOTOGRAFIA 22 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 10



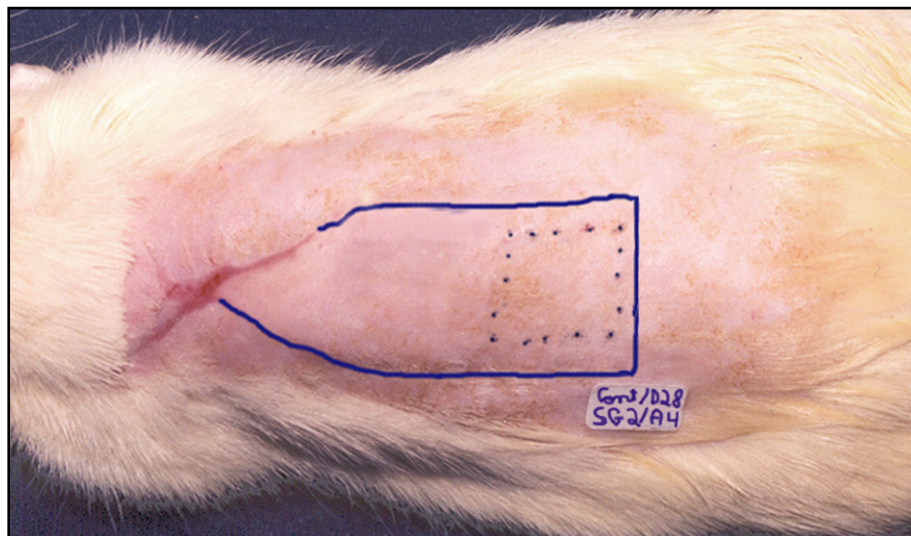
No dia 14, dos 25 animais, 03 animais apresentaram destacamento da necrose distal, sendo que, no dia 21, nenhum animal portava a referida necrose, apresentando em seu lugar tecido de granulação de áreas variáveis (fotografia 23).

FOTOGRAFIA 23 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 2 (C) NO DIA 21



No dia 28, a epitelação era completa em 16 animais (fotografia 24), sendo que em 4 podiam-se notar ainda pequenas áreas de tecido de granulação. Não se observou hematoma, infecção ou deiscência de sutura em nenhum animal.

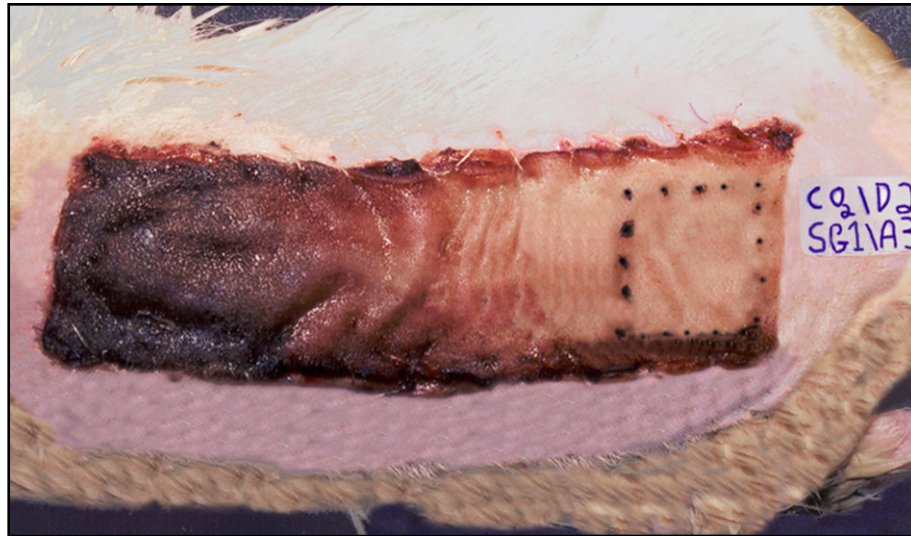
FOTOGRAFIA 24 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUGGRUPO 2 (C) NO DIA 28



4.1.2 Grupo experimento

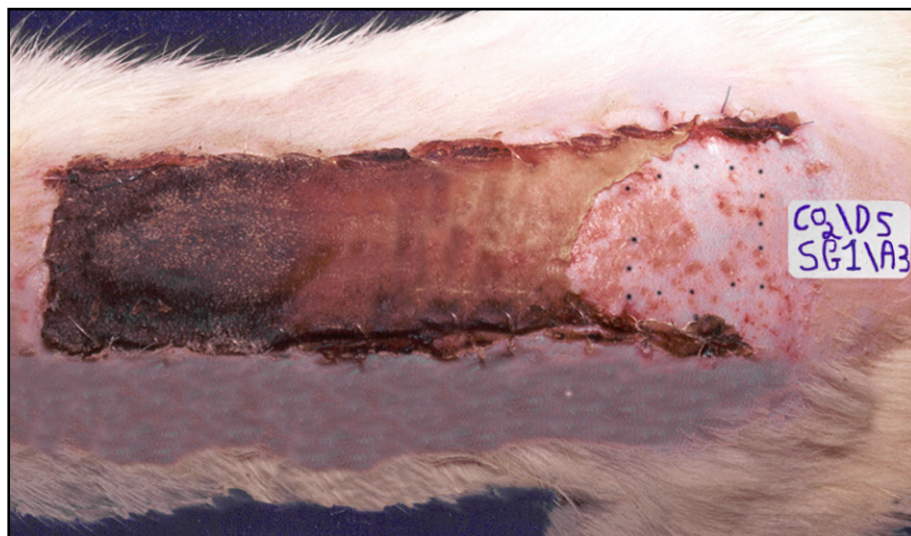
Logo após a aplicação do laser no dia 01, os retalhos do grupo experimento apresentaram exsudação plasmática, com formação de crosta no dia 02 em todos os 25 animais (fotografia 25).

FOTOGRAFIA 25 - RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 1 (E) NO DIA 02



No dia 05, a crosta começou a se destacar espontaneamente da porção proximal do retalho de 9 dos 25 animais (fotografia 26).

FOTOGRAFIA 26 - RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 1 (E) NO DIA 05



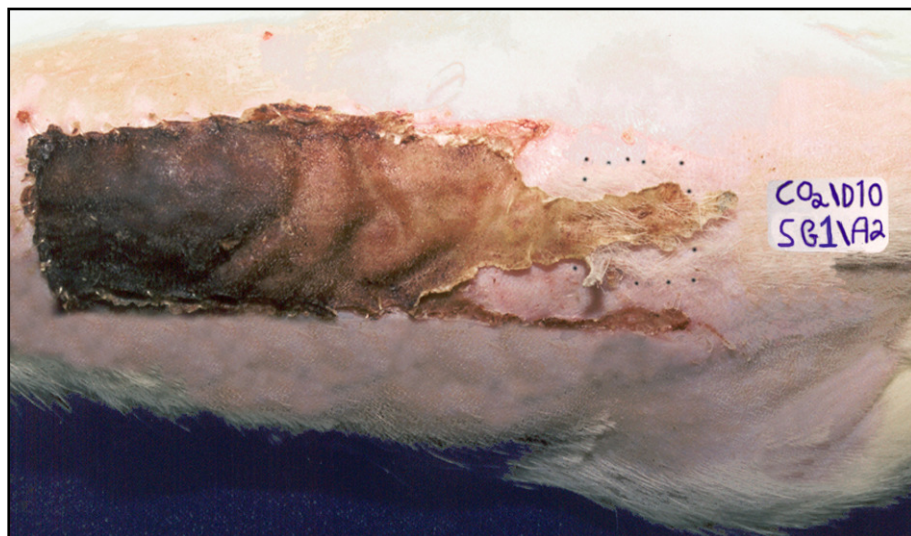
No dia 10, a crosta sobre a porção proximal do retalho se destacou espontaneamente em 18 dos 25 animais, mostrando retalho viável, mas a linha de transição com a área de necrose distal ainda era incerta (fotografia 27).

FOTOGRAFIA 27 - RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 1 (E) NO DIA 10



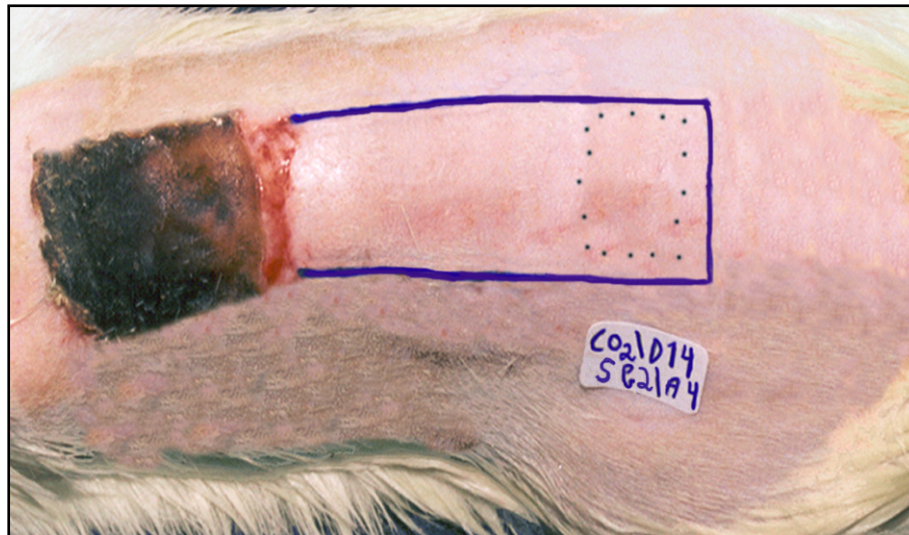
E em 07 dos 25 animais no dia 10, a crosta proximal firmemente aderida impossibilitava qualquer tipo de avaliação (fotografia 28).

FOTOGRAFIA 28 - RETALHO DO ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 1 (E) NO DIA 10



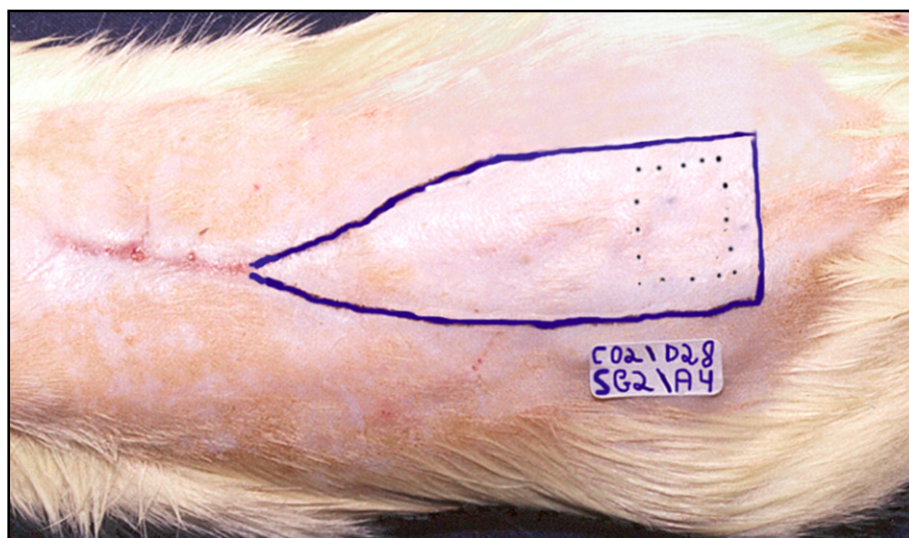
Até o dia 14, a crosta sobre a porção proximal do retalho se destacou espontaneamente em todos os 25 animais, mostrando o retalho que sobreviveu e uma transição nítida com a porção distal que evoluiu para necrose (fotografia 29).

FOTOGRAFIA 29 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 2 (E) NO DIA 14



No dia 21, nenhum dos 20 animais apresentava a necrose distal, que se havia destacado, apresentando em seu lugar tecido de granulação de áreas variáveis. No dia 28 a epitelização era completa em todos os 20 animais (fotografia 30).

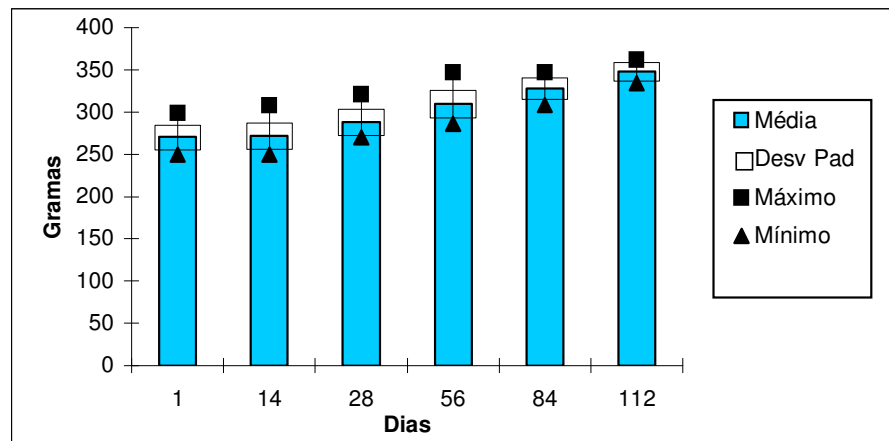
FOTOGRAFIA 30 - RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 2 (E) NO DIA 28



4.2 PESAGEM DOS ANIMAIS

Os animais do grupo controle ganharam peso durante todo o estudo, apresentando peso médio inicial de 270,44 gramas e final de 347,80 gramas. A média, desvio padrão, valor máximo e mínimo estão representados no gráfico 1.

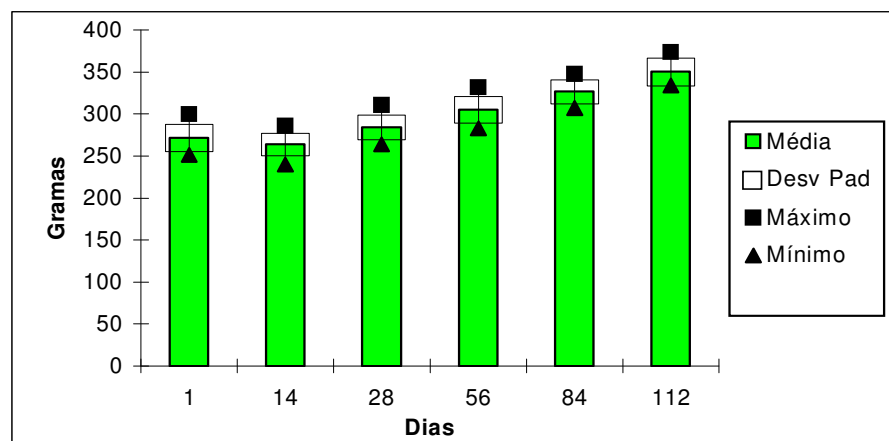
GRÁFICO 1 - PESO DOS ANIMAIS (C), EM GRAMAS, DO DIA 01 AO DIA 112



FONTE: Tabela 8 do Anexo

Os animais do grupo experimento, com peso médio de 271,84 gramas no dia 01, emagreceram para 263,88 gramas no dia 14. No seguimento, ganharam peso durante todo o trabalho, apresentando-se com 350,40 gramas no dia 112 (gráfico 2).

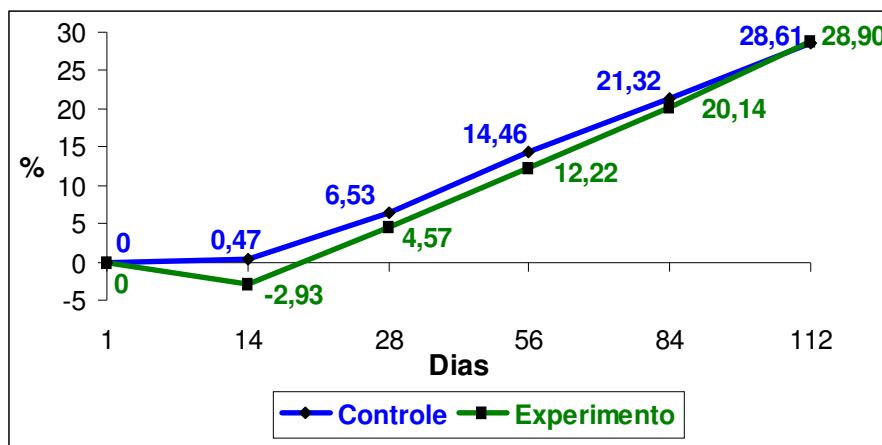
GRÁFICO 2 - PESO DOS ANIMAIS (E), EM GRAMAS, DO DIA 01 AO DIA 112



FONTE: Tabela 9 do Anexo

Observando-se o peso dos animais como variação percentual em relação ao peso inicial, o ganho ao final do estudo foi de 28,61% no grupo controle e de 28,90% no grupo experimento, como detalha o gráfico 3.

GRÁFICO 3 - PESO DOS ANIMAIS (C + E), COMO % DO PESO INICIAL, DO DIA 01 AO DIA 112



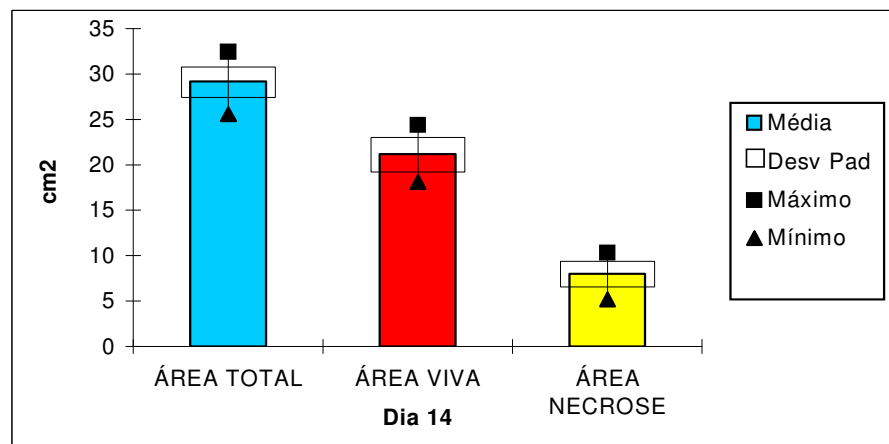
FONTE: Tabelas 8 e 9 do Anexo

4.3 PLANIMETRIA DIGITAL

4.3.1 Avaliação da área do retalho cutâneo

No dia 14, a planimetria digital demonstrou que os retalhos dos 25 animais do grupo controle apresentavam área total média de 29,15 cm², dividida em área viva com 21,16 cm² e área de necrose com 7,99 cm² (gráfico 4).

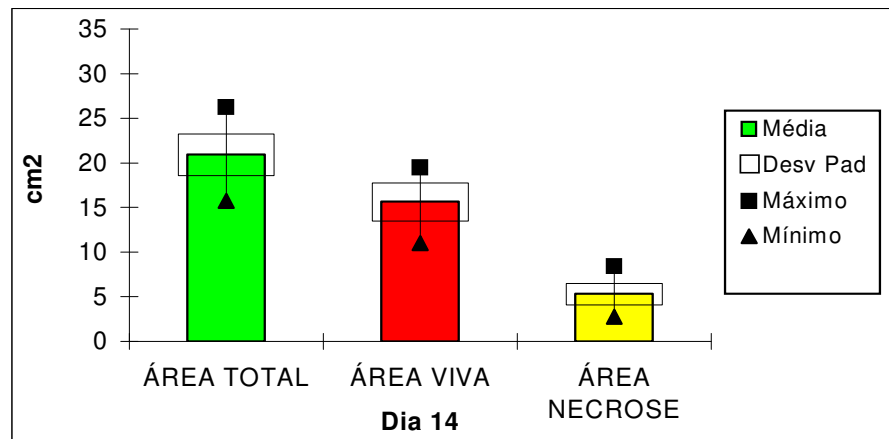
GRÁFICO 4 - ÁREA DO RETALHO (C), EM CM², NO DIA 14



FONTE: Tabela 10 do Anexo

No dia 14, os 25 animais do grupo experimento apresentavam área total média de 20,95 cm², área viva com 15,65 cm² e área de necrose com 5,30 cm² (gráfico 5).

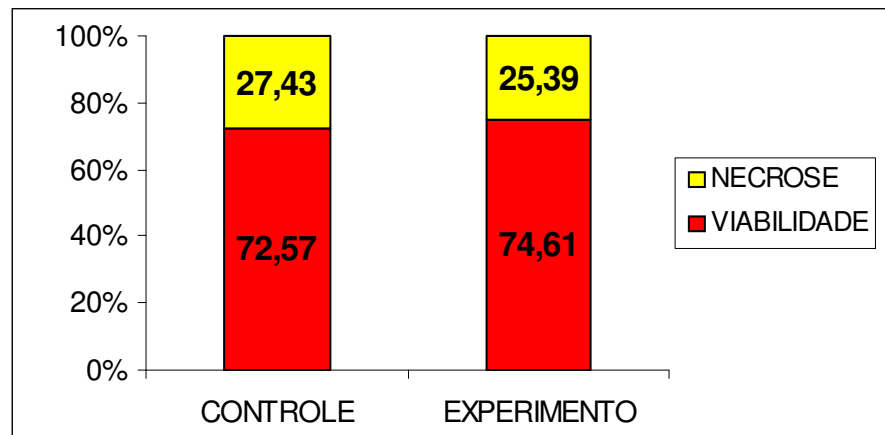
GRÁFICO 5 - ÁREA DO RETALHO (E), EM CM², NO DIA 14



FONTE: Tabela 11 do Anexo

Avaliaram-se as áreas vivas e com necrose dos retalhos do grupo controle e experimento, percentualmente, em relação à sua área total, como demonstrado no gráfico 6.

GRÁFICO 6 - ÁREA DO RETALHO (E + C), COMO % DA ÁREA TOTAL, NO DIA 14



FONTE: Tabelas 10 e 11 do Anexo

Na análise estatística, testou-se a hipótese nula de que o percentual de viabilidade do retalho do grupo experimento era igual ao do grupo controle *versus* a hipótese alternativa de percentuais de viabilidade diferentes. Os valores de média, valor mínimo, valor máximo e desvio padrão, obtidos na análise, estão apresentados na tabela 1.

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL PERCENTUAL DE VIABILIDADE

Grupo	Animais	Média	Valor mínimo	Valor máximo	Desvio padrão
Controle	25	72,57	64,81	81,72	4,62
Experimento	25	74,61	65,12	86,23	5,25

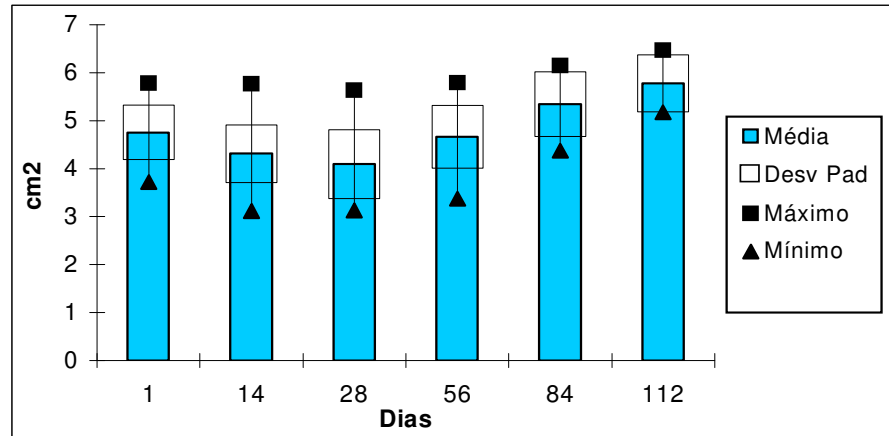
FONTE: Tabelas 10 e 11 do Anexo

O resultado do teste indicou a não rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5% ($p=0,1838$); logo, o percentual de viabilidade do retalho foi semelhante nos 2 grupos.

4.3.2 Avaliação da área da figura tatuada

A figura tatuada de 2,2 x 2,2 cm dentro da base do retalho do grupo controle apresentou área média de 4,75 cm² no dia 01 e de 5,77 cm² no dia 112 (gráfico 7).

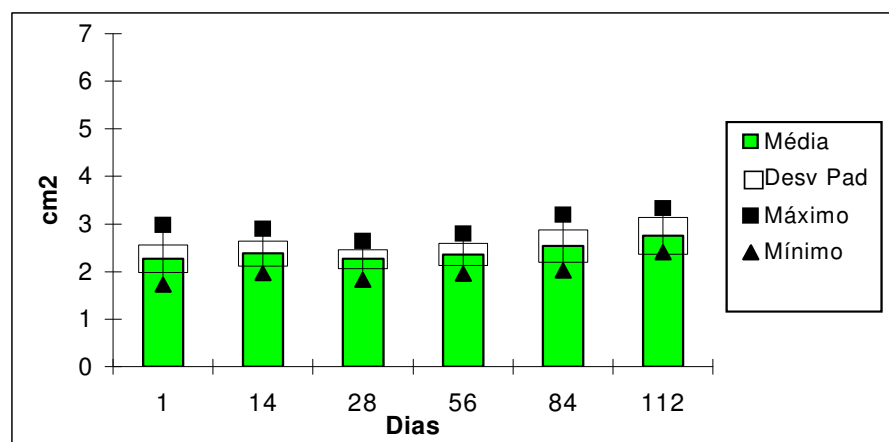
GRÁFICO 7 - ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO (C), EM CM², DO DIA 01 AO DIA 112



FONTE: Tabela 12 do Anexo

Após as 3 aplicações do laser, a área inicial média da figura tatuada no retalho do grupo experimento era de 2,27 cm² (52,18% menor que o controle) e no final do estudo era de 2,75 cm² (52,31% menor que o controle), demonstrado no gráfico 8.

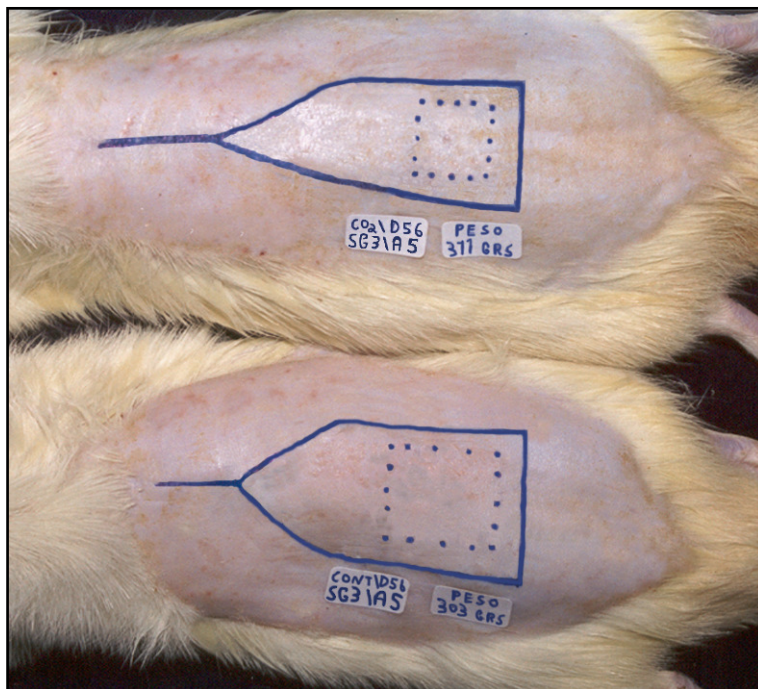
GRÁFICO 8 - ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO (E), EM CM², DO DIA 01 AO DIA 112



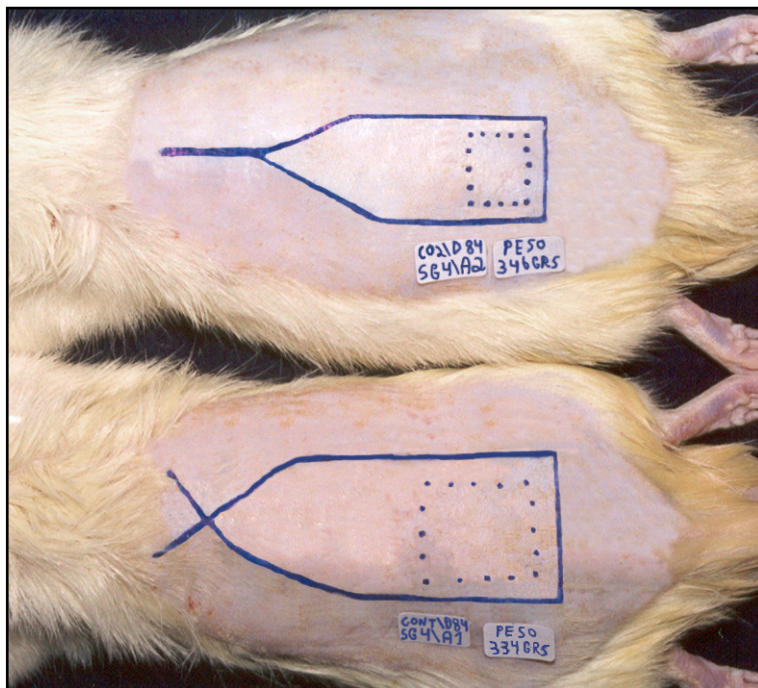
FONTE: Tabela 13 do Anexo

A contração da figura tatuada no retalho do grupo experimento em relação ao controle era claramente identificável por observação macroscópica (fotografias 31, 32 e 33).

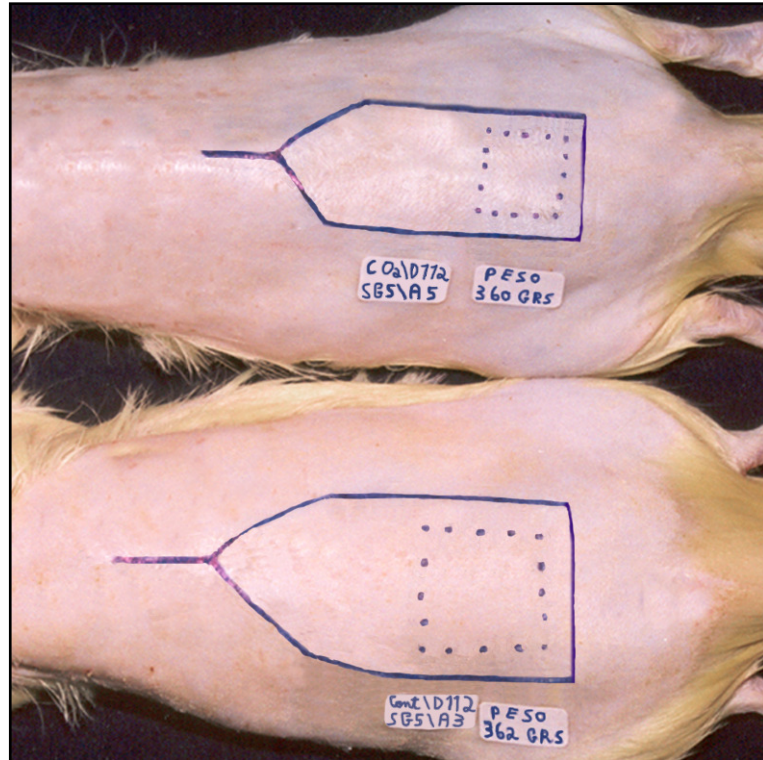
FOTOGRAFIA 31 - RETALHO DO ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 3 (E) E
RETALHO DO ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 3 (C), NO DIA 56



FOTOGRAFIA 32 - RETALHO DO ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 4 (E) E
RETALHO DO ANIMAL 1 DO SUBGRUPO 4 (C), NO DIA 84

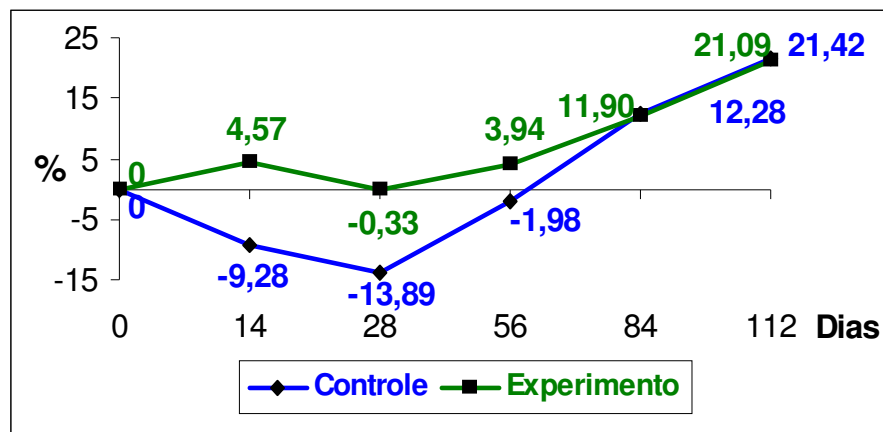


FOTOGRAFIA 33 - RETALHO DO ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 5 (E) E
RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 5 (C), NO DIA 112



Observando-se as figuras tatuadas como variação percentual em relação a área inicial, o ganho ao final do estudo foi de 21,09% no grupo experimento e de 21,42% no controle, como detalha o gráfico 9.

GRÁFICO 9 - ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO (C + E), COMO % DA ÁREA INICIAL, DO DIA 01 AO DIA 112



FONTE: Tabelas 12 e 13 do Anexo

Na análise estatística, para cada um dos momentos avaliados, testou-se a hipótese nula de que a área da figura tatuada no retalho do grupo experimento era igual a do grupo controle *versus* a hipótese alternativa de áreas de figura tatuada diferentes. Os valores obtidos na análise estão apresentados nas tabelas 2 e 3.

TABELA 2 - DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL ÁREA DA FIGURA TATUADA

Grupo	Animais	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Controle 01	25	4,7546	3,7198	5,7813	0,5731
Controle 14	25	4,3131	3,1164	5,7607	0,6076
Controle 28	20	4,0941	3,1223	5,6338	0,7238
Controle 56	15	4,6604	3,3709	5,7900	0,6593
Controle 84	10	5,3385	4,3750	6,1469	0,6780
Controle 112	5	5,7729	5,1796	6,4705	0,6013
Experimento 01	25	2,2738	1,7189	2,9861	0,2894
Experimento 14	25	2,3777	1,9638	2,9009	0,2610
Experimento 28	20	2,2663	1,8230	2,6399	0,1977
Experimento 56	15	2,3635	1,9469	2,8016	0,2356
Experimento 84	10	2,5444	2,0165	3,2009	0,3435
Experimento 112	5	2,7532	2,4051	3,3371	0,3876

FONTE: Tabelas 12 e 13 do Anexo

TABELA 3 - NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA (p) PARA AS DIFERENÇAS DAS ÁREAS DA FIGURA TATUADA

Momento	Valor de p
Dia 01	< 0,0001
Dia 07	< 0,0001
Dia 14	< 0,0001
Dia 28	< 0,0001
Dia 56	< 0,0001
Dia 84	< 0,0001
Dia 112	= 0,0045

FONTE: Tabelas 12 e 13 do Anexo

O resultado do teste indicou a rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$) em todos os momentos; logo, as áreas da figura tatuada nos retalhos foram diferentes nos 2 grupos.

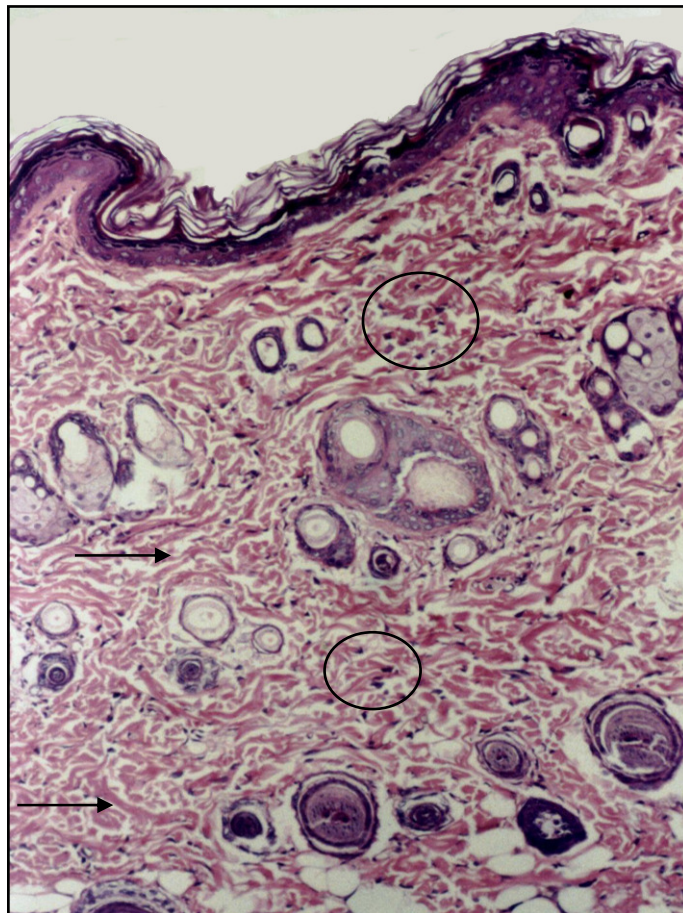
4.4 ESTUDO HISTOLÓGICO

4.4.1 Aspectos histológicos da pele do retalho controle

Exceto por discreto infiltrado inflamatório crônico na derme no dia 14 e no dia 28 e que não era mais visibilizado a partir do dia 56, todas as outras características histológicas da pele eram idênticas em todos os grupos.

A epiderme do retalho controle apresentou-se com camada córnea espessa e constituída por lâminas de queratina. A derme era constituída de fibras colágenas espessas, dispostas desordenadamente no meio de ocasionais núcleos de fibroblastos e anexos cutâneos representados por folículos pilo-sebáceos (fotografia 34).

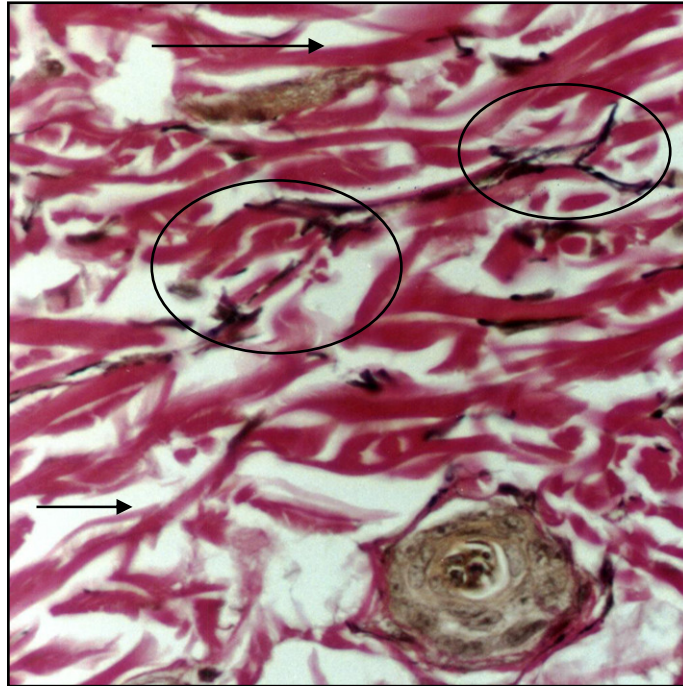
FOTOGRAFIA 34 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 112, ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 5 (C), HE, 100X



NOTA: Observa-se epiderme (E) e a derme com fibras colágenas (→), folículos pilo-sebáceos (FPS) e poucos núcleos de fibroblastos (O).

Visibilizaram-se fibras elásticas curtas e delicadas, dispostas de maneira desordenada no meio de fibras colágenas, conforme é destacado na fotografia 35.

FOTOGRAFIA 35 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 112, ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 5 (C), WEIGERT, 400X

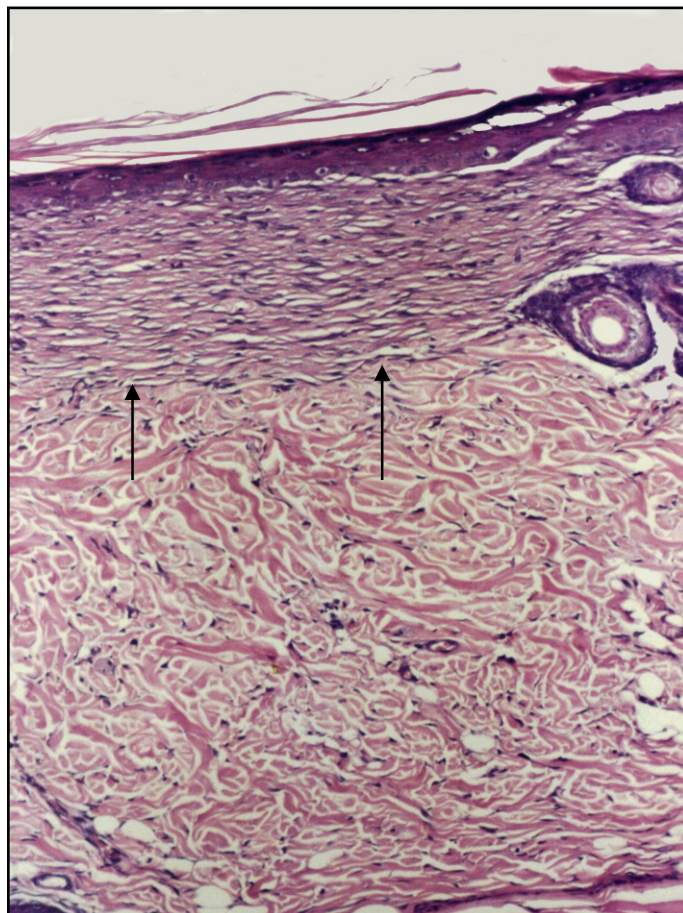


NOTA: Observa-se na derme fibras colágenas coradas em vermelho (→) e entremeadas a elas, fibras elásticas coradas em preto (O).

4.4.2 Aspectos histológicos da pele do retalho experimento no dia 14

Observou-se epiderme reepitelizada e fina com camada córnea pouco espessa, exceto em áreas focais com reepitelização parcial recobertas por crostas. A zona de fibroplasia dérmica era constituída por moderada quantidade de núcleos de fibroblastos no meio de moderada quantidade de fibras colágenas, com aspecto fino e delicado, dispostas paralelamente à epiderme. Fibras elásticas estavam ausentes. Havia discreto infiltrado inflamatório crônico linfocitário na derme (fotografia 36).

FOTOGRAFIA 36 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 14, ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 1 (E), HE, 100X

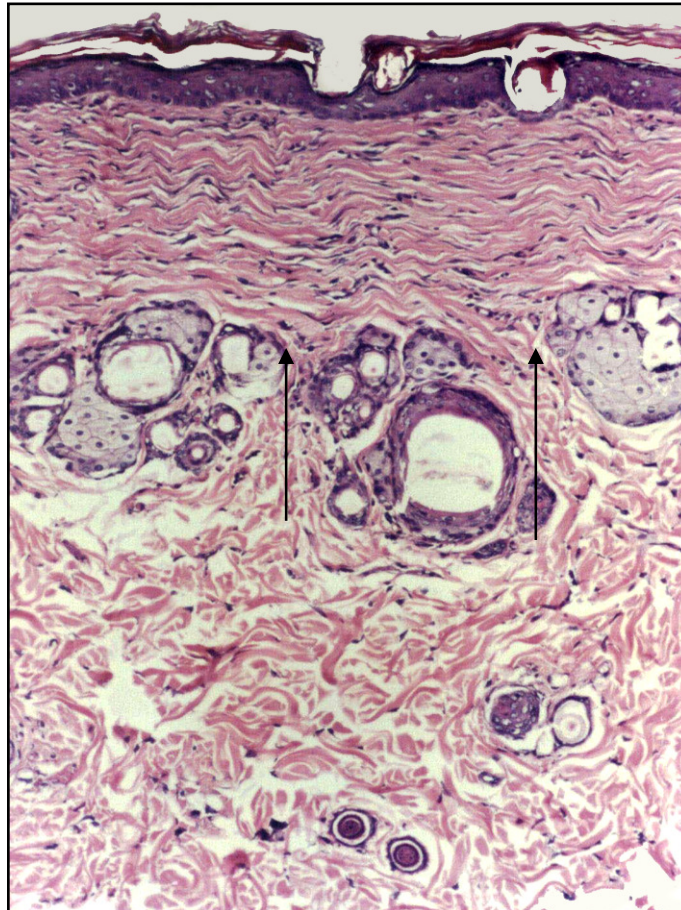


NOTA: Observa-se a epiderme fina (**E**). Abaixo dela, visibilizamos zona de fibroplasia (**ZF**) com transição nítida (**↑**) para a derme normal (**DN**).

4.4.3 Aspectos histológicos da pele do retalho experimento no dia 28

Epiderme de aspecto normal. A zona de fibroplasia dérmica apresentou-se mais espessa que no dia 14, estando constituída por quantidade aumentada de núcleos de fibroblastos no meio de moderada quantidade de fibras colágenas mais espessas que no dia 14; entretanto mais finas que na derme normal, dispostas de maneira ordenada e paralela à epiderme. Fibras elásticas eram ausentes e havia um mínimo infiltrado inflamatório crônico na derme. Estes aspectos são demonstrados na fotografia 37.

FOTOGRAFIA 37 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 28, ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 2 (E), HE, 100X

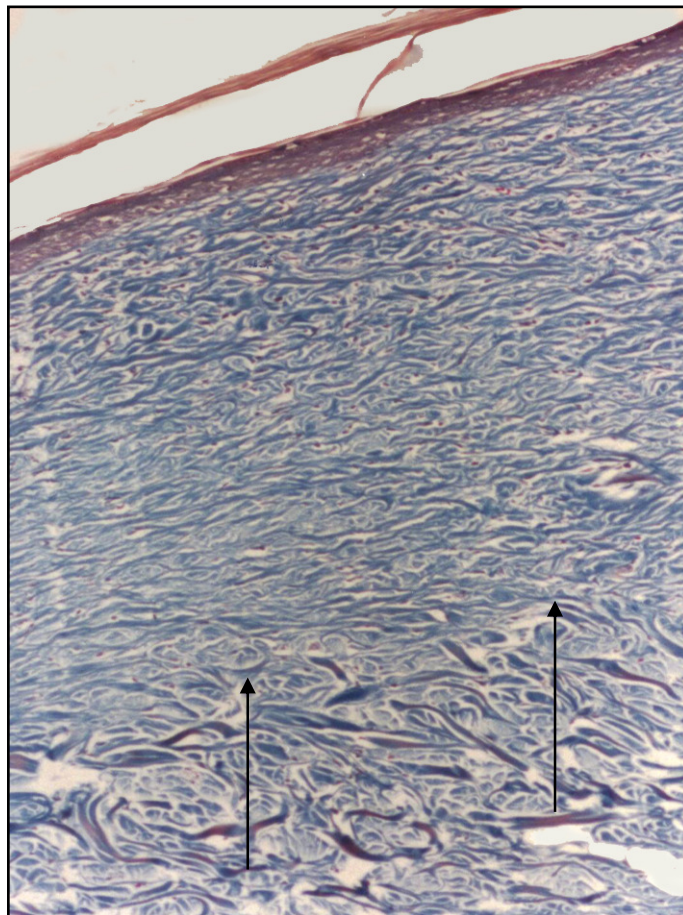


NOTA: Observa-se a epiderme normal (E). Abaixo dela, visibilizamos zona de fibroplasia (ZF) com transição nítida (↑) para a derme normal (DN).

4.4.4 Aspectos histológicos da pele do retalho experimento no dia 56

A epiderme apresenta-se sem alterações. A zona de fibroplasia apresentou-se mais espessa que no dia 28 e era constituída por grande quantidade de fibras colágenas, mais delicadas que na derme normal, dispostas de maneira compacta, ordenada e paralelas à epiderme. Estes aspectos são demonstrados na fotografia 38 e via-se mínimo infiltrado inflamatório dérmico.

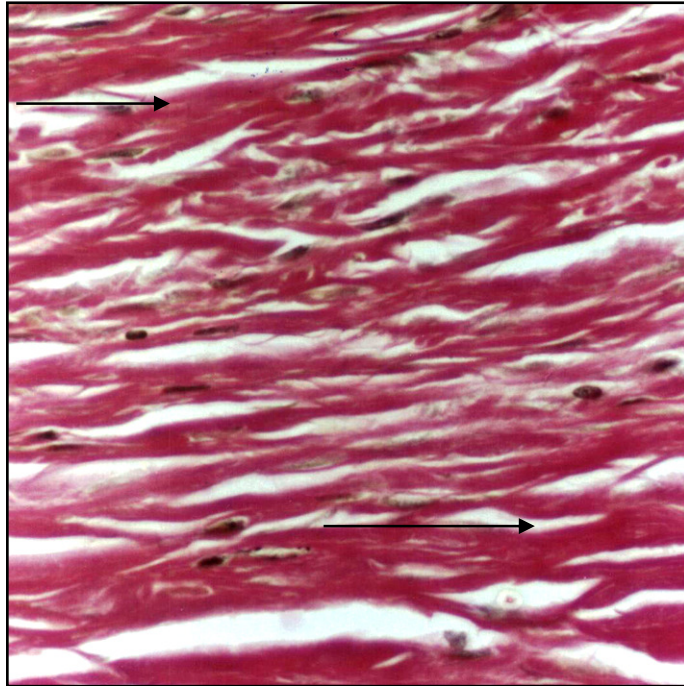
FOTOGRAFIA 38 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 56, ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 3 (E), TM, 100X



NOTA: Visibilizamos zona de fibroplasia dérmica (**ZF**) que apresenta grande quantidade de fibras colágenas sendo nítida (**↑**) a transição com a derme normal (**DN**).

As fibras elásticas continuavam ausentes e notava-se também grande número de núcleos de fibroblastos (fotografia 39).

FOTOGRAFIA 39 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 56, ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 3 (E), WEIGERT, 400X

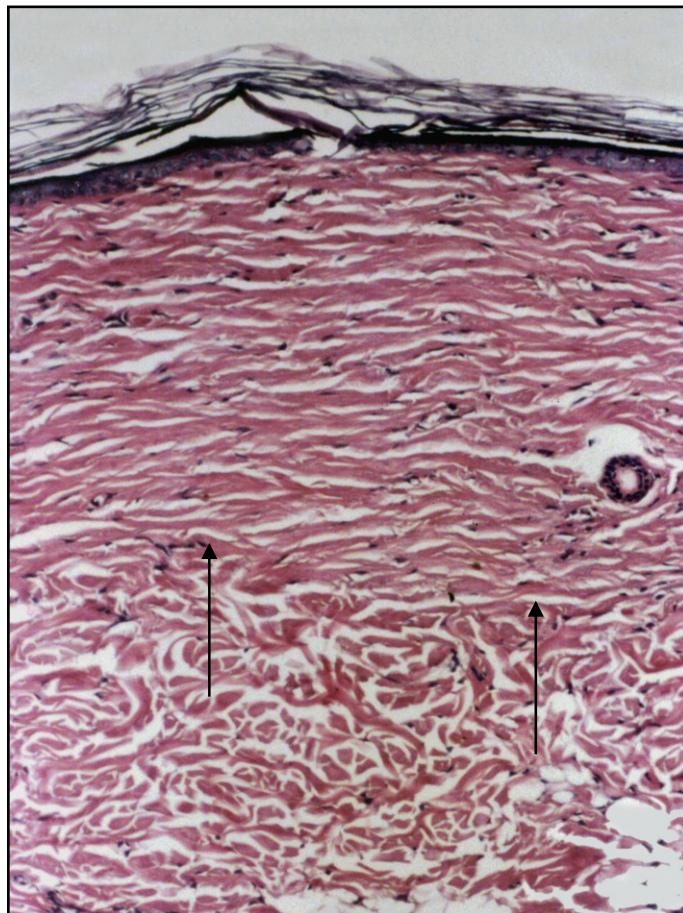


NOTA: Observa-se que a derme apresenta fibras colágenas (→), mas não se observam fibras elásticas.

4.4.5 Aspectos histológicos da pele do retalho experimento no dia 84

A epiderme apresentava-se sem alterações. A zona de fibroplasia dérmica era mais espessa que no dia 56, sendo constituída por moderada quantidade de fibroblastos em meio a grande quantidade de fibras colágenas mais finas e regulares, dispostas de maneira ordenada e paralelas à epiderme. Fibras elásticas continuavam ausentes e via-se mínimo infiltrado inflamatório dérmico (fotografia 40).

FOTOGRAFIA 40 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 84, ANIMAL 1 DO SUBGRUPO 4 (E), HE, 100X

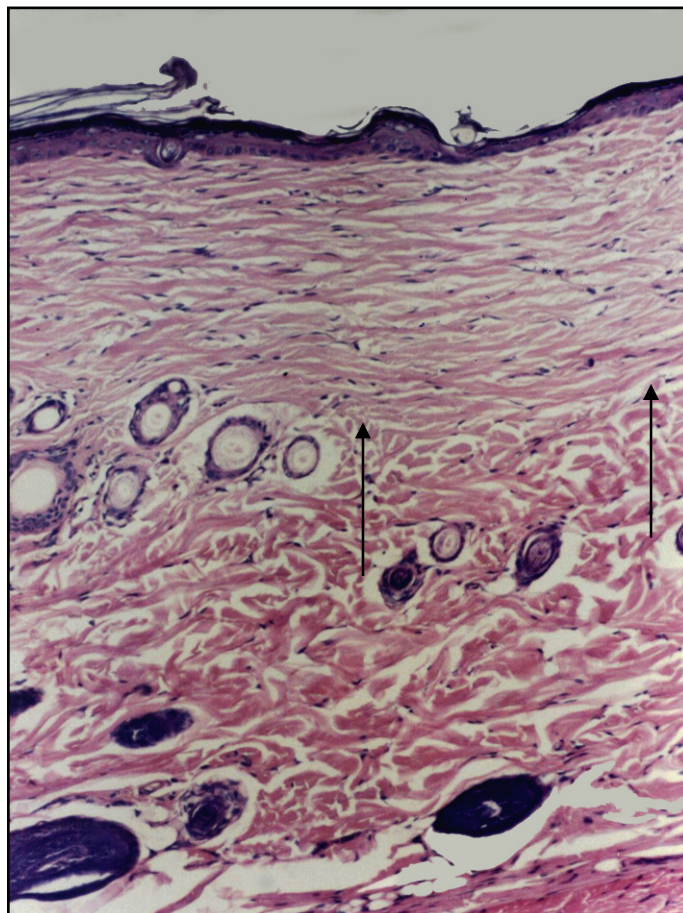


NOTA: Visibilizamos zona de fibroplasia dérmica (ZF) que apresenta grande quantidade de fibras colágenas sendo nítida (↑) a transição com a derme normal (DN).

4.4.6 Aspectos histológicos da pele do retalho experimento no dia 112

A epiderme mostrava-se sem alterações. A zona de fibroplasia dérmica era um pouco diminuída em relação ao dia 84, quando ocorreu o pico de deposição. Estava constituída por quantidade semelhante de fibroblastos em relação à derme normal, em meio a moderada quantidade de fibras colágenas mais finas e regulares, dispostas de maneira ordenada e paralelas à epiderme. Não se evidenciaram fibras elásticas e infiltrados inflamatórios, como mostra a fotografia 41.

FOTOGRAFIA 41 - CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 112, ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 5 (E), HE, 100X

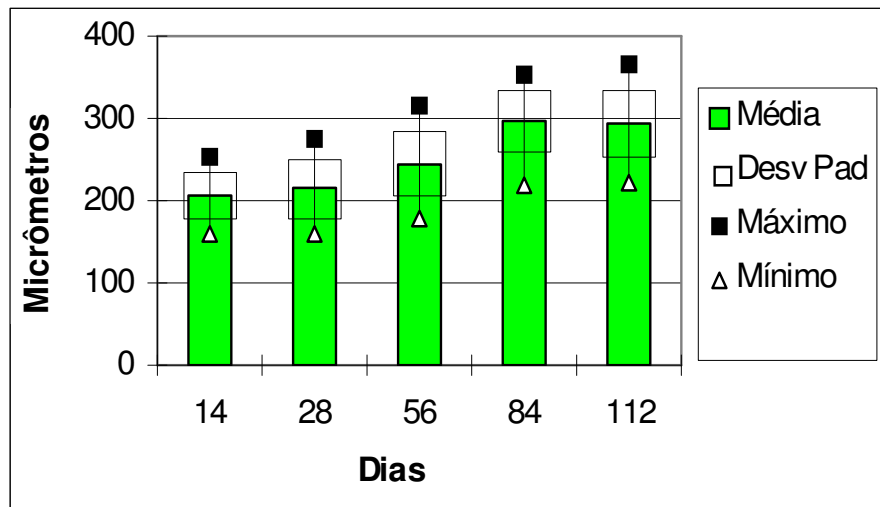


NOTA: A zona de fibroplasia (**ZF**) dérmica e sua transição com a derme normal (**DN**) é bastante nítida (↑).

4.5 MORFOMETRIA DIGITAL

No dia 14, a pele do retalho experimento apresentou zona de fibroplasia de espessura média de 205,17 μm , que ascendeu até o pico de 296,52 μm no dia 84 e então caiu para 294,74 μm no dia 112, conforme detalha o gráfico 10.

GRÁFICO 10 - ESPESSURA DA FIBROPLASIA NO RETALHO (E), EM μm , DO DIA 14 AO 112



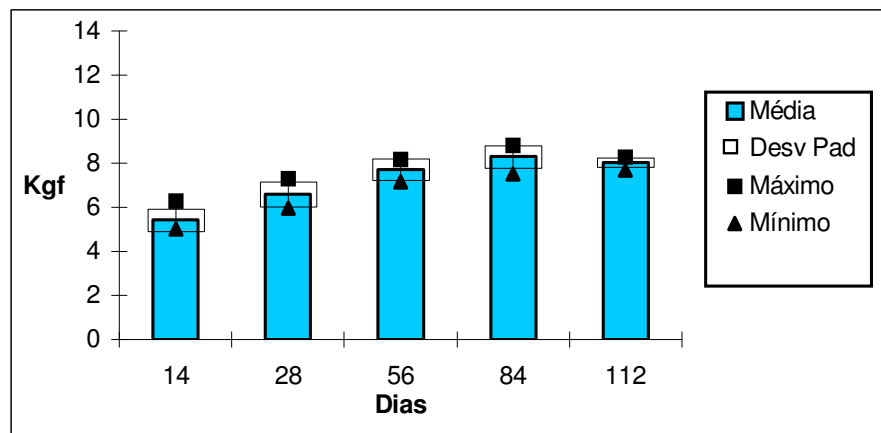
FONTE: Tabelas 14, 15, 16, 17 e 18 do Anexo

4.6 ESTUDO TENSIOMÉTRICO

4.6.1 Carga de ruptura

Nos animais do grupo controle a carga de ruptura do retalho apresentou um valor inicial médio de 5,42 Kgf e final de 8,03 Kgf (gráfico 11).

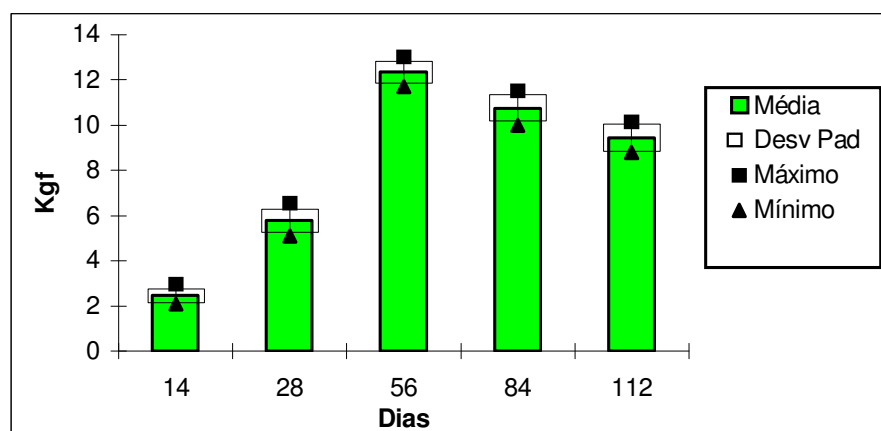
GRÁFICO 11 - CARGA DE RUPTURA DO RETALHO (C), EM KGF, DO DIA 14 AO 112



FONTE: Tabelas 19, 20, 21, 22 e 23 do Anexo

A carga de ruptura no grupo experimento era de 2,45 Kgf no dia 14, elevou-se até 12,34 Kgf no dia 56 e declinou até o valor de 9,45 Kgf no dia 112 (gráfico 12).

GRÁFICO 12 - CARGA DE RUPTURA DO RETALHO (E), EM KGF, DO DIA 14 AO 112



FONTE: Tabelas 24, 25, 26, 27 e 28 do Anexo

Na análise estatística, para cada um dos momentos avaliados, testou-se a hipótese nula de que a carga de ruptura no retalho do grupo experimento era igual a do grupo controle *versus* a hipótese alternativa de cargas de ruptura diferentes. Os valores obtidos na análise estão apresentados nas tabelas 4 e 5.

TABELA 4 - DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL CARGA DE RUPTURA

GRUPO	Animais	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Controle 14	5	5,42	5,02	6,28	0,5097
Controle 28	5	6,59	5,97	7,31	0,5572
Controle 56	5	7,71	7,15	8,17	0,4987
Controle 84	5	8,30	7,51	8,79	0,5063
Controle 112	5	8,03	7,69	8,28	0,2143
Experimento 14	5	2,45	2,08	2,94	0,3224
Experimento 28	5	5,77	5,11	6,53	0,5193
Experimento 56	5	12,34	11,70	13,01	0,5044
Experimento 84	5	10,76	10,01	11,51	0,6095
Experimento 112	5	9,45	8,81	10,14	0,6225

FONTE: Tabelas 19, 20, 21, 22 e 23 do Anexo para retalho do grupo controle
Tabelas 24, 25, 26, 27 e 28 do Anexo para retalho do grupo experimento

TABELA 5 - NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA (p) PARA AS DIFERENÇAS DAS CARGAS DE RUPTURA

Momento	Valor de p
Dia 14	=0,0090
Dia 28	=0,0283
Dia 56	=0,0090
Dia 84	=0,0090
Dia 112	=0,0090

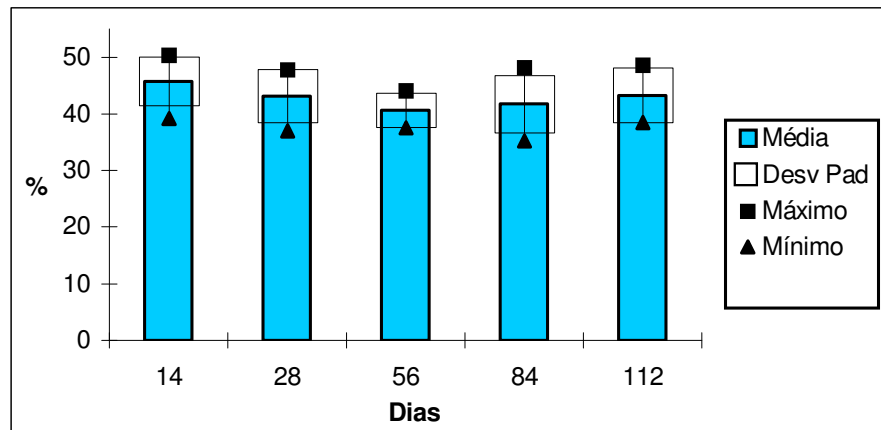
FONTE: Tabelas 19, 20, 21, 22 e 23 do Anexo para retalho do grupo controle
Tabelas 24, 25, 26, 27 e 28 do Anexo para retalho do grupo experimento

O resultado do teste indicou a rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$) em todos os momentos, logo, as cargas de ruptura nos retalhos foram diferentes nos 2 grupos.

4.6.2 Alongamento de ruptura

Nos animais do grupo controle o alongamento de ruptura do retalho apresentou um valor inicial médio de 45,74% e final de 43,32% (gráfico 13).

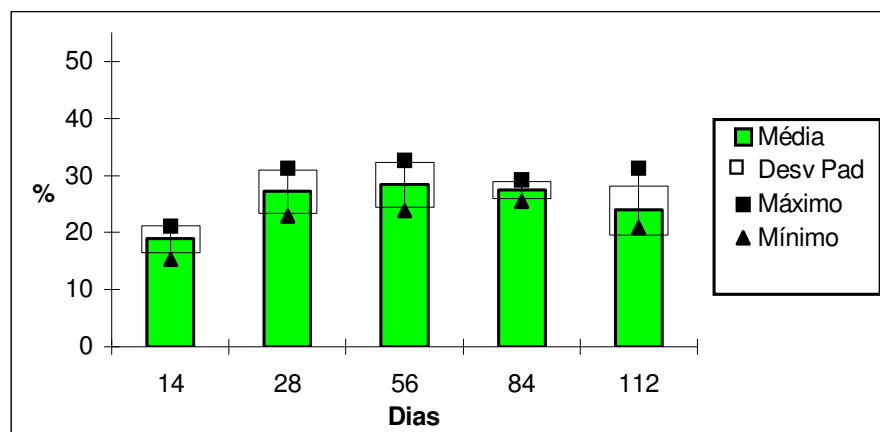
GRÁFICO 13 - A LONGAMENTO DE RUPTURA DO RETALHO (C), EM %, DO DIA 14 AO 112



FONTE: Tabelas 19, 20, 21, 22 e 23 do Anexo

O alongamento de ruptura no grupo experimento era de 18,90% no dia 14, elevou-se até 28,46% no dia 56 e declinou até o valor de 23,94% no dia 112 (gráfico 14).

GRÁFICO 14 - A LONGAMENTO DE RUPTURA DO RETALHO (E), EM %, DO DIA 14 AO 112



FONTE: Tabelas 24, 25, 26, 27 e 28 do Anexo

Na análise estatística, para cada um dos momentos avaliados, testou-se a hipótese nula de que o alongamento de ruptura no retalho do grupo experimento era igual ao do grupo controle *versus* a hipótese alternativa de alongamentos de ruptura diferentes. Os valores obtidos na análise estão apresentados nas tabelas 6 e 7.

TABELA 6 - DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL ALONGAMENTO DE RUPTURA

Grupo	Animais	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Controle 14	5	45,74	39,20	50,30	4,2875
Controle 28	5	43,16	37,00	47,70	4,7162
Controle 56	5	40,68	37,50	44,10	3,0491
Controle 84	5	41,80	35,20	48,20	5,0205
Controle 112	5	43,32	38,50	48,60	4,8339
Experimento 14	5	18,90	15,30	21,20	2,3184
Experimento 28	5	27,24	22,90	31,30	3,8449
Experimento 56	5	28,46	23,80	32,60	3,9633
Experimento 84	5	27,54	25,50	29,20	1,4926
Experimento 112	5	23,94	20,80	31,30	4,2706

FONTE: Tabelas 19, 20, 21, 22 e 23 do Anexo para retalho do grupo controle
Tabelas 24, 25, 26, 27 e 28 do Anexo para retalho do grupo experimento

TABELA 7 - NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA (p) PARA AS DIFERENÇAS DOS ALONGAMENTOS DE RUPTURA

Momento	Valor de p
Dia 14	=0,0090
Dia 28	=0,0090
Dia 56	=0,0088
Dia 84	=0,0090
Dia 112	=0,0090

FONTE: Tabelas 19, 20, 21, 22 e 23 do Anexo para retalho do grupo controle
Tabelas 24, 25, 26, 27 e 28 do Anexo para retalho do grupo experimento

O resultado do teste indicou a rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$) em todos os momentos; logo, os alongamentos de ruptura nos retalhos foram diferentes nos 2 grupos.

5 DISCUSSÃO

5.1 MODELO EXPERIMENTAL

O animal escolhido, rato da linhagem Wistar, à semelhança do que foi descrito por outros autores desta linha de pesquisa, como AUERSVALD (1999) e GRAF (2000), foi de aquisição simples em nosso meio, facilitando padronizações de sexo, peso e idade, necessárias para uniformidade da amostra.

Pelo fato do rato ser de pequeno porte e seu alojamento não ocupar muito espaço, foi possível a utilização simultânea de grande número de animais, viabilizando assim a realização de outras pesquisas da mesma linha de maneira concomitante, barateando o custo operacional do equipamento de laser e permitindo a divisão de tarefas diárias como alimentação e limpeza.

Por apresentarem fácil manipulação experimental e grande resistência a infecções, por terem sido os procedimentos anestésicos e cirúrgicos rápidos e pouco agressivos e devido a alojamento e manutenção cuidadosos destes animais, não foram observadas morbidade e mortalidade no estudo.

Apesar das vantagens descritas acima, segundo ROSS et al.(1999), o animal mais adequado para estudos experimentais do laser em pele é o porco, porque sua pele apresenta grande analogia com a estrutura e a espessura da pele humana, sendo também semelhante o processo de cicatrização; entretanto, no planejamento deste estudo, foi considerado o grande porte desse animal e as dificuldades que decorreriam de sua obtenção, manipulação e manutenção.

ROSS et al. (1999) em porcos e AUERSVALD (1999) em ratos, utilizando o mesmo aparelho de laser de CO₂ ultrapulsado com a mesma regulagem, encontraram após duas aplicações na pele dano de ablação (20 µm e 178,50 µm, respectivamente) e dano térmico residual (134 µm e 100 µm) diferentes. Uma análise superficial concluiria que a utilização de outro animal que não o porco dificultaria a comparação dos resultados que seriam obtidos com os estudos já publicados.

Porém, ao realizar uma análise mais aprofundada, foi o rato credenciado como animal adequado para a investigação experimental que havia sido proposta, como se discute a seguir.

Em relação ao efeito de dano térmico após a aplicação do laser, o modelo em rato mostrou-se adequado, porque o objetivo em trabalhos experimentais, utilizando qualquer espécie animal, é causar na pele dano de ablação e dano térmico residual semelhantes em profundidade aos causados em humanos no caso da aplicação do laser, independentemente de regulagem e número de aplicações diferentes, concordando com a metodologia proposta por AUERSVALD (1999).

Em relação à contração cutânea, o modelo em rato mostrou-se adequado, porque o tipo de colágeno predominante em sua derme é o de tipo I, que também predomina na derme da espécie humana, corroborando com a descrição de KIRSCH et al. (1998) que, estudando pele facial humana e tendão calcâneo bovino, encontraram resultados semelhantes em relação à contração do colágeno, apesar da histologia totalmente diversa destes dois tecidos.

Em relação à deposição de fibras colágenas na fibroplasia, devido ao fato de o rato ser animal mamífero, os componentes de seu processo de cicatrização são semelhantes ao humano e permitem a comparação com os resultados obtidos, embora o acelerado metabolismo do rato percorra mais rapidamente as fases inflamatória, de formação tecidual e de remodelação como descritas em SINGER e CLARK (1999).

Em relação à utilização do rato como modelo de sobrevivência de retalho cutâneo, concorda-se com McFARLANE, DeYOUNG e HENRY (1965); refere ele que, apesar de histologia cutânea bastante diversa da humana (no rato a derme é mais espessa, não apresentando tecido subcutâneo gorduroso e sim tela subcutânea muscular), os vasos sanguíneos responsáveis pela nutrição cutânea são subdérmicos em ambos: no rato, na junção da derme com a tela subcutânea; e no homem, na junção com a hipoderme gordurosa e, após realizado o retalho, apresentam as mesmas alterações de perfusão de macro e microvasculatura.

São também necessárias considerações quanto à escolha do tipo de laser, à regulagem utilizada e ao número de aplicações.

O laser do CO₂ ultrapulsado foi escolhido por ser o mais utilizado em humanos, conforme relatado por GOODMAN (1998), sendo os resultados obtidos em estudos experimentais importantes para o desenvolvimento de técnicas para a prática cirúrgica.

AUERSVALD (1999) propôs regulagem do aparelho e, ao utilizar uma aplicação, observou que a epiderme sofria ablação, mas o dano térmico residual na derme era mínimo. Com duas aplicações ele obteve uma ablação tecidual maior, com dano térmico residual homogêneo na derme. Ao utilizar três aplicações, o dano de ablação pouco aumentou e o dano térmico residual se tornou substancialmente mais profundo, resultados semelhantes aos que foram descritos por SECKEL, YOUNAI e WANG (1998) em seu estudo em cobaias.

Como este projeto de pesquisa estudou a contração cutânea e a deposição de fibras colágenas em ratos, dois fatores que aumentam conforme o aumento do dano térmico residual, optou-se por utilizar a regulagem descrita por AUERSVALD (1999), com três aplicações do laser. Conforme descreveu RODRIGUES (2000), a lesão dérmica causada nesta regulagem foi semelhante em profundidade à habitualmente causada com o uso do laser de CO₂ ultrapulsado em *resurfacings*.

MAYL e FELDER (1997), ao utilizar o laser sobre retalho cutâneo facial, recomendaram um dano térmico menor em profundidade do que o causado em *resurfacings* como segurança para não se lesar os vasos subdérmicos responsáveis pela perfusão da pele. Os resultados encontrados neste estudo fornecerão embasamento experimental para a discussão da segurança da associação do laser com a ritidoplastia.

5.2 SOBREVIVÊNCIA DO RETALHO CUTÂNEO

O retalho de McFARLANE, DeYONG e HENRY (1965), modificado por KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986), comprovou ser ótimo modelo para se avaliarem os fatores que interferem na necrose isquêmica distal dos retalhos cutâneos.

Foi encontrado neste estudo no grupo controle sobrevivência proximal de 72,57%, discordando do trabalho de KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986), que relatou sobrevivência de 63,2%. O percentual superior do atual estudo foi devido a que a mensuração foi realizada 14 dias após a confecção do retalho, e não após 8 dias, como proposto por KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986).

Observando o grupo controle a partir do sétimo dia, que foi relatado por McFARLANE, DeYONG e HENRY (1965) como o início do intervalo para realizar a mensuração, viu-se que a linha de transição entre o retalho vivo e necrótico avançava para dentro da área aparentemente morta por desprendimento de pequenas necroses superficiais de áreas isquêmicas limítrofes, mostrando aumento da área de sobrevivência do retalho até o 14º dia.

O motivo de se mensurar a sobrevivência apenas no dia 14 se deve a que a visibilidade da linha de transição do grupo experimento dependia do destacamento de grande crosta que se formou sobre o retalho após as três aplicações do laser, na regulagem proposta por AUERSVALD (1999), por causa da exudação da derme exposta. No dia 7 esta linha não era visível em nenhum animal, no dia 10 em 18 animais e em todos os 25 animais somente após 14 dias.

Este resultado contraria o relato de RODRIGUES (2000), que referiu destacamento da crosta em todos os animais, até o décimo dia, em pele dorsal de ratos, após utilizar as mesmas três aplicações do laser na regulagem proposta por AUERSVALD (1999). Esta diferença foi devida ao menor aporte sanguíneo do retalho e conseqüente retardo da cicatrização, sendo esta hipótese corroborada em artigo de revisão publicado por SINGER e CLARK (1999).

A separação entre a área de sobrevivência proximal e a necrótica distal foi nítida em todos os animais, discordando de KAUFMAN et al. (1985) e HAMMOND et al. (1993), que encontraram em seus estudos pequenas porções da área de necrose que sobreviveram como enxerto.

Não foram observadas alterações no comportamento dos animais do grupo experimento ou controle que pudessem ser atribuídas à dor, confirmando o relato de DAVIS et al. (1995), no sentido de que a administração ou não de analgésicos no pós-operatório não influenciaria a sobrevivência deste modelo de retalho cutâneo.

5.3 CONTRAÇÃO CUTÂNEA DO RETALHO

O dano de ablação médio do trabalho de RODRIGUES (2000) foi de 154,80 μm , utilizando o mesmo aparelho de laser, regulagem e número de aplicações em pele de dorso de ratos deste estudo. Como trabalho participante de uma linha de pesquisa, foi decidido que o modelo poderia ser utilizado neste estudo, sem o sacrifício de um grupo de animais no dia 01 para a mensuração do dano térmico, devido à sua demonstração anterior.

Na regulagem do aparelho foi fornecida a cada aplicação fluência de energia de 7,5 J/cm^2 . Grandes fluências como esta causam, após cada aplicação, um efeito de ablação progressivamente diminuído e um efeito térmico residual progressivamente aumentado. Os dados obtidos na linha de pesquisa confirmaram essa afirmação, pois o estudo de AUERSVALD (1999), com duas aplicações, apresentou dano térmico residual de 100,68 μm ; e o de RODRIGUES (2000), com três aplicações, foi de 235,88 μm .

Esse fato é importante, porque quanto maior o dano térmico residual, maiores as zonas de coagulação e transição, à semelhança do que foi descrito por ROSS et al. (1999). A espessura da zona de transição é importante, pois é nela que se encontram as alterações intermediárias da desnaturação da fibra colágena que causam a contração da pele após a aplicação de laser.

Após as três aplicações do laser, a área da figura tatuada sobre o retalho do grupo experimento estava 52,18% menor que a do controle. Comparando-se com a contração imediata descrita por RODRIGUES (2000), segundo a qual, após três aplicações de mesmo laser, a área da figura experimento tatuada sobre a pele estava 49,71% menor que a figura controle; foi notada uma contração inicial mais importante no retalho, porque este, descolado de planos profundos, oferece menor resistência à contração tecidual induzida pelo encurtamento da molécula de colágeno.

Quando comparado a trabalhos que estudaram a contração tecidual induzida pelo laser, utilizando outros modelos experimentais, os conceitos descritos se reafirmam.

SECKEL, YOUNAI e WANG (1998) com o mesmo laser de CO₂ ultrapulsado em pele dorsal de cobaio, utilizando três aplicações com fluência de 5 J/cm², observaram contração tecidual de 33,5%. Apesar de utilizar o mesmo laser, o mesmo número de aplicações e um animal de histologia cutânea semelhante, a contração inferior encontrada foi devida à diminuição da fluência oferecida, causando menor dano térmico residual, menor zona de transição e menor contração de colágeno.

Confirmando o conceito acima, GRAF (2000) utilizou em seu estudo em pele dorsal de ratos outro laser, o Er:YAG. Após três passadas do laser, o estudo histológico demonstrou dano de ablação de 215,24 µm e dano térmico residual de 41,45 µm e foi verificada contração tecidual de 37,76%. Este pequeno dano térmico residual, característico deste modelo de laser, foi o responsável por menor zona de transição e encurtamento das moléculas de colágeno.

Os animais do grupo experimento e controle apresentaram peso inicial semelhante. Após 14 dias da confecção dos retalhos, os animais do grupo controle apresentaram ganho de peso percentual em relação ao dia 01 de 0,47% e os do grupo experimento demonstraram perda de 2,93% devido ao maior trauma cirúrgico ocasionado pelo laser. Esta perda de peso não foi evidenciada nos estudos de SECKEL, YOUNAI e WANG (1998), RODRIGUES (2000) e GRAF (2000), devido à menor extensão dos procedimentos realizados.

Passada a fase inicial da cicatrização, os animais dos dois grupos ganharam peso continuamente, terminando o estudo praticamente iguais. Esse ganho de peso foi considerado normal, pois os animais eram adultos jovens, apresentando potencial de crescimento que se tornou um fato, devido às corretas condições de alojamento, manejo e alimentação. Comportamento semelhante foi descrito por SECKEL, YOUNAI e WANG (1998), RODRIGUES (2000) e GRAF (2000).

A área da figura tatuada no retalho do grupo controle aumentou durante o estudo. Essa variação foi considerada normal, sendo paralela à variação do peso e proporcional ao crescimento dos animais, à semelhança do que foi descrito por SECKEL, YOUNAI e WANG (1998), RODRIGUES (2000) e GRAF (2000).

A área final da figura tatuada no retalho controle neste estudo de tamanho 21,42% maior que a inicial, é diferente da área 47,96% maior referida por RODRIGUES (2000) da figura tatuada na pele, e esta diferença é devida à fibrose do leito e laterais do retalho, causando aderências teciduais e dificultando o crescimento.

A figura tatuada no retalho do grupo experimento apresentou no dia 112 uma área 21,09% maior. No estudo de RODRIGUES (2000) a figura tatuada na pele demonstrava, no dia 112, uma área 9,01% maior. Lembrando a contração inicial mais importante neste estudo, provavelmente devido ao descolamento de planos profundos, observamos que a área final de 2,75 cm² neste estudo e de 2,72 cm² no estudo da pele de RODRIGUES (2000) são semelhantes. Esses dados confirmam os resultados obtidos por SECKEL, YOUNAI e WANG (1998), RODRIGUES (2000) e GRAF (2000), segundo os quais a contração tecidual após a aplicação do laser se mantém no tempo.

5.4 DEPOSIÇÃO DE FIBRAS COLÁGENAS E ELÁSTICAS

A deposição de colágeno durante a cicatrização, denominada fibroplasia, que segue a aplicação de laser sobre a pele do retalho é diretamente proporcional à quantidade de tecido que foi vaporizado (dano de ablação), necessitando ser repostado, e ao que sofreu dano térmico residual, necessitando ser reparado. Esse processo pode ser acompanhado por microscopia óptica ou eletrônica e mensurado por morfometria.

Dentro do dano térmico residual, a zona de coagulação apresenta colágeno desnaturado, que necessita ser substituído. A zona de transição contém fibras colágenas totalmente desnaturadas e fibras parcialmente lesadas e contraídas em seu comprimento, que permanecem na derme após a sua cicatrização, mantendo assim a contração cutânea inicial, corroborando o que foi observado por SECKEL, YOUNAI e WANG (1998).

A célula responsável pela deposição de colágeno na derme em processo de cicatrização é o fibroblasto, coincidindo com revisão publicada por SINGER e CLARK (1999). Eles referem que os fibroblastos necessários à cicatrização cutânea se acumulam no tecido a partir da diferenciação de fibrócitos presentes na derme viável e da migração de tecidos vizinhos, através de contiguidade tecidual ou aporte vascular. Na derme, eles prontamente se multiplicam e começam a secretar colágeno novo.

Esta fibroplasia foi observada neste estudo como fazendo parte da resposta inflamatória no primeiro subgrupo que foi submetido a eutanásia após catorze dias da aplicação do laser sobre o retalho; mas foi referida por RODRIGUES (2000) e GRAF (2000) como presente já no sétimo dia, na eutanásia de seu segundo grupo.

No dia 28 foi notada ainda uma importante resposta inflamatória, que se traduziu em núcleos de células polimorfonucleares infiltrados tanto na derme como no tecido conectivo abaixo da tela subcutânea no plano do anterior descolamento do retalho, acompanhado de grande número de núcleos de fibroblastos. Esta resposta inflamatória era maior que a descrita por RODRIGUES (2000) e GRAF (2000).

Foi observado neste dia 28 a menor área descrita para a figura tatuada no retalho, tanto no grupo experimento como no controle. Esta contração secundária do tecido não foi observado por SECKEL, YOUNAI e WANG (1998), RODRIGUES (2000) e GRAF (2000), que trabalharam somente sobre pele. A explicação descrita em SINGER e CLARK (1999) refere, na resposta inflamatória, que foi mais importante neste atual estudo, a presença de miofibroblastos derivados de fibroblastos que secretam proteínas com capacidade contrátil semelhantes às encontradas na musculatura lisa.

Foi notado que a área de fibroplasia dérmica se apresentava bem diferenciada e com espessura progressivamente aumentada até o dia 84, representando esse dia o pico da deposição de colágeno, diferente de GRAF (2000), que referiu este pico no dia 28 e SECKEL, YOUNAI e WANG (1998) e também RODRIGUES (2000) que referiram o ápice de sua fibroplasia no dia 56.

Está referido em SINGER e CLARK (1999) o pico de deposição de colágeno em torno do segundo mês do processo cicatricial, concordando com os resultados de SECKEL, YOUNAI e WANG (1998) e RODRIGUES (2000). A explicação para o pico precoce relatado por GRAF (2000) seria o pequeno dano térmico residual causado pelo laser Er:YAG, produzindo discreta resposta inflamatória; e no caso do ápice tardio deste estudo, o retardo da fibroplasia seria causado pela isquemia característica dos retalhos até a reconstituição dos vasos sanguíneos seccionados.

A espessura da zona de fibroplasia reflete a resistência do tecido cutâneo e, conseqüentemente, a sua carga de ruptura. Nos dias 14 e 28, com fibroplasia ainda em formação, a carga de ruptura do retalho experimento era inferior ao do controle, mas com valores ascendentes. Nos dias 56 e 84, com maior deposição de fibras colágenas, a carga de ruptura da pele experimento apresentava resultado superior ao do controle e aos valores descritos por SECKEL, YOUNAI e WANG (1998), RODRIGUES (2000) e GRAF (2000). Isso seria devido à maior intensidade do processo inflamatório ocorrida neste estudo, que se utilizou de um retalho cutâneo.

Na fase de remodelação do colágeno, observou-se queda tanto da espessura da fibroplasia quanto da carga de ruptura no retalho experimento; mas a carga, no dia 112, era ainda superior ao retalho controle, diferentemente do descrito por RODRIGUES (2000) e GRAF (2000) que, no dia 112, encontraram valores semelhantes para a pele experimento e controle. Esta diferença foi explicada por SINGER e CLARK (1999) pela superior resposta inflamatória e fibroplasia já descritas para o retalho.

Em relação ao alongamento de ruptura, o retalho do grupo experimento foi sempre inferior ao do controle, apresentando valor médio de 25% e semelhante ao valor encontrado por RODRIGUES (2000) e GRAF (2000). Isso foi devido à perda de conteúdo de fibras elásticas da pele, que sofreu dano de ablação e térmico residual, e ao fato de a reparação dérmica ser feita à base de deposição de colágeno, coincidindo com o relato de SINGER e CLARK (1999).

Já o alongamento de ruptura do retalho do grupo controle foi em média de 43%, inferior ao da pele do grupo controle relatado por RODRIGUES (2000) e GRAF (2000), que foi respectivamente de 49% e 50%. Esta diferença se explica pela deposição de fibras colágenas na cicatrização do plano de descolamento do retalho, que não existe na pele não descolada dos estudos anteriores.

6 CONCLUSÕES

Em função dos resultados obtidos, pode-se concluir que a aplicação de laser de CO₂ ultrapulsado, utilizando este modelo experimental, permite o seguinte elenco de asserções:

1. não interferiu na viabilidade do retalho, pois não foi possível a rejeição da hipótese nula de percentuais de viabilidade iguais no nível de significância de 5% (p=0,1838);

2. promoveu contração cutânea imediata de 52,18% (p<0,0001) e esta se manteve até 112 dias (p= 0,0045);

3. promoveu deposição dérmica de fibras colágenas finas, regulares e dispostas paralelas à epiderme em zona de fibroplasia, que se manteve até 112dias;

4. não foram visibilizadas fibras elásticas na zona de fibroplasia durante o período de 112dias.

REFERÊNCIAS

- ACHAUER, B.M. Lasers in plastic surgery: current practice. **Plast. Reconstr. Surg.**, v.99, n.5, p. 1442-1449, Apr. 1997.
- ADAMSON, J.E.; HORTON, C.E.; CRAWFORD, H.H.; AYERS, W.T. Studies on the action of dimethyl sulfoxide on the experimental pedicle flap. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 39, n. 2, p. 142-146, Feb. 1967.
- AKER, J.S.; MANCOLL, J.; LEWIS, B.; COLEN, L.B. The effect of pentoxifylline on random-pattern skin-flap necrosis induced by nicotine treatment in the rat. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 39, n. 2, p. 142-146, Feb. 1997.
- ALSTER, T.S.; LEWIS, A.B. Dermatologic laser surgery. **Dermatol. Surg.**, vol. 22, p. 797-805, 1996.
- ANDERSON, R.; PARRISH, J.A. Selective photothermolysis: Precise microsurgery by selective absorption of pulsed radiation. **Science**, v. 220, p. 524-527, 1983.
- ANGEL, M.F.; RAMASASTRY, S.S.; NARAYANAN, K.; ZERBE, A.; SWARTZ, W.M.; FUTREL, J.W. Studies on the nature of the flap/bed interaction in rodents- Part II: Morphological and fluorescein kinect data. **Ann. Plast. Surg.**, v. 17, n. 5, p. 434-439, Nov. 1986.
- ANGEL, M.F.; RAMASASTRY, S.S.; SWARTZ, W.M.; NARAYANAN, K.; KUHNS, D.B.; BASFORD, R.E.; FUTREL, J.W. The critical relationship between free radicals and degrees of ischemia: evidence for tissue intolerance of marginal perfusion. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 81, n. 2, p. 233-239, Feb. 1988.
- AUERSVALD, A. **Estudo experimental em ratos da ablação da pele com laser CO₂ Ultrapulsado**. Curitiba, 1999. 87 f. Dissertação (Mestrado em Princípios da Cirurgia) - IPEM, Faculdade Evangélica do Paraná.
- BAKER, T.J. Chemical face peeling and rhytidectomy-A combined approach for facial rejuvenation. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 29, n. 2, p. 199-207, Feb. 1962.
- BAKER, T.J.; GORDON, H.L.; MOSIENKO, P.; SECKINGER, D.L. Long-term histological study of skin after chemical face peeling. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 53, n. 5, p. 522-525, May. 1974.
- BAKER, T.J. Discussion by: LITTON, C.; TRINIDAD, G. Complications of chemical face peeling as evaluated by a questionnaire - **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 67, n. 6, p. 744, Jun. 1981.
- BASS, L.S.; MOAZAMI, N.; POCSIDIO, J.; OZ, M.C.; LOGERFO, P.; TREAT, M.R. Changes in type I collagen following laser welding. **Lasers Surg. Med.**, vol. 12, p. 500-505, 1992.
- BANCROFT, J.D.; STEVENS, A. **Theory and practice of histological techniques**. London: Churchill Livingstone, 1982.
- BECKER, F.F. Circumoral chemical peel combined with cervicofacial rhytidectomy. **Arch. Otolaryngol.**, v. 109, p. 174-175, Mar. 1983.

- BEKERECIOGLU, M.; TERCAN, M.; OZYAZGAN, I. The effect of ginkgo biloba extract (Egb 761) as a free radical scavenger on the survival of skin flaps in rats. A comparative study. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand. Surg.**, v. 32, n. 2, p. 135-139, Jun. 1998.
- BIREME - CENTRO LATINO-AMERICANO E DO CARIBE DE INFORMAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. **DeCS - Descritores em Ciências da Saúde: lista alfabética**. 3^oed. São Paulo, 1996.
- COHEN, B.E.; HARMON, C.S.; PHIZACKERLEY, P.J.R. Glucose metabolism in experimental skin flaps. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 71, n. 1, p. 79-85, Jan. 1983.
- CRAWFORD, D.T.; BAINS, J.W.; KETCHAM, A.S. A standard model for tensiometric studies. **J. Surg. Res.**, v.5, n.6, p. 265-269, Jun. 1965.
- DAVIS, R.E.; COHEN, J.I.; ROBINSON, J.E.; URBEN, S.L.; COOK, T.A. Ketorolac (Toradol) an acute random-pattern skin flap survival in rat. **Arch. Otolaryngol Head Neck Surg.**, v. 121, n. 6, p. 673-677, Jun. 1995.
- DINGMAN, D.L.; HARTOG, J.; SIEMIONOW, M. Simultaneous deep-plane face lift and trichloroacetic acid peel. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 93, n. 1, p. 86-93, Jan. 1994.
- FELSHER, Z. Observations on senile elastosis. **J. Invest. Dermatol.**, v. 37, p. 163-165, 1961.
- FULTON, J.E. Simultaneous face lifting and skin resurfacing. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 102, n. 7, p. 2480-2489, Dec. 1998.
- GELMAN, R.A.; BLACKWELL, J.; KEFALIDES, N.A.; TOMICHEK, E. Thermal stability of basement membrane collagen. **Biochim. Biophys. Acta** , vol. 427, p. 492-496, 1976.
- GILLMAN, T.; PENN, J.; BRONKS, D.; ROUX, M. Abnormal elastic fibers. **Arc. Pathol.**, v. 59, p. 733-749, 1955.
- GOODMAN, G. J. The limitations of skin resurfacing techniques-The necessity to combine procedures. **Dermatol. Surg.**, vol. 24, p. 687-688, 1998.
- GRAF, R.M.; BERNARDES, A.; AUERSWALD, A.; NORONHA, L. Full-face laser resurfacing and rhytidectomy **Aesth. Plast. Surg.**, v. 23, p. 101-106, 1999.
- GRAF, R.M. **Efeitos de contração cutânea e fibroplasia causados pelo laser Erbium:YAG em pele de ratos**. Curitiba, 2000. 103 f. Dissertação (Mestrado em Princípios da Cirurgia) - IPEM, Faculdade Evangélica do Paraná.
- GREGORY, R. O. Laser physics and physiology. **Clin. Plast. Surg.**, vol. 25, n. 1, p. 89-93, Jan. 1998.
- GROSS, J. Thermal denaturation of collagen in the dispersed and solid state. **Science**, v. 143, p. 960-961, Fev. 1964.
- GUYURON, B.; MICHELOW, B.; SCHMELZER, R.; THOMAS, T.; ELLISON, M.A. Delayed healing of rhytidectomy flap resurfaced with CO₂ laser. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 101, n. 3, p. 816-819, Mar. 1998.
- HAMMOND, D.C.; BROOKSHER, R.D.; MANN, R.J.; BEERNINK, J.H. The dorsal skin-flap model in the rat: Factors influencing survival. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 91, n. 2, p. 316-321, Feb. 1993.

HAYDEN, R.E.; SNYDER, B.J. Pharmacologic manipulation of random skin flaps with pentoxifylline. **Laryngoscope**, vol. 103, n. 2, p. 185-188, Feb. 1993.

HRUZA, G. J.; DOVER, J. S. Laser skin resurfacing. **Arch. Dermatol.**, vol. 132, n. 4, p. 469-471, Apr. 1996.

INTERNATIONAL COMITEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. **Nomina Anatomica Veterinaria**. 3° ed. New York: Ithaca, 1983.

KAUFMAN, T.; ANGEL, M.F.; EICHENLAUB, E.H.; LEVIN, M.; HURWITZ, D.J.; FUTREL, J.W. The salutary effects of the bed on the survival of experimental flaps. **Ann. Plast. Surg.**, v. 14, n. 1, p. 64-73, Jan. 1985.

KERRIGAN, C.L. Skin-flap failure: Pathophysiology. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 72, n. 6, p. 766-777, Dec. 1983.

KIRSCH, K.M.; ZELICKSON, B.D.; ZACHARY, C.B.; TOPE, W.D. Ultrastructure of collagen thermally denatured by microsecond domain pulsed carbon dioxide laser. **Arch. Dermatol.**, vol. 134, p. 1255-1259, Oct. 1998.

KLIGMAN, A.M. Early destructive effect of sunlight on human skin. **J.A.M.A.**, v. 210, n. 13, p. 2377-2380, Dec. 1969.

KHOURI, R.K.; ANGEL, M.F.; EDSTROM, J.E. Standardizing the dorsal rat flap. **Surg. Forum**, v. 37, p. 590-591, 1986.

KHOURI, R.K.; EDSTROM, J.E.; ANGEL, M.F. The dorsal rat flap: An appraisal of the model. **Surg. Forum**, v. 38, p. 598-599, 1987.

LAWRENCE, W.T.; MURPHY, M.C.; ROBSON, M.C.; HEGGERS, J.P. The detrimental effect of cigarette smoking on flap survival: an experimental study in the rat. **Br. J. Plast. Surg.**, v. 37, p. 216-219, 1984.

LENT, W. M.; DAVID, L. M. Laser-assisted rhytidectomy. **Dermatol. Surg.**, vol. 21, p. 1039-1041, 1995.

LITTON, C. Chemical face lifting. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 29, n. 4, p. 371-380, Apr. 1962.

LITTON, C.; TRINIDAD, G. Complications of chemical face peeling as evaluated by a questionnaire. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 67, n. 6, p. 738-743, Jun. 1981.

MAIMAN, T.H. Stimulated optical radiation in ruby. **Nature**, n. 187, p. 493-494, Aug. 1960.

MAYL, N.; FELDER, D.S. CO2 laser resurfacing over facial flaps. **Aesthet. Surg. J.**, v. 17, n. 5, p. 285-292, Sep.-Oct. 1997.

McFARLANE, R.M.; DeYOUNG, G.; HENRY, R.A. The desing of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 35, n. 2, p. 177-182, Feb. 1965.

McFARLANE, R.M.; HEAGY, F.C.; RADIN, S.; AUST, J.C.; WERMUTH, R.E. A study of the delay phenomenon in experimental pedicle flaps. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 35, n. 3, p. 245-262, Mar. 1965.

McFARLANE, R.M.; WERMUTH, R.E. The use of hyperbaric oxigen to prevent necrosis in experimental pedicle flaps and composite skin grafts. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 37, n. 5, p. 422-430, May. 1966.

MITCHELL, R.E. Chronic solar dermatosis: A light and electron microscope study of the dermis. **J. Invest. Dermatol.**, v. 48, n. 3, p. 203-220, 1967.

MONTAGNA, W.; CARLISLE, K. Structural changes in aging human skin. **J. Invest. Dermatol.**, v. 73, n. 1, p. 47-53, Jul. 1979.

MONTEIRO, D.T.; SANTAMORE, W.P.; NEMIR, P. The influence of pentoxifylline on skin-flap survival. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 77, n. 2, p. 277-281, Feb. 1986.

MOST, D.; HOYT, J.; SIBLEY, R.K.; PRESS, B.H.J. Parenchymal cytokine expression precedes clinically observed ischemia in dorsal flaps in the rat. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 98, n. 5, p. 856-861, Oct. 1996.

NANNI, C. A.; ALSTER, T. S. Complications of cutaneous laser surgery. A review. **Dermatol. Surg.**, vol. 24, n. 2, p. 209-219, Feb. 1998.

NOLAN, J.; JENKINS, R.A.; KURIHARA, K.; SCHULTZ, R.C. The acute effects of cigarette smoke exposure on experimental skin flaps. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 75, n. 4, p. 544-549, Apr. 1985.

PARRISH, J.A.; ZAYNOUN, S.; ANDERSON, R.R. Cumulative effects of repeated subthreshold doses of ultraviolet radiation. **J. Invest. Dermatol.**, v. 76, n. 5, p. 356-358, Maio 1981.

REINISCH, J.F. The pathophysiology of skin flap circulation-The delay phenomenon. **Plast. Reconstr. Surg.**, v.54, n.5, p. 585-598, Nov. 1974.

ROBERTS III, T.L. The emerging role of laser resurfacing in combination with traditional aesthetic facial plastic surgery. **Aesth. Plast. Surg.**, v. 22, p. 75-80, 1998.

RODRIGUES, R.G. **Efeitos de contração cutânea e fibroplasia causados pelo laser CO₂ ultrapulsado em pele de ratos.** Curitiba, 2000. 74 f. Dissertação (Mestrado em Princípios da Cirurgia) - IPEM, Faculdade Evangélica do Paraná.

ROHRICH, R.J. Completing the cosmetic surgery cycle: It takes a village. **Plast. Reconstr. Surg.**, v.103, n.2, p. 585-587, Feb. 1999.

ROSENBERG, G.J.; GREGORY, R.O. Lasers in aesthetic surgery. **Clin. Plast. Surg.**, vol. 23, n. 1, p. 29-48, Jan. 1996.

ROSS, E. V.; BARNETTE, D.J.; GLATTER, R.D.; GREVELINK, J.M. Effects of overlap and pass number in CO₂ laser skin resurfacing: A study of residual thermal damage, cell death, and wound healing. **Lasers Surg. Med.**, vol. 24, p. 103-112, 1999.

RUDOLPH, R.; WOODWARD, M. Ultrastructure of elastosis in facial rhytidectomy skin. **Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 67, n. 3, p. 295-304, Marc. 1981.

SAMS, W.M.; SMITH, J.G. The histochemistry of chronically sun-damaged skin. **J. Invest. Dermatol.**, v. 37, p. 447-453, 1961.

SCHOBER, R.; ULRICH, F.; SANDER, T.; DURSELEN, H.; HESSEL, S. Laser-induced alteration of collagen substructure allows microsurgical tissue welding. **Science**, v. 232, p. 1421-1422, 1986.

SCHUSTER, R.H.; GAMBLE, W.B.; HAMRA, S.T.; MANSON, P.N. A comparison of flap vascular anatomy in three rhytidectomy techniques. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 95, n. 4, p. 683-690, Apr. 1995.

SCHWEIZER, M.P.; SYLVESTER, J.; CHICK, L.R.; TANG, P.P.Z. In vivo P-NMR studies of age and energy metabolism in an animal flap model. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 96, n. 2, p. 429-435, Aug. 1995.

SECKEL, B. R.; YOUNAI, S.; WANG, K. K. Skin tightening effects of the ultrapulse CO₂ laser. **Plast. Reconstr. Surg.**, vol. 102, n. 3, p. 872-877, Sep. 1998.

SHUSTER, S.; BOTTOMS, E. Senile degeneration of skin collagen. **Clin. Sci.**, v. 25, p. 487-491, 1963.

SIEGEL, SIDNEY. **Nonparametric statistics**. New York: McGraw-Hill Book Company Inc., 1956.

SINGER, A.J.; CLARK, R.A.F. Cutaneous wound healing **New England J. Med.**, v. 341, n. 10, p. 738-746, Sep. 1999.

SPIRA, M.; DAHL, C.; FREEMAN, R.; GEROW, F.J.; HARDY, S.B. Chemosurgery - a histological study. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 45, n. 3, p. 247-253, Mar. 1970.

SPIRA, M.; GEROW, F.J.; HARDY, S.B. Complications of chemical face peeling. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 67, n. 6, p. 738-744, 1974.

STRIGER, H.; PARR, J. Shrinkage temperature of eye collagen. **Nature**, n. 204, p. 1307, Dec. 1964.

TANG, J.; GODLEWSKI, G.; RUOY, S.; DELACRETAZ, G. Morfologic changes in collagen fibers after 830 nm diode laser welding. **Lasers Surg. Med.**, vol. 21, p. 438-443, 1997.

TRELLES, M. A.; DAVID, L. M.; RIGAU, J. Penetration depth of ultrapulse carbon dioxide laser in human skin. **Dermatol. Surg.**, vol. 22, n. 10, p. 863-865, Oct. 1996.

UITTO, J. ; FAZIO, M.J.; OLSEN, D.R. Molecular mechanisms of cutaneous aging. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 21, n. 3, p. 614-622, Sept. 1989.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Biblioteca Central. **Normas para apresentação de documentos científicos**. Curitiba : Editora da UFPR, 2000. 10 v.

WEINSTEIN, C. A. Carbon dioxide laser resurfacing. Long-term follow-up in 2123 patients. **Clin. Plast. Surg.**, vol. 25, n. 1, p. 109-130, Jan. 1998a (p.95).

WEINSTEIN, C. A. Carbon dioxide laser resurfacing combined with endoscopic forehead lift, laser blepharoplasty, and transblepharoplasty corrugator muscle resection. **Dermatol. Surg.**, vol. 24, p. 63-67, 1998b (p.99).

WEST, M.D. The cellular and molecular biology of skin aging. **Arch. Dermatol.**, vol. 130, p. 87-95, Jan. 1994.

WHETZEL, T.P.; MATHES, S.J. The arterial supply of the face lift flap. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 100, n. 2, p. 480-486, Aug. 1997.

WHETZEL, T.P.; STEVENSON, T.R. The contribution of the SMAS to the blood supply in the lateral face lift flap. **Plast. Reconstr. Surg.**, v. 100, n. 4, p. 1011-1018, Sep. 1997.

ZWEIG, A.D.; MEIERHOFER, B.; MULER, O.M. et al. Lateral thermal damage along pulsed laser incisions. **Lasers Surg. Med.**, vol. 10, p. 262-274, 1990.

APÊNDICE 1 - ENVELHECIMENTO CUTÂNEO

O estudo do envelhecimento cutâneo está diretamente ligado ao aprimoramento de equipamentos ópticos e eletrônicos de visibilização e ao desenvolvimento de técnicas histológicas e histoquímicas. Já em 1896, Unna descreveu reações tintoriais diferentes entre dois tipos de fibras presentes na pele, nomeadas por ele colágeno e elastina (UNNA, citado por GILLMAN et al., 1955).

Até 1950, os conceitos sobre envelhecimento cutâneo não diferiam muito dos propostos por Unna. As alterações teciduais mais descritas na literatura em derme que sofreu dano de radiação ultravioleta são a “degeneração basofílica” do colágeno, detectada se Hematoxilina é usada como corante, e um aumento nas fibras “elásticas”, se corantes com afinidade para estas são utilizados.

GILLMAN et al. (1955) baseados na morfologia e em reações tintoriais, descobriram que era possível distinguir entre fibras elásticas normais e fibras “pseudoelásticas”, propondo o termo “degeneração elastótica” para este achado da pele com dano actínico. Sugeriram que estas fibras anormais poderiam ser formadas devido à degeneração de colágeno preexistente, ou como resultado de distúrbios no processo metabólico normal de produção e deposição de fibras colágenas e reticulares da pele.

FELSHER (1961), comparando por reações físico-químicas fibras colágenas e elásticas com fibras da “degeneração elastótica”, observou que suas propriedades se pareciam mais com fibras elásticas. Analisando os aminoácidos das fibras alteradas, constatou uma quantidade muito menor de hidroxiprolina que a contida no colágeno, sugerindo a origem elástica da “degeneração elastótica”.

SAMS e SMITH (1961) afirmaram a importância dos mucopolissacárides como parte integrante do tecido conectivo. No seu estudo histoquímico da pele com dano actínico, concluíram que existe aumento do conteúdo de mucopolissacárides ácidos. Referiram que a basofilia desta pele danificada poderia ser devida à reatividade de seus grupos ácidos, provavelmente carboxil.

SHUSTER e BOTTOMS (1963) realizaram biópsias de pele em indivíduos jovens e idosos para dosar a hidroxiprolina, aminoácido que participa exclusivamente na síntese da molécula do colágeno. Concluíram que existe uma relação direta entre o conteúdo de colágeno e a espessura da pele e uma relação inversa com o envelhecimento e que a diminuição de colágeno é influenciada pelo sexo, carga genética, fatores constitucionais e exposição à radiação solar.

MITCHELL (1967), realizando estudo com microscopia eletrônica, demonstrou grande desorganização nas fibras colágenas, reticulares e elásticas na derme com dermatose solar crônica. As fibrilas de colágeno, que normalmente estão perfeitamente alinhadas, próximas e definidas, apresentavam-se degradadas e desorientadas. As massas orceínicas da “degeneração elastótica” pareciam ser formadas de colágeno degradado e elastina alterada.

KLIGMAN (1969), realizando estudo histológico em jovens e idosos, brancos e negros, cronicamente expostos ao sol e não, concluiu que é a exposição solar e não a idade o principal fator responsável pelas graves manifestações do envelhecimento cutâneo, recomendando evitar exposição solar entre 10 e 15 horas e a utilização de protetores solares.

MONTAGNA e CARLISLE (1979), utilizando-se de microscópica óptica e eletrônica em pele de pessoas de idade variadas, de áreas expostas ou não ao sol, concluíram que as alterações teciduais que ocorrem com o envelhecimento estão presentes em áreas expostas ou não, diferente do dano actínico, presente apenas em áreas cronicamente expostas ao sol e não fotoprotegidas.

RUDOLPH e WOODWARD (1981), estudando pele facial ressecada em ritidectomias por meio de microscópica eletrônica, sugeriram que o material elastótico da pele com dano solar é produto proveniente de fibroblastos danificados por radiação e não constituído por colágeno e elastina degenerados.

PARRISH, ZAYNOUN e ANDERSON (1981), estudando pele de voluntários brancos, concluíram que a exposição diária a doses de radiação ultravioleta A e B abaixo da dose mínima para produzir eritema (MED), lesaria ácidos nucleicos de queratinócitos, produziria morte celular na epiderme e induziria a hiperpigmentação melânica. Era conceito que exposição ultravioleta a doses menores que o MED teriam pouco efeito sobre a pele e que não causaria danos permanentes e a longo prazo.

UITTO, FAZIO e OLSEN (1989) propuseram que as alterações cutâneas associadas ao envelhecimento resultam de dois processos independentes, o envelhecimento cutâneo e o dano actínico, sugerindo que estes respondem a diferentes mecanismos biológicos, bioquímicos e moleculares.

WEST (1994) refere a derme envelhecida como mais desorganizada, mais avascular e mais acelular. O colágeno, que corresponde a 70% do peso seco da derme, perde o aspecto fascicular de suas fibrilas, que se apresentam engrossadas, de aspecto granular e desorientadas em relação ao plano da pele, apresenta-se mais compacto, devido à diminuição de proteoglicanos da matriz dermal (ácido hialurônico e o dermatam sulfato) que se ligam à água, sendo os responsáveis pela hidratação da pele.

A elastina, apesar de representar apenas 2% do total de proteínas da derme, supre a pele com importantes propriedades elásticas. Elas decrescem em número e diâmetro e freqüentemente se apresentam fragmentadas e com margens indefinidas. A presença de abundante material elastótico na pele com lesão actínica é característica; não se sabe ainda sua constituição correta, mas não são fibras elásticas funcionais.

Com o envelhecimento, há uma diminuição da vascularidade e dos mastócitos em 50%. Estas células são produtoras de fatores angiogênicos e a sua diminuição na derme deve ter um papel na diminuição dos vasos.

APÊNDICE 2 - PRINCÍPIOS DO LASER

2.1 FÍSICA DO LASER

Os equipamentos para a geração do laser transformam energia elétrica em energia luminosa. A energia do laser, embora luz, pode ser invisível ao olho humano, devido ao fato de olhos humanos captarem energia luminosa de comprimento de onda entre 0,4 e 0,7 micrômetros (μm) ou 400 e 700 nanômetros (nm), faixa essa denominada luz visível.

O laser de CO_2 é um laser de radiação infravermelha invisível ao olho humano, apresentando comprimento de onda de 10,6 μm ou 10.600 nm. A luz laser, vista no funcionamento dos aparelhos, é de um laser de radiação visível que serve de guia para a realização dos procedimentos terapêuticos (GREGORY, 1998).

Os lasers são fontes de energia luminosa com características bem definidas:

1. único comprimento de ondas (monocromaticidade);
2. sem divergência dos raios, mesmo por grandes distâncias (colimados);
3. ondas em mesma fase no tempo e espaço (coerência);
4. pulsos de curta duração.

Tais características permitem alta concentração de energia luminosa (fótons) em pequena área e em curto espaço de tempo (NANNI e ALSTER, 1998).

A emissão luminosa do laser inicia-se na excitação de elétrons de um elemento químico por uma fonte energética externa luminosa ou elétrica. Quando elétrons são atingidos por fótons de determinada energia, absorvem-na e movem-se para níveis energéticos localizados em órbitas mais distantes do núcleo atômico. Essa configuração energética com elétrons excitados é instável; portanto, em um curto espaço de tempo, esses elétrons retornarão ao seu nível orbitário (e energético) original, com a liberação de energia em forma de um fóton exatamente do mesmo comprimento de onda e frequência do fóton que inicialmente o atingiu (emissão espontânea). A emissão espontânea gera fótons monocromáticos, de direção aleatória e sem coerência.

No entanto, se um fóton atinge um elétron que já se encontra excitado, esse elétron retorna ao seu nível energético original, com a liberação de um fóton por emissão espontânea, e de mais um fóton que apresenta a mesma direção (unidirecionalidade) e a mesma fase (coerência) do fóton que o atingiu. Dessa maneira, enquanto um fóton atinge o átomo, dois fótons são liberados e iniciam uma reação em cadeia de progressão exponencial. Esse fenômeno é denominado emissão estimulada e é a base da emissão do laser (MAIMAM, 1960).

Para se obter a emissão estimulada de determinada substância, ela deve contar com a maior parte dos seus elétrons em uma órbita mais energética (inversão populacional). Para isso acontecer é necessário que se forneça energia ao sistema. Nos lasers a gás como o de CO₂, essa energia é fornecida por uma descarga elétrica, que passa através de um meio gasoso, que é um tubo de vidro que contém gás CO₂ (ROSENBERG e GREGORY, 1996).

2.2 INTERAÇÃO LASER-TECIDO

Os fundamentos da interação laser tecido são bem conhecidos, sendo as quatro interações primárias constituídas pela reflexão, difusão, absorção e transmissão.

Quando chega à superfície do tecido, uma pequena quantidade do laser é refletido. Penetrando no tecido, alguma luz sofre difusão para novas direções, porém seus efeitos tem pouca importância. Chegando à substância-alvo, a energia é absorvida e transformada em calor, que eventualmente pode ser transmitida pelo tecido, podendo causar um dano térmico adicional em torno do alvo (ALSTER e LEWIS, 1996).

As substâncias-alvos são conhecidas como cromóforos, que são substâncias com afinidade absorptiva para determinado comprimento de onda da energia laser. Os cromóforos primários da pele são a hemoglobina, a melanina e a água. Os cromóforos podem, também, ser de fontes exógenas, como os pigmentos de tatuagem. Para o laser de CO₂, o cromóforo-alvo é a água (ACHAUER, 1997).

A reação tecidual decorrente do uso de laser é consequência da chamada fototermólise seletiva, ou seja, é o fenômeno em que o laser aumenta a temperatura do cromóforo-alvo. O efeito térmico se traduz em três efeitos clínicos: corte, coagulação e ablação do tecido. Na fototermólise seletiva a difusão térmica é limitada, se o tempo de exposição ao laser for menor do que o tempo de relaxamento térmico específico de cada tecido. Assim, o dano térmico ao redor dos tecidos é minimizado, e somente o tecido alvo é afetado (ANDERSON e PARRISH, 1983).

O tempo de relaxamento térmico é o período requerido para o tecido aquecido perder 50% do calor adquirido por meio da difusão. O tempo necessário para o calor percorrer uma distância é proporcional ao quadrado da distância. Portanto, se após 1 segundo o tecido que estiver 1 milímetro (mm) abaixo da superfície alcançou 70°C, então, para que 2 mm do tecido alcancem a mesma temperatura, requerer-se-á um tempo de 4 segundos. O valor do tempo de relaxamento térmico para a pele humana é estimado em 1 ms ou 1000 μ s (HRUZA e DOVER, 1996).

A fluência de energia, expressa em Joules/cm² (J/cm²), determina se um tecido se vaporiza ou conduz calor. A vaporização ocorre quando a fluência aumenta a temperatura tecidual acima de 100°C, em tempo menor do que o de seu relaxamento térmico. Ocorre desnaturação protéica ou carbonização, quando a fluência não for suficiente para atingir temperatura tecidual de 100°C e não houver energia suficiente para evaporação da água. A fluência em média utilizada para ablação no rejuvenescimento a laser de CO₂ é de 5.0 J/cm². A duração do pulso do laser também afeta a eficiência da ablação em um relacionamento inverso. Pulsos breves causam maior ablação e menor coagulação (TRELLES, DAVID e RIGAU, 1996).

O conteúdo de água da pele não é uniforme. A epiderme é composta de células que contêm 90% de água e 10% de proteínas e lipídeos. Após uma aplicação do laser, a epiderme é vaporizada, e uma porção da derme é atingida. Como a derme é composta predominantemente por proteínas fibrosas (colágeno e elastina), o conteúdo de água da derme está praticamente na matriz dermal e é, aproximadamente, de 30%.

Então, uma segunda aplicação não produzirá a mesma quantidade de ablação tecidual, porque o laser CO₂ coagula as proteínas da derme e os vasos sanguíneos, provocando a dissecação da camada superior remanescente da primeira aplicação (dano térmico residual). A segunda aplicação libera tanto calor quanto a primeira, portanto, se uma grande parte do calor não é usada para realizar ablação tecidual, a carga térmica do tecido aumenta.

Em outras palavras, há maior dispersão térmica dentro da derme, causando, após cada passada, um efeito de ablação progressivamente diminuído e um efeito de dano térmico residual progressivamente aumentado (WEINSTEIN, 1998a).

APÊNDICE 3 - ASSOCIAÇÃO DO LASER COM A RITIDOPLASTIA

A ritidoplastia como cirurgia para melhorar a aparência e rejuvenescer as pessoas já está estabelecida há décadas. Mas este procedimento cirúrgico não atua sobre um importante fator que leva as pessoas a se sentirem feias e envelhecidas, que seria a qualidade de sua pele, o que inclui aspectos tão variados como rugas, manchas e cicatrizes.

Buscando melhor resultado, propôs-se associar a ritidoplastia a outros métodos. LITTON (1962) relatou a realização de *peeling* de fenol, semanas após a ritidoplastia, para melhorar o ganho estético.

No mesmo ano, BAKER (1962) descreveu a realização de ritidoplastia facial e *peeling* de fenol na região frontal não descolada no mesmo tempo operatório, seguido de *peeling* de fenol do restante da face após três semanas do procedimento cirúrgico.

Outros autores, como SPIRA et al. (1970), descreveram procedimentos semelhantes com outros *peelings* químicos e dermoabrasões, mas como regra nunca sobre áreas que foram cirurgicamente seccionadas. Temia-se que estes procedimentos poderiam aumentar as complicações da ritidoplastia, como infecção, cicatrização retardada e principalmente a necrose do retalho.

A partir destes e de outros trabalhos de influentes médicos como BAKER (1974), o *peeling* químico com fenol ganhou espaço no arsenal terapêutico de muitos cirurgiões plásticos como procedimento para se alcançar o rejuvenescimento facial, sendo realizado após ou concomitantemente a ritidoplastias em áreas não descoladas, principalmente na região perioral.

Mas, com a disseminação das técnicas e a sua utilização por profissionais sem treinamento específico, começaram a serem publicados relatos como o de SPIRA, GEROW e HARDY (1974), que descreveram importantes complicações do *peeling* de fenol.

LITTON e TRINIDAD (1981) publicaram resultado de questionário enviado a todos os cirurgiões plásticos dos Estados Unidos da América. Dos que responderam, 74% afirmaram já ter utilizado o *peeling* de fenol, relatando sérias complicações no seu uso, como alterações de pigmentação em 21% dos pacientes, cicatrizes permanentes também em 21% e arritmias cardíacas por toxicidade em 13%.

Apesar de BAKER (1981) ter defendido que este alto índice de complicações era devido a uma má seleção e aplicação do procedimento por médicos pouco experientes, diminuiu o entusiasmo em seu uso, ficando praticamente restrito à correção de rugas periorais, como descrito por BECKER (1983), pois é região restrita em área, diminuindo a absorção do fenol, e de pele espessa, ricamente vascularizada e nunca descolada em ritidoplastias.

A evolução das técnicas de ritidoplastia, com disseções em planos mais profundos, e das técnicas de *peeling*, utilizando substâncias menos agressivas como o ácido tricloroacético (TCA), estimularam autores como DINGMAN, HARTOG e SIEMIONOW (1994) a propor a realização simultânea de *peelings* químicos e ritidoplastias, advogando a segurança do procedimento, até mesmo para áreas descoladas, suscitando intensa discussão.

Nessa época, vários trabalhos em cadáveres humanos foram publicados, dando embasamento científico a tal discussão. SCHUSTER et al. (1995) compararam a anatomia vascular dos retalhos em três técnicas de ritidoplastia, demonstrando que a técnica que mais lesa o sistema vascular é a que se utiliza de dois retalhos sobrepostos (o SMAS e o retalho dermogorduroso), a técnica de disseção sub-SMAS ocupa posição intermediária, e a que menos lesa a vasculatura é a técnica sub-periostal.

Os autores WHETZEL e MATHES (1997), estudando o retalho facial dermogorduroso, observaram que lateralmente o fluxo recebido da artéria transversa da face é muito importante, principalmente em fumantes. Concluem que, devido à sua posição previsível, deve ser preservada na dissecação cirúrgica, evitando assim que a porção pré-auricular do retalho dependa apenas do fluxo advindo de seu pedículo.

WHETZEL e STEVENSON (1997), estudando o papel do SMAS no fluxo sanguíneo do retalho facial, observaram que poderia o retalho facial ser elevado em plano único, contendo o SMAS, ou em plano superficial ao SMAS, desde que se preserve a artéria transversa da face, não se observa diferença significativa do fluxo distal. Com esse estudo, diminuiu-se a importância anteriormente dada ao SMAS como componente necessário a um adequado fluxo do retalho.

Não tardou que se propusesse a utilização do laser em ritidoplastias. Como os primeiros aparelhos causavam grande dano térmico, LENT e DAVID (1995) não se arriscaram a aplicá-lo sobre o retalho, mas apenas como instrumento de corte e coagulação, não relatando complicações e concluindo ser o laser uma opção à técnica tradicional de bisturi e tesoura.

Com o desenvolvimento da tecnologia de laser de CO₂ ultrapulsado, que provoca dano térmico residual limitado na derme, MAYL e FELDER (1997) relataram ter realizado *resurfacing* associado a ritidoplastia em 40 pacientes em 2 anos, utilizando-se na dissecação de retalho dermogorduroso e de menor energia do laser na aplicação sobre o retalho, não relatando necrose em nenhum caso.

Outros autores realizaram procedimentos semelhantes com este mesmo laser:

WEINSTEIN (1998b), após ritidoplastias endoscópicas frontais, aplicou-o sobre o retalho composto frontal em 37 pacientes, não relatando alterações da cicatrização, necrose ou alopecia.

FULTON (1998), após aplicar o laser, realizou ritidoplastia com retalho dermogorduroso em 25 pacientes. Relatou pequena necrose em 2 pacientes, um em região pós-auricular, na qual não aplicara laser, e um em região pré-auricular (uma fumante que negara anteriormente o vício, que era critério de exclusão para o procedimento).

GUYURON et al. (1998) referiram um caso de cicatrização retardada e formação de cicatriz permanente em região pré-auricular de paciente no qual se associou ritidoplastia e laser. Opina que, apesar de ótimos resultados estéticos, essa associação é potencialmente perigosa pela possível lesão dos vasos subdérmicos.

ROBERT III (1998) expõe extensa experiência pessoal e recomenda que primeiro se dominem as técnicas de *resurfacing*, em no mínimo, 20 a 30 pacientes, antes de associá-la à ritidoplastia, para que as diferenças de pele de cada indivíduo (espessura, grau de hidratação e envelhecimento cutâneo) e patologias e vícios (hipertensão arterial e fumo) não impeça o cirurgião de avaliar a profundidade de lesão dérmica, prevenindo assim de lesar a nutrição do retalho.

GOODMAN (1998), em artigo de revisão, apregoa que só um cirurgião plástico atualizado poderá se valer de associação de métodos necessários para um completo e seguro rejuvenescimento e embelezamento de seus pacientes, opinião compartilhada por ROHRICH (1999) que, em editorial, refere ser a cirurgia cosmética um ciclo, no qual técnicas que foram abandonadas por serem ultrapassadas ou perigosas podem retornar, devido ao gênio humano que constantemente se desenvolve e aperfeiçoa, às vezes avançando para o passado.

GRAF et al. (1999) descreveram importante experiência na associação de *resurfacing* a laser e ritidoplastias, tendo realizado de 1996 à 1998 esta cirurgia em 106 pacientes, não apresentando em nenhum caso necrose do retalho.

ANEXO - TABELAS

TABELA 8 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO O PESO, EM GRAMAS, DO DIA 01 AO DIA 112

GRUPO / ANIMAL	DIA 01	DIA 14	DIA 28	DIA 56	DIA 84	DIA 112
1						
1	299	296	-	-	-	-
2	298	305	-	-	-	-
3	252	260	-	-	-	-
4	262	257	-	-	-	-
5	266	251	-	-	-	-
2						
1	299	308	319	-	-	-
2	268	269	287	-	-	-
3	253	250	277	-	-	-
4	279	281	292	-	-	-
5	263	272	303	-	-	-
3						
1	263	270	291	319	-	-
2	265	262	274	302	-	-
3	273	275	280	314	-	-
4	288	280	302	347	-	-
5	250	254	273	303	-	-
4						
1	263	260	273	304	334	-
2	290	289	321	334	347	-
3	261	268	270	292	308	-
4	269	265	272	286	315	-
5	255	254	275	294	319	-
5						
1	262	271	282	310	331	344
2	261	265	278	302	324	343
3	283	281	306	323	345	362
4	271	280	293	306	321	334
5	268	270	294	307	337	356
Peso Mínimo	250	250	270	286	308	334
Peso Máximo	299	308	321	347	347	362
Desvio Padrão	14,68	15,63	15,56	16,04	12,87	11,14
Peso Médio	270,44	271,72	288,10	309,53	328,10	347,80

TABELA 9 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO O PESO, EM GRAMAS, DO DIA 01 AO DIA 112

GRUPO / ANIMAL	DIA 01	DIA 14	DIA 28	DIA 56	DIA 84	DIA 112
1						
1	297	283	-	-	-	-
2	268	261	-	-	-	-
3	293	272	-	-	-	-
4	271	263	-	-	-	-
5	264	248	-	-	-	-
2						
1	281	265	299	-	-	-
2	251	247	270	-	-	-
3	290	277	308	-	-	-
4	254	256	281	-	-	-
5	282	286	298	-	-	-
3						
1	252	253	264	288	-	-
2	260	252	269	295	-	-
3	255	253	271	313	-	-
4	268	268	288	331	-	-
5	257	261	275	311	-	-
4						
1	280	271	283	304	339	-
2	299	283	311	332	346	-
3	258	240	267	290	320	-
4	254	253	272	288	309	-
5	275	262	281	296	323	-
5						
1	253	242	269	283	307	334
2	274	269	285	298	324	345
3	300	286	305	326	348	374
4	282	279	292	307	319	339
5	278	267	297	314	331	360
Peso Mínimo	251	240	264	283	307	334
Peso Máximo	300	286	311	332	348	374
Desvio Padrão	15,94	13,61	14,80	15,92	14,23	16,41
Peso Médio	271,84	263,88	284,25	305,07	326,60	350,40

TABELA 10 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO A ÁREA DO RETALHO, EM CM² E %, NO DIA 14

GRUPO / ANIMAL	ÁREA TOTAL		ÁREA DE VIABILIDADE		ÁREA DE NECROSE	
	cm ²	%	cm ²	%	cm ²	%
1						
1	29,6672	100,00	20,0688	67,65	9,5984	32,35
2	27,7292	100,00	21,3917	77,15	6,3375	22,85
3	29,4233	100,00	22,4861	76,42	6,9372	23,58
4	30,3094	100,00	21,6324	71,37	8,6770	28,63
5	31,4540	100,00	21,3344	67,83	10,1196	32,17
2						
1	28,4216	100,00	23,2259	81,72	5,1956	18,28
2	30,7997	100,00	21,6146	70,18	9,1851	29,82
3	30,3444	100,00	22,7132	74,85	7,6311	25,15
4	30,0982	100,00	22,9691	76,31	7,1290	23,69
5	27,6961	100,00	20,0131	72,26	7,6831	27,74
3						
1	30,3302	100,00	24,4199	80,51	5,9103	19,49
2	27,9898	100,00	19,1679	68,48	8,8220	31,52
3	25,5950	100,00	19,4693	76,07	6,1257	23,93
4	26,4035	100,00	18,1352	68,69	8,2682	31,31
5	30,8042	100,00	21,7364	70,56	9,0678	29,44
4						
1	26,9194	100,00	19,4168	72,13	7,5026	27,87
2	30,4203	100,00	23,4115	76,96	7,0088	23,04
3	32,4843	100,00	24,2612	74,69	8,2232	25,31
4	28,5496	100,00	20,6616	72,37	7,8881	27,63
5	28,0158	100,00	19,0445	67,98	8,9713	32,02
5						
1	30,9534	100,00	24,2799	78,44	6,6735	21,56
2	27,5938	100,00	19,1353	69,35	8,4586	30,65
3	27,9165	100,00	20,2529	72,55	7,6636	27,45
4	29,4510	100,00	19,1130	64,90	10,3380	35,10
5	29,4364	100,00	19,0766	64,81	10,3598	35,19
Área Mínima	25,5950	100,00	18,1352	64,81	5,1956	18,28
Área Máxima	32,4843	100,00	24,4199	81,72	10,3598	35,19
Desvio Padrão	1,6966	-	1,9073	4,62	1,3962	4,62
Área Média	29,1522	100,00	21,1612	72,57	7,9910	27,43

TABELA 11 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ÁREA DO RETALHO, EM CM² E %, NO DIA 14

GRUPO / ANIMAL	ÁREA TOTAL		ÁREA DE VIABILIDADE		ÁREA DE NECROSE	
	cm ²	%	cm ²	%	cm ²	%
1						
1	21,4432	100,00	15,0691	70,27	6,3742	29,73
2	20,1504	100,00	17,3758	86,23	2,7746	13,77
3	26,2485	100,00	17,8343	67,94	8,4142	32,06
4	19,9129	100,00	16,4155	82,44	3,4974	17,56
5	21,6608	100,00	16,5928	76,60	5,0680	23,40
2						
1	22,0993	100,00	18,1790	82,26	3,9202	17,74
2	25,1774	100,00	19,4886	77,41	5,6887	22,59
3	22,9221	100,00	18,4422	80,46	4,4799	19,54
4	21,6061	100,00	16,7587	77,56	4,8473	22,44
5	19,8154	100,00	14,5715	73,54	5,2439	26,46
3						
1	20,7454	100,00	13,5101	65,12	7,2353	34,88
2	19,7171	100,00	13,6882	69,42	6,0289	30,58
3	18,7853	100,00	15,2150	80,99	3,5703	19,01
4	19,9408	100,00	13,9301	69,86	6,0108	30,14
5	23,8639	100,00	18,9146	79,26	4,9493	20,74
4						
1	21,4389	100,00	15,5490	72,53	5,8899	27,47
2	21,7312	100,00	15,3348	70,57	6,3963	29,43
3	22,6006	100,00	16,8711	74,65	5,7294	25,35
4	18,7519	100,00	14,2587	76,04	4,4933	23,96
5	22,3115	100,00	16,4999	73,95	5,8117	26,05
5						
1	16,7233	100,00	11,6678	69,77	5,0556	30,23
2	15,7437	100,00	11,0065	69,91	4,7372	30,09
3	21,0380	100,00	15,7590	74,91	5,2790	25,09
4	20,4641	100,00	14,6779	71,73	5,7862	28,27
5	18,9084	100,00	13,5692	71,76	5,3391	28,24
Área Mínima	15,7437	100,00	11,0065	65,12	2,7746	13,77
Área Máxima	26,2485	100,00	19,4886	86,23	8,4142	34,88
Desvio Padrão	2,3339	-	2,1417	5,25	1,2012	5,25
Área Média	20,9520	100,00	15,6472	74,61	5,3048	25,39

TABELA 12 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO A ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO, EM CM², DO DIA 01 AO DIA 112

GRUPO / ANIMAL	DIA 01	DIA14	DIA28	DIA56	DIA84	DIA112
1						
1	5,2659	5,0747	-	-	-	-
2	4,9278	4,4877	-	-	-	-
3	5,2071	4,8825	-	-	-	-
4	4,9504	4,1147	-	-	-	-
5	5,1069	4,9228	-	-	-	-
2						
1	5,1829	4,9375	5,6338	-	-	-
2	5,7813	4,0113	4,5258	-	-	-
3	4,7968	4,6919	4,9026	-	-	-
4	5,7271	4,6945	5,4045	-	-	-
5	4,4510	4,1887	4,4812	-	-	-
3						
1	4,6536	4,4866	4,0500	5,7900	-	-
2	3,7198	3,8911	4,0889	5,0879	-	-
3	4,3376	4,5606	4,5107	4,6622	-	-
4	4,5240	3,7734	4,1403	5,1377	-	-
5	4,0168	4,1226	4,9200	5,5920	-	-
4						
1	5,3229	4,6205	4,1007	4,5491	6,1469	-
2	4,8147	4,4352	3,8489	5,2061	5,9776	-
3	5,4540	4,7398	3,6200	4,7330	5,4327	-
4	4,1855	3,8593	3,4971	4,4505	6,1372	-
5	4,7215	5,7607	3,6167	4,4216	5,1437	-
5						
1	4,0803	3,4237	3,3785	3,3709	4,5451	5,1888
2	4,1149	3,4195	3,3786	3,5763	4,3750	6,2881
3	3,9057	3,1164	3,1223	4,4066	5,2076	5,7374
4	5,2340	3,7575	3,4138	4,7192	5,8348	6,4705
5	4,3820	3,8553	3,2474	4,2030	4,5841	5,1796
Área Mínima	3,7198	3,1164	3,1223	3,3709	4,3750	5,1796
Área Máxima	5,7813	5,7607	5,6338	5,7900	6,1469	6,4705
Desvio Padrão	0,5731	0,6076	0,7238	0,6593	0,6780	0,6013
Área Média	4,7546	4,3131	4,0941	4,6604	5,3385	5,7729

TABELA 13 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO, EM CM², DO DIA 01 AO DIA 112

GRUPO / ANIMAL	DIA 01	DIA14	DIA28	DIA56	DIA84	DIA112
1						
1	2,3942	2,6496	-	-	-	-
2	2,5024	2,7603	-	-	-	-
3	2,4182	2,6087	-	-	-	-
4	2,9861	2,6655	-	-	-	-
5	2,6908	2,6521	-	-	-	-
2						
1	2,7051	2,9009	2,4149	-	-	-
2	2,1246	2,4926	2,3513	-	-	-
3	2,3491	2,4623	2,2127	-	-	-
4	2,2991	2,3578	2,1625	-	-	-
5	2,1627	2,4265	2,2105	-	-	-
3						
1	1,8746	2,0167	2,3852	2,4059	-	-
2	2,2400	2,5211	2,4556	2,4667	-	-
3	2,0685	2,0348	2,0352	2,2717	-	-
4	1,7756	2,0147	2,2784	2,5560	-	-
5	2,3543	2,3340	2,2120	2,5081	-	-
4						
1	2,4393	2,3278	2,5233	2,5659	3,2009	-
2	2,0923	2,0143	2,1239	1,9469	2,0165	-
3	1,7189	1,9638	2,0667	2,3069	2,4100	-
4	2,2153	2,2274	2,2684	2,3054	2,4820	-
5	1,9271	2,3714	1,8230	2,0221	2,1341	-
5						
1	2,3173	2,3711	2,1142	2,3741	2,5199	2,5643
2	2,4040	2,5369	2,5478	2,6071	2,9072	2,9557
3	2,2755	2,1991	2,1389	2,2669	2,5398	2,5040
4	2,1030	2,0504	2,3620	2,0470	2,5185	2,4051
5	2,4070	2,4840	2,6399	2,8016	2,7153	3,3371
Área Mínima	1,7189	1,9638	1,8230	1,9469	2,0165	2,4051
Área Máxima	2,9861	2,9009	2,6399	2,8016	3,2009	3,3371
Desvio Padrão	0,2894	0,2610	0,1977	0,2356	0,3435	0,3876
Área Média	2,2738	2,3777	2,2663	2,3635	2,5444	2,7532

TABELA 14 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM μm , NO DIA 14

MEDIDA	RATO 1	RATO 2	RATO 3	RATO 4	RATO 5
1	211,111	228,457	207,075	231,456	164,659
2	214,151	230,272	208,086	230,422	220,211
3	206,071	166,605	141,414	235,411	233,336
4	203,030	161,616	149,526	281,820	226,265
5	194,803	183,129	170,719	264,756	184,495
6	206,100	142,109	186,967	214,143	159,471
7	209,264	204,290	203,093	200,005	176,360
8	198,828	183,107	180,833	218,281	178,191
9	235,171	214,144	140,419	267,845	174,810
10	204,280	219,276	133,578	291,952	174,025
11	204,056	214,144	174,750	282,840	183,171
12	235,362	242,443	174,820	194,961	203,755
13	221,249	227,903	149,653	249,864	219,527
14	216,199	226,790	191,922	229,466	171,041
15	199,051	207,956	171,791	200,537	198,206
16	211,170	195,334	202,182	178,319	197,508
17	261,686	172,144	163,733	277,664	212,213
18	260,624	192,932	145,245	202,939	262,558
19	232,343	134,142	154,516	284,878	225,832
20	210,298	231,906	129,028	266,906	254,008
Espeçsura Mínima	194,803	134,142	129,028	178,319	159,471
Espeçsura Máxima	261,686	242,443	208,086	291,952	262,558
Desvio Padrão	19,070	31,261	25,436	35,337	29,771
Espeçsura Média	216,742	198,935	168,968	240,223	200,982

TABELA 15 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM μm , NO DIA 28

MEDIDA	RATO 1	RATO 2	RATO 3	RATO 4	RATO 5
1	178,479	216,607	173,459	241,946	257,553
2	159,998	235,187	174,283	235,810	189,781
3	168,399	258,564	164,842	259,374	190,920
4	249,405	219,752	147,841	257,593	284,140
5	224,390	202,436	130,037	313,146	202,400
6	208,054	189,754	168,054	230,524	257,930
7	200,715	200,665	229,966	320,259	202,567
8	206,548	221,532	141,170	237,537	224,420
9	229,362	161,446	216,179	234,356	284,814
10	209,556	209,093	137,095	232,299	219,380
11	150,008	238,564	212,121	212,166	261,834
12	271,131	263,034	122,422	230,662	239,873
13	247,870	264,895	199,144	221,028	257,702
14	274,050	251,026	124,804	226,823	222,702
15	248,417	144,533	163,452	246,038	208,851
16	218,640	207,366	218,560	296,058	183,863
17	253,859	159,698	181,756	301,317	198,992
18	272,077	213,421	160,831	246,700	187,947
19	169,190	131,616	164,473	266,253	185,927
20	174,861	246,458	137,556	203,455	261,940
Espeçsura Mínima	150,01	131,62	122,42	203,46	183,86
Espeçsura Máxima	274,05	264,90	229,97	320,26	284,81
Desvio Padrão	39,67	38,90	32,75	33,10	34,17
Espeçsura Média	215,75	211,78	168,40	250,67	226,18

TABELA 16 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM μm , NO DIA 56

MEDIDA	RATO 1	RATO 2	RATO 3	RATO 4	RATO 5
1	180,175	199,952	306,487	337,971	167,232
2	197,029	217,547	328,026	281,330	174,750
3	148,900	210,939	310,379	361,172	170,285
4	241,663	201,922	230,378	346,890	202,045
5	195,992	180,172	301,444	285,714	293,194
6	188,069	235,165	270,752	209,605	241,965
7	228,705	161,493	233,803	264,237	227,187
8	223,139	160,857	255,546	257,467	245,679
9	231,492	176,880	251,134	227,467	245,971
10	235,979	207,071	260,451	257,706	201,841
11	207,191	228,437	235,720	241,415	178,888
12	182,045	215,533	314,477	291,989	209,247
13	246,161	246,590	299,374	311,231	243,705
14	211,121	214,544	251,587	386,883	216,733
15	225,319	260,870	267,129	343,435	239,896
16	183,938	271,326	246,142	369,967	296,025
17	194,202	254,259	210,896	329,328	190,727
18	228,874	282,844	308,867	293,489	179,588
19	223,485	265,841	304,208	291,929	177,035
20	266,194	296,592	231,050	250,204	261,858
Espeçsura Míñima	148,90	160,86	210,90	209,61	167,23
Espeçsura Máxima	266,19	296,59	328,03	386,88	296,03
Desvio Padrão	28,11	39,34	35,14	49,98	39,58
Espeçsura Média	211,98	224,44	270,89	296,97	218,19

TABELA 17 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM μm , NO DIA 84

MEDIDA	RATO 1	RATO 2	RATO 3	RATO 4	RATO 5
1	325,409	258,148	390,591	268,134	290,916
2	321,314	276,886	339,688	295,815	246,473
3	284,850	253,664	336,388	309,337	261,741
4	255,717	267,854	331,313	317,810	266,674
5	268,689	286,870	279,844	370,905	312,123
6	338,535	256,764	334,172	357,611	335,354
7	308,246	241,423	346,123	362,796	297,987
8	282,917	240,438	340,534	282,284	250,538
9	198,992	241,467	398,998	314,148	297,526
10	231,315	261,644	376,128	315,152	331,758
11	340,091	254,643	313,140	311,157	325,723
12	298,005	227,293	289,117	205,448	265,751
13	379,532	262,626	393,197	249,130	242,459
14	351,799	191,592	389,803	288,843	284,877
15	319,367	265,169	386,958	254,289	270,860
16	300,005	276,872	367,765	277,239	265,764
17	368,037	199,154	362,621	229,435	281,834
18	375,756	255,564	400,010	184,183	313,342
19	347,485	206,261	372,703	254,549	252,702
20	304,052	208,279	374,749	301,010	252,032
Espeçsura Míñima	198,99	191,59	279,84	184,18	242,46
Espeçsura Máxima	379,53	286,87	400,01	370,91	335,35
Desvio Padrão	47,39	27,15	35,44	49,30	29,54
Espeçsura Média	310,01	246,63	356,19	287,46	282,32

TABELA 18 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM μm , NO DIA 112

MEDIDA	RATO 1	RATO 2	RATO 3	RATO 4	RATO 5
1	253,608	332,332	243,590	302,400	302,263
2	263,644	401,708	281,980	296,088	273,874
3	269,705	385,280	293,946	294,868	306,102
4	268,734	352,453	284,434	302,707	255,558
5	251,645	349,663	291,952	303,664	291,021
6	281,899	329,179	328,346	242,435	273,043
7	256,568	358,657	332,366	236,728	299,017
8	316,292	355,304	347,639	351,156	337,398
9	282,929	326,360	278,834	319,706	326,288
10	263,931	392,352	343,453	368,652	327,287
11	218,191	334,894	318,456	314,668	346,871
12	187,899	321,326	283,728	229,729	347,771
13	279,801	315,153	296,189	224,390	331,079
14	217,211	327,149	359,183	207,369	315,698
15	235,357	246,075	373,857	268,421	301,616
16	250,571	251,675	330,953	286,978	239,510
17	257,579	229,006	379,258	277,658	273,172
18	214,840	293,143	387,070	243,633	269,008
19	229,669	236,426	366,795	249,448	335,928
20	223,279	229,088	351,836	204,290	347,157
Espeçura Míñima	187,90	229,01	243,59	204,29	239,51
Espeçura Máxima	316,29	401,71	387,07	368,65	347,77
Desvio Padrão	30,01	55,55	40,15	45,79	32,76
Espeçura Média	251,17	317,63	323,69	276,25	304,98

TABELA 19 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOLOGIA DO RETALHO, NO DIA 14

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP.FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (Kgf)
1	10,00	14,53	45,30	5,06
2	10,00	14,88	48,80	5,32
3	10,00	15,03	50,30	5,43
4	10,00	13,92	39,20	5,02
5	10,00	14,51	45,10	6,28
Máximo	-	-	50,30	6,28
Mínimo	-	-	39,20	5,02
Desvio Padrão	-	-	4,29	0,51
Média	-	-	45,74	5,42

TABELA 20 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOLOGIA DO RETALHO, NO DIA 28

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP.FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (Kgf)
1	10,00	13,70	37,00	6,09
2	10,00	13,94	39,40	5,97
3	10,00	14,49	44,90	6,78
4	10,00	14,77	47,70	6,82
5	10,00	14,68	46,80	7,31
Máximo	-	-	47,70	7,31
Mínimo	-	-	37,00	5,97
Desvio Padrão	-	-	4,72	0,56
Média	-	-	43,16	6,59

TABELA 21 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOLOGIA DO RETALHO, NO DIA 56

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP.FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (Kgf)
1	10,00	14,38	43,80	8,17
2	10,00	14,41	44,10	8,08
3	10,00	13,90	39,00	7,96
4	10,00	13,90	39,00	7,15
5	10,00	13,75	37,50	7,19
Máximo	-	-	44,10	8,17
Mínimo	-	-	37,50	7,15
Desvio Padrão	-	-	3,05	0,50
Média	-	-	40,68	7,71

TABELA 22 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 84

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP.FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (Kgf)
1	10,00	13,97	39,70	8,35
2	10,00	14,08	40,80	8,18
3	10,00	13,52	35,20	7,51
4	10,00	14,51	45,10	8,79
5	10,00	14,82	48,20	8,68
Máximo	-	-	48,20	8,79
Mínimo	-	-	35,20	7,51
Desvio Padrão	-	-	5,02	0,51
Média	-	-	41,80	8,30

TABELA 23 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 112

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP.FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (Kgf)
1	10,00	14,86	48,60	8,07
2	10,00	13,90	39,00	8,01
3	10,00	14,81	48,10	8,28
4	10,00	14,24	42,40	7,69
5	10,00	13,85	38,50	8,09
Máximo	-	-	48,60	8,28
Mínimo	-	-	38,50	7,69
Desvio Padrão	-	-	4,83	0,21
Média	-	-	43,32	8,03

TABELA 24 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 14

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP.FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (Kgf)
1	10,00	11,80	18,00	2,94
2	10,00	12,01	20,10	2,45
3	10,00	11,99	19,90	2,53
4	10,00	12,12	21,20	2,27
5	10,00	11,53	15,30	2,08
Máximo	-	-	21,20	2,94
Mínimo	-	-	15,30	2,08
Desvio Padrão	-	-	2,32	0,32
Média	-	-	18,90	2,45

TABELA 25 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 28

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP.FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (Kgf)
1	10,00	12,80	28,00	5,54
2	10,00	13,04	30,40	5,79
3	10,00	13,13	31,30	5,88
4	10,00	12,29	22,90	6,53
5	10,00	12,36	23,60	5,11
Máximo	-	-	31,30	6,53
Mínimo	-	-	22,90	5,11
Desvio Padrão	-	-	3,84	0,52
Média	-	-	27,24	5,77

TABELA 26 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 56

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP.FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (Kgf)
1	10,00	12,84	28,40	12,14
2	10,00	13,22	32,20	11,70
3	10,00	13,26	32,60	12,21
4	10,00	12,38	23,80	12,66
5	10,00	12,53	25,30	13,01
Máximo	-	-	32,60	13,01
Mínimo	-	-	23,80	11,70
Desvio Padrão	-	-	3,96	0,50
Média	-	-	28,46	12,34

TABELA 27 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 84

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP.FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (Kgf)
1	10,00	12,70	27,00	10,01
2	10,00	12,55	25,50	10,38
3	10,00	12,72	27,20	10,69
4	10,00	12,88	28,80	11,51
5	10,00	12,92	29,20	11,22
Máximo	-	-	29,20	11,51
Mínimo	-	-	25,50	10,01
Desvio Padrão	-	-	1,49	0,61
Média	-	-	27,54	10,76

TABELA 28 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 112

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP.FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (Kgf)
1	10,00	12,36	23,60	8,84
2	10,00	13,13	31,30	9,99
3	10,00	12,28	22,80	10,14
4	10,00	12,12	21,20	8,81
5	10,00	12,08	20,80	9,47
Máximo	-	-	31,30	10,14
Mínimo	-	-	20,80	8,81
Desvio Padrão	-	-	4,27	0,62
Média	-	-	23,94	9,45