RUTH MARIA GRAF

ESTUDO COMPARATIVO DA CICATRIZAÇÃO DE RETALHO CUTÂNEO DORSAL EM RATOS COM E SEM A APLICAÇÃO DO LASER DE ERBIUM:YAG



Tese apresentada no 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

Coordenador: Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos

CURITIBA
2001

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

Ata do julgamento da 55ª tese de doutorado para conclusão do ***Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Nível Doutorado da Universidade Federal do Paraná****, referente a alun:* **Drª. RUTH MARIA GRAF** *com o título:* ***"ESTUDO COMPARATIVO DA CICATRIZAÇÃO DE RETALHO CUTÂNEO DORSAL EM RATOS COM E SEM APLICAÇÃO DO LASER DE ERBIUM: YAG"****, tendo como orientador o* ***Prof. Dr. Jurandir Marcondes Ribas Filho****, realizada em dezessete de dezembro de dois mil e um.*

Às oito horas do dia dezessete de dezembro de dois mil e um, no Auditório do 7º andar do prédio central do Hospital de Clínicas – Universidade Federal do Paraná, teve início a prova em epígrafe, constituída a ***Comissão Examinadora*** *pelos* ***Professores: Paulo Afonso Nunes Nassif, Ricardo C. Rocha Moreira, Nicolau Gregori Czeczko, Lydia Massako Ferreira e Julio Cezar Uili Coelho,*** *sendo este último* ***Presidente da Comissão.*** *Aberta a sessão foi apresentada pelo* ***Prof. Dr. Osvaldo Malafaia Vice-Coordenador do Programa,*** *a documentação probatória do cumprimento pelo candidato das exigências legais que lhe facultam submeter-se à avaliação da tese, como última etapa à sua titulação no Programa. A seguir o Presidente da Comissão convidou o candidato a apresentar oralmente resumo de sua tese no prazo máximo de trinta minutos para demonstração de sua capacidade didática e para melhor conhecimento do tema por parte da audiência composta de professores, médicos, alunos, familiares e demais interessados. Seguiu-se a argüição e imediata resposta pelo candidato, sucessivamente pelos componentes da Comissão Examinadora, obedecido o tempo máximo de vinte minutos para a argüição e igual tempo para cada resposta. Terminada a etapa de argüição, reuniu-se a Comissão Examinadora em sala reservada para atribuição das notas, dos conceitos e lavradura do* ***Parecer Conjunto*** *necessário. Os conceitos e notas atribuídos foram:* ***Prof. Dr. Paulo Afonso Nunes Nassif: conceito " A " e equivalência " 10 "; Prof. Dr. Ricardo C. Rocha Moreira: conceito " A " e equivalência " 10 "; Prof. Dr. Nicolau Gregori Czeczko: conceito" A "e equivalência" 10 "; Profa. Dra. Lydia Massako Ferreira: conceito " A " e equivalência " 10 "; Prof. Dr. Julio Cezar Uili Coelho: conceito " A " e equivalência" 10 ".*** *Voltando a sala de sessão, o senhor Presidente da Comissão leu os conceitos do Parecer Conjunto, dando como* ***final o conceito " A " e equivalência a " 10 ",*** *e a recomendação de que a tese com o título já referido, possa ser publicada na forma final nos meios de divulgação científica adequados, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das argüições. E para que tudo conste, foi lavrada a presente Ata, que vai assinada pelos componentes da Comissão Examinadora.*

Prof. Dr. Paulo Afonso Nunes Nassif

Prof. Dr. Ricardo C. Rocha Moreira

Prof. Dr. Nicolau Gregori Czeczko

Profa. Dra. Lydia Massako Ferreira

Prof. Dr. Julio Cezar Uili Coelho

RUTH MARIA GRAF

ESTUDO COMPARATIVO DA CICATRIZAÇÃO DE RETALHO CUTÂNEO DORSAL EM RATOS COM E SEM A APLICAÇÃO DO LASER DE ERBIUM:YAG

Tese apresentada no 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

Coordenador: Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos

CURITIBA
2001

"As criaturas que habitam esta terra, sejam elas homens ou animais, estão aqui para contribuir, cada uma a sua maneira, para a beleza e prosperidade do mundo."

Dalay Lama

Dedico esta dissertação

Ao Hans, companheiro de todas as minhas caminhadas.

Às minhas filhas Christie, Leticia e Juliana, pela compreensão nos momentos de minha ausência.

E aos meus pais pelo incentivo na escolha da minha profissão.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. JURANDIR MARCONDES RIBAS FILHO, orientador e grande incentivador deste trabalho, pela sua capacidade de ensino, paciência e constante apoio.

Ao Professor Dr. ANTÔNIO CARLOS LIGOCKI CAMPOS, Coordenador do Programa de Pós-graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, UFPR, pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Ao Professor Dr. OSVALDO MALAFAIA, pela dedicação e competência na Coordenação do Curso de Pós-graduação em Princípios de Cirurgia, um grande incentivador na produção de trabalhos científicos.

Ao Professor Dr. NICOLAU GREGORI CZECZKO, pela sua valiosa colaboração em todas as etapas da elaboração deste trabalho.

À médica patologista LÚCIA DE NORONHA, professora auxiliar da Disciplina de Anatomia Patológica da Universidade Federal do Paraná, pela ajuda no planejamento, preparo, descrição e interpretação das peças histológicas.

Ao Prof. Dr. JOÃO CARLOS DOMINGUES REPKA, pelo auxílio na escolha do animal utilizado no modelo experimental.

Aos médicos cirurgiões plásticos, colegas de equipe, AFRÂNIO BERNARDES, ANDRÉ AUERSVALD, LUIS ROBERTO de ARAÚJO e ROSANA COSTA DAMÁSIO e ao cirurgião plástico RODNEY RODRIGUES, pela ajuda constante em todas as fases do experimento.

Ao médico-residente de cirurgia plástica Dr. ALDERSON LUIZ PACHECO e aos acadêmicos de medicina CHRISTIE MICHELLE GRAF, LISANDRO LIMA RIBEIRO, LEANDRA P. MUNIZ e ALESSANDRO HARTMANN pela presença constante e entusiasmo com que nos auxiliaram em todas as etapas cirúrgicas do experimento.

Às instrumentadoras SIMONE NAKAMURA, BEATRIZ DELLA B. D. da

SILVA, MARIZA L. ETARGA, CRISTIANE BORNIA e à fotógrafa DEISE MARA SCUICIATO HANSEL, pelo auxílio em todas as etapas do experimento.

À secretária CLEUSA VITORIA LAFUENTE, à enfermeira MARIA APARECIDA CORDEIRO, pela ajuda na fase cirúrgica do experimento.

Às secretárias ELIZABETH KOVALSKI, KARINA LIMA, KATIA HELLMANN, TATIANA KOVALSKI, GISELE MUTEKA, ANA PAULA DE SOUZA, ADRIANA OLIVEIRA e LUCIENY MADEIRA SENNA, pelo apoio nas minhas saídas para a realização do experimento.

Ao secretário ROBERTO RODRIGUES, pela ajuda sem a qual a parte experimental não teria sido realizada dentro dos prazos previstos.

À minha filha canadense KATE HARRISON, pela importante ajuda na diagramação das figuras do trabalho.

Ao meu querido sobrinho-filho ALEXIS GRAF MOROZOWICZ, sem o qual o trabalho seria incompleto.

À Professora Dra. MARGARETH BOGUSZEWSKI, pela paciência e disposição em todos os momentos em que foi solicitada.

Ao diretor clínico do Centro Paranaense de Oftalmologia- Day Hospital Dr. VILMAR POLATI DA SILVA e MURILO VALADARES DOMINGUES, por ter cedido cordialmente suas dependências para a realização da fase inicial do experimento com o uso do laser.

Aos químicos GUILHERME W. ZEMKE, gerente, e ODILON VIDAL, técnico responsável, do Laboratório de Química e Petroquímica do Instituto de Tecnologia do Paraná-TECPAR por terem generosamente cedido o uso de seu aparelho de ensaios de resistência mecânica e pela ajuda na realização dos ensaios de carga de ruptura e alongamento de ruptura.

Aos acadêmicos e técnicos do Laboratório de Patologia Experimental da Pontífica Universidade Católica do Paraná, JEAN R. TAFAREL e ANA PAULA C. MATIAS, pela colaboração na leitura morfométrica das lâminas, compilação dos

resultados e elaboração do banco de dados.

Ao auxiliar de biotério 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 a todos os que participaram em alguma etapa de elaboração da dissertação:

Seleção e fornecimento dos animais para experimento: médico veterinário EURICO ELOI FERREIRA JUNIOR, gerente do biotério do Instituto de Tecnologia do Paraná-TECPAR.

Processamento do material coletado, preparo e coloração de lâminas de histologia: técnico em patologia RUBENS SIMÕES GAIER.

Planimetria digital : analista de sistemas ANA LÚCIA METCHKO.

Análise estatística: 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.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS ..... **ix**
LISTA DE GRÁFICOS ..... **x**
LISTA DE TABELAS ..... **xi**
RESUMO ..... **xiii**
ABSTRACT ..... **xiv**
1 INTRODUÇÃO 1
2 REVISÃO DA LITERATURA 6
2.1 MODELO DE RETALHO CUTÂNEO 7
2.2 ESTUDO DO LASER EM MODELO EXPERIMENTAL 14
2.3 ESTUDO DO LASER EM HUMANOS 18
3 MATERIAL E MÉTODO 26
3.1 AMOSTRA 28
3.2 LASER 28
3.3 ANESTESIA 30
3.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO 30
3.4.1 Grupo controle 31
3.4.2 Grupo Erbium 33
3.5 PÓS-OPERATÓRIO 35
3.6 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA 35
3.7 PLANIMETRIA DIGITAL 36
3.7.1 Avaliação da área do retalho cutâneo 38
3.7.2 Avaliação da área da figura tatuada 38
3.8 ESTUDO TENSIOMÉTRICO 39
3.8.1 Carga de Ruptura 40
3.8.2 Alongamento de Ruptura 40
3.9 ESTUDO HISTOLÓGICO 42
3.10 MORFOMETRIA DIGITAL 42
3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA 44
4 RESULTADOS 45
4.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DO RETALHO 46
4.1.1 Grupo controle 46
4.1.2 Grupo Erbium 49
4.2 PESO DOS ANIMAIS 52
4.3 PLANIMETRIA DIGITAL 54
4.3.1 Avaliação da área do retalho cutâneo 54
4.3.2 Avaliação da área da figura tatuada 56
4.4 ESTUDO TENSIOMÉTRICO 61
4.4.1 Carga de Ruptura 61
4.4.2 Alongamento de Ruptura 62
4.5 ESTUDO HISTOLÓGICO 63
4.5.1 Aspecto histológico da pele do retalho controle 63

4.5.2 Aspecto histológico da pele do retalho Erbium no dia 14 65
4.5.3 Aspecto histológico da pele do retalho Erbium no dia 28 65
4.5.4 Aspecto histológico da pele do retalho Erbium no dia 56 66
4.5.5 Aspecto histológico da pele do retalho Erbium no dia 84 66
4.5.6 Aspecto histológico da pele do retalho Erbium no dia 112 67
4.6 MORFOMETRIA DIGITAL 68
5 DISCUSSÃO 69
5.1 MODELO EXPERIMENTAL 70
5.1.1 Escolha do animal 70
5.1.2 Escolha do tipo de retalho 72
5.1.3 Escolha do laser e número das aplicações 73
5.2 OBSERVAÇÃO CLÍNICA 74
5.3 VIABILIDADE DO RETALHO CUTÂNEO 76
5.4 CONTRAÇÃO CUTÂNEA DO RETALHO 78
5.5 TENSIOMETRIA 80
5.6 HISTOLOGIA E MORFOLOGIA 82
6 CONCLUSÕES 84
REFERÊNCIAS 86
ANEXOS 96

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – APARELHO DE LASER 29
FIGURA 2 – TELA DE PROGRAMAÇÃO DO LASER 29
FIGURA 3 – DORSO DO ANIMAL COM DESENHO DO RETALHO E DA FIGURA 31
FIGURA 4 – RETALHO DORSAL DE PEDÍCULO CAUDAL 32
FIGURA 5 – BASE DO RETALHO OBSERVANDO-SE OS VASOS SACRAIS 32
FIGURA 6 – DETALHE DO RETALHO APÓS SÍNTESE EM ANIMAL DO GRUPO CONTROLE 33
FIGURA 7 – APLICAÇÃO DO LASER EM ANIMAL DO GRUPO ERBIUM 34
FIGURA 8 – ANIMAL DO GRUPO ERBIUM IMEDIATAMENTE APÓS SÍNTESE DO RETALHO E A APLICAÇÃO DO LASER 34
FIGURA 9 – CÓPIA DE ÁREAS POR APOSIÇÃO PARA PLANIMETRIA DIGITAL 36
FIGURA 10 – OBTENÇÃO DE LARGURA E COMPRIMENTO MÉDIOS EM MM PELO PROGRAMA COREL DRAW 9® 37
FIGURA 11 – OBTENÇÃO DE ÁREA PELO APLICATIVO EXCEL 97® 38
FIGURA 12 – SEGMENTO CENTRAL DO FRAGMENTO MARCADO PARA TENSIOMETRIA 40
FIGURA 13 – DEMONSTRAÇÃO DA CARGA DE RUPTURA NA TENSIOMETRIA 41
FIGURA 14 – DEMONSTRAÇÃO DO ALONGAMENTO DE RUPTURA NA TENSIOMETRIA 41
FIGURA 15 – MEDIDA DA ESPESSURA DA FIBROPLASIA, AUMENTO DE 100 X 43
FIGURA 16 – RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 2 46
FIGURA 17 – RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 3 47
FIGURA 18 – RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 5 47
FIGURA 19 – RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 10 48
FIGURA 20 – RETALHO DO ANIMAL 1 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 21 48
FIGURA 21 – RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 28 49
FIGURA 22 – RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 5 (E) NO DIA 3 50
FIGURA 23 – RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 5 (E) NO DIA 5 50
FIGURA 24 – RETALHO DO ANIMAL 1 DO SUBGRUPO 5 (E) NO DIA 10 51
FIGURA 25 – RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 3 (E) NO DIA 14 51
FIGURA 26 – RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 2 (E) NO DIA 28 52
FIGURA 27 – RETALHO DO ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 3 (C) E RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 3 (E), NO DIA 56 57
FIGURA 28 – RETALHO DO ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 4 (C) E RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 5 (E), NO DIA 84 58
FIGURA 29 – RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 5 (C) E RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 5 (E), NO DIA 112 59
FIGURA 30 – CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 14, ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 1 (C), HE, 100X 64
FIGURA 31 – CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 84, ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 5 (C), WEIGERT, 100X 64
FIGURA 32 – CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 14, ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 1 (E), TM, 100X 65
FIGURA 33 – CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 28 E 56 DO GRUPO ERBIUM, TM, 100X 66
FIGURA 34 – CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 84 E 112 DO GRUPO ERBIUM, TM, 100X 67

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – PESO DOS ANIMAIS (C+E), EM GRAMAS, DO DIA 1 AO DIA 112..... 53
GRÁFICO 2 – PESO DOS ANIMAIS (C+E), COMO % DO PESO INICIAL, DO DIA 1 AO DIA 112..... 53
GRÁFICO 3 – ÁREA DO RETALHO (C), EM CM^2, NO DIA 14..... 54
GRÁFICO 4 – ÁREA DO RETALHO (E), EM CM^2, NO DIA 14..... 54
GRÁFICO 5 – ÁREA DO RETALHO (C+E), COMO % DA ÁREA TOTAL, NO DIA 14..... 55
GRÁFICO 6 – ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO (C+E), EM CM^2, DO DIA 1 AO DIA 112. 56
GRÁFICO 7 – ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO (C+E), COMO % DA ÁREA INICIAL, DO DIA 1 AO DIA 112..... 60
GRÁFICO 8 – CARGA DE RUPTURA DO RETALHO (C+E), EM KGF, DO DIA 14 AO DIA 112..... 61
GRÁFICO 9 – ALONGAMENTO DE RUPTURA DO RETALHO (C+E), EM %, DO DIA 14 AO DIA 112..... 62
GRÁFICO 10 – ESPESSURA DA FIBROPLASIA NO RETALHO (E), EM µm, DO DIA 14 AO DIA 112..... 68

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL PERCENTUAL DE VIABILIDADE 55
TABELA 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO O PESO, EM GRAMAS, DO DIA 1 AO DIA 112 97
TABELA 3 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO O PESO, EM GRAMAS, DO DIA 1 AO DIA 112 98
TABELA 4 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) COMO % DO PESO INICIAL, DO DIA 1 AO DIA 112 99
TABELA 5 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) COMO % DO PESO INICIAL, DO DIA 1 AO DIA 112 100
TABELA 6 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO A ÁREA DO RETALHO, EM CM^2 E %, NO DIA 14 101
TABELA 7 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ÁREA DO RETALHO, EM CM^2 E %, NO DIA 14 102
TABELA 8 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO A ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO, EM CM^2, DO DIA 1 AO DIA 112 103
TABELA 9 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO, EM CM^2, DO DIA 1 AO DIA 112 104
TABELA 10– DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL ÁREA DA FIGURA TATUADA 105
TABELA 11– NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA (p) PARA AS DIFERENÇAS DAS ÁREAS DA FIGURA TATUADA 105
TABELA 12– DISTRIBUIÇÃO DA ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO (C) COMO % DO PESO INICIAL, DO DIA 1 AO DIA 112 106
TABELA 13– DISTRIBUIÇÃO DA ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO (E) COMO % DO PESO INICIAL, DO DIA 1 AO DIA 112 107
TABELA 14– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 14 108
TABELA 15– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 28 108
TABELA 16– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 56 108
TABELA 17– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 84 109
TABELA 18– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 112 109
TABELA 19– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 14 109
TABELA 20– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 28 110
TABELA 21– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 56 110
TABELA 22– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 84 110
TABELA 23– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 112 111
TABELA 24– DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL CARGA DE RUPTURA 111
TABELA 25– NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA (p) PARA AS DIFERENÇAS DAS CARGAS DE RUPTURA 111
TABELA 26– DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL ALONGAMENTO DE RUPTURA 112
TABELA 27– NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA (p) PARA AS DIFERENÇAS DOS ALONGAMENTOS DE RUPTURA 112
TABELA 28– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM µm, NO DIA 14 113
TABELA 29– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM µm, NO DIA 28 114

TABELA 30– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM µm, NO DIA 56.....115
TABELA 31– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM µm, NO DIA 84.....116
TABELA 32– DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA FIBROPLASIA, EM µm, NO DIA 112.....117

RESUMO

INTRODUÇÃO. O uso do laser tem sido indicado em um número crescente de situações médicas. Estudos experimentais em animais são importantes para definir melhor as indicações, limitações e complicações do laser. O objetivo deste estudo foi comparar a cicatrização de um retalho cutâneo dorsal em ratos, com e sem a aplicação do laser de Erbium: Yttrium Aluminum Garnet (Er:YAG), sobre a sua superfície cutânea, avaliando a sua viabilidade, contração cutânea, resistência mecânica e fibroplasia, mediante planimetria, tensiometria, histologia e morfometria digital.

MATERIAL E MÉTODOS. Foram utilizados 50 ratos da linhagem Wistar, distribuídos em 2 grupo de 25 animais, controle e Erbium, divididos em 5 subgrupos de 5 animais. Um retalho cutâneo foi desenhado no dorso de cada animal, medindo 10 x 3 cm, com pedículo caudal e uma figura de 2,2 x 2,2 cm foi tatuada dentro dos limites do retalho, na sua base. No grupo controle não foi aplicado o laser e no grupo Erbium foi aplicado laser de Er:YAG sobre o retalho: 3 passadas, com energia de 1,5 J e potência de 1,7 W, fluência de 21,4 J/cm^2, tamanho do ponto do laser de 3 mm, sendo utilizado um gerador de padrões computadorizados (CPG), com as seguintes regulagens: formato quadrado, tamanho 10, frequência de repetição de 20 pps (pulsos por segundo), ângulo 0 e sobreposição de 30%. Cinco animais de cada grupo foram mortos nos dias 14, 28, 56, 84 e 112 para estudo. A avaliação macroscópica foi feita por planimetria digital, na qual foi avaliada a área total, viva proximal e de necrose isquêmica distal, além da área das figuras tatuadas nos dois grupos. A avaliação tensiométrica foi realizada quanto à carga e alongamento de ruptura. Avaliação histológica foi feita em todos os animais, enquanto a morfometria digital para medida da fibroplasia foi realizada somente no grupo Erbium.

RESULTADOS. As figuras tatuadas, imediatamente após a sutura dos retalhos, apresentaram-se 22 % menores no grupo Erbium que no grupo controle ($p<0,0001$). As figuras tatuadas do grupo Erbium mantiveram sua contração inicial durante todo o período do estudo, estando 32 % menores que o grupo controle no dia 112 ($p=0,0090$). No dia 14 a viabilidade do retalho no grupo controle foi de 72,4% $\pm$ 4,4% e no grupo Erbium, de 68 % $\pm$ 4,0%. No grupo Erbium a carga de ruptura encontrava-se elevada a partir do dia 56 (10,37 Kgf *vs* 5,59 Kgf, $p=0,009$) e o alongamento de ruptura manteve-se mais baixo durante todo o estudo, 15,8 % no grupo Erbium e 29,2 % no controle ($p=0,009$). Histologicamente, o grupo controle apresentou na derme superficial fibras colágenas dispostas desordenadamente e o grupo Erbium apresentou zona de neoformação de fibras colágenas que se depositaram na derme de forma regular, dispostas paralelas à epiderme, com espessura que aumentou gradativamente e apresentou seu pico máximo no dia 112 (180,4 µm $\pm$ 44,2).

CONCLUSÕES. A aplicação do laser de Er:YAG em retalho cutâneo dorsal de ratos não altera a viabilidade do retalho, induz a contração cutânea e o aumento de fibras colágenas nas zonas de fibroplasia, fenômenos estes mantidos durante todo o período do estudo.

Palavras-chaves: Experimental, Ratos, Laser Er-YAG, Retalhos cirúrgicos, Contração

ABSTRACT

BACKGROUND and OBJECTIVE. The use of laser has been indicated for a growing number of medical conditions. Experimental studies are important to better define its indications, limitations and complications. The goals of this study were to compare the dorsal cutaneous flap healing in rats with and without Erbium: Yttrium Aluminum Garnet (Er:YAG) laser used over their cutaneous surfaces evaluating the viability, skin contraction, mechanical tension and fibroplasia by plannimetry, tensiometry, light microscopic histology and digital morphometry.

MATERIALS and METHODS. Fifty Wistar rats were studied and enrolled as either control and Erbium group of 25 animals each, divided into 5 subgroups. A 10 x 3 cm cutaneous flap was drawned over the dorsal portion of each animal, with caudal base, which were tattooed with a 2,2 x 2,2 cm area on the skin-flap base of each animal of the study. The Erbium group was treated with three passes of the Er:YAG laser at 1.5 J of energy, 1.7 W of potency, 21.4 J/cm2 of fluence, spot size 3 mm and using the scanner with pattern square size 10, repetition delay 20 pps, angle 0 and overlaping of 30%. No laser was applied on the control group. Five animals of each group were killed and skin specimens were obtained for analysis at days 14, 28, 56, 84 and 112. Macroscopic evaluation, through digital plannimetry was done studying total, proximal live area and distal ischaemic area in both groups. Tensiometric evaluation was done studying tension strength and length tension. Histology was done in all animals while digital morphometry for fibroplasia measurements was done only in the Erbium group.

RESULTS. The tattooed areas, just after the flaps suture, were 22 % smaller at the Erbium group than the control group ($p<0,0001$). The Erbium laser treated areas maintained their initial contraction during all the study period, and at the day 112 they were 32% smaller than the control areas ($p=0,009$). The evaluation on day 14 revealed that the control group flap survival was 72,4% $\pm$ 4,4% and the Erbium group survival was 68% $\pm$ 4,0%. In the Erbium group the tension strenght was higher after day 56 (10,37 Kgf vs 5,59 Kgf; $p=0,009$) and the length tension was maintained lower during the whole study, between 15,8% and 29,2% ($p=0,009$). Histologically, the control group showed unorganized collagen fibers distributed at the superficial dermis while the Erbium group presented a regular neoformation collagen fiber zone at the dermis, with paralell disposition to the epidermis, with a growing thickness and maximal value at day 112 (180,4 µm $\pm$ 44,2).

CONCLUSIONS. Er-YAG laser applied over the dorsal cutaneous flap in rats does not alter skin-flap survival, induces cutaneous contraction and raises the collagen fibers at the fibroplasia areas, which persisted beyond all the study period.

Key-words: Experiments, Rats, Er-YAG Laser, Surgical flaps, Shrinkage

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, procedimentos cirúrgicos consideradas tradicionais em cirurgia plástica foram modificadas com a incorporação de novas técnicas durante um mesmo ato cirúrgico. Estas associações tem permitido que, numa mesma cirurgia, a simultaneidade de técnicas levem a um ganho de qualidade, obtendo-se resultados cada vez melhores e, o mais importante, com segurança. Na cirurgia estética facial, estes avanços tecnológicos foram de suma importância, principalmente no que diz respeito ao uso associado do laser. Os procedimentos tradicionais incluíam inicialmente apenas a elevação do retalho cutâneo, que era descolado e tracionado para se obter o rejuvenescimento facial. MITZ e PEYRONIE (1976) descreveram o uso de retalhos de estruturas profundas, como o retalho de SMAS (Sistema Músculo Aponeurótico Superficial), em associação com o retalho cutâneo. Esta evolução cirúrgica levou a um grande avanço na manutenção dos resultados estéticos faciais. Após o ano de 1983, com os estudos de ANDERSON e PARRISH (1983), houve uma revolução no papel do laser em medicina, transformando-os em dispositivos precisos de ablação, e assim, dando a base para o desenvolvimento do laser como terapêutica no rejuvenescimento facial da atualidade.

A soma de dois fatores principais concorrem para o envelhecimento facial, sendo eles: a evolução progressiva dos efeitos intrínsecos ao processo de envelhecimento cronológico (osteomiocutâneo) e as alterações associadas aos fatores de agressão extrínseca, como a exposição aos raios solares (KLIGMAN, 1969).

A ação da gravidade progressiva sobre as estruturas não fixas da face, isto é, pele, subcutâneo e músculos, ocorre ao longo dos anos como um fator mecânico, e deve ser tratada através da elevação destas estruturas para se obter um aspecto mais jovem. A cirurgia plástica da face conhecida como ritidoplastia visa o

tratamento destas estruturas, que é um processo natural do envelhecimento cronológico do ser humano.

O fotoenvelhecimento refere-se a todos os déficites funcionais e alterações estruturais e cosméticas resultantes da repetida e prolongada exposição à radiação ultravioleta (UV) do sol, causando dano actínico. Há uma deposição de material degenerativo na derme papilar, conhecido como degeneração basofílica do colágeno, associado ao acúmulo de complexos de glicosaminoglicanos e proteoglicanos (UITTO et al., 1989). Ao ato de tornar mais jovem uma pele com envelhecimento cutâneo chamamos *resurfacing*. As técnicas tradicionais que são o *peeling* químico e a dermoabrasão estão em uso há quase um século. Em 1989, propôs-se o uso de uma nova tecnologia, o laser de dióxido de carbono (CO_2), para o tratamento de lesões de pele na face (DAVID et al., 1989).

O *resurfacing* de pele facial mais realizado atualmente é o *peeling* químico, pela sua facilidade de execução e pelo baixo custo. Com o aparecimento do laser de CO_2, de alta energia e pulsação de curta duração, os resultados se tornaram mais evidentes, superiores aos *peelings* químicos e dermoabrasão, especialmente nos pacientes que apresentam rugas mais profundas. Estes resultados estimularam e difundiram o seu uso, embora o laser de CO_2 tenha significativa morbidade, principalmente quando utilizado por médicos pouco experientes. A curto prazo, o problema mais comum é a persistência da hiperemia por longos períodos, sendo seguida a médio prazo por hiperpigmentação temporária, e a longo prazo por hipopigmentação permanente, a qual se torna evidente geralmente após seis meses, quando cede a hiperemia. A morbidade e os efeitos colaterais causados pelo laser de CO_2 tem estimulado a procura de outros tipos de lasers para a remodelação cutânea.

O laser de *Erbium:yttrium aluminum garnet* (Er:YAG), lançado comercialmente em 1996, emite luz infravermelha com comprimento de onda de 2940 nm (nanômetros), que corresponde ao pico de absorção da água. Este laser é absorvido principalmente pela água, por isso chamamos a água de cromóforo, e é sobre ela que o laser irá atuar. A água é a substância mais abundante da pele, correspondendo a aproximadamente 70% do volume total da área corporal. Em virtude disto o laser de Er:YAG é 12 a 18 vezes mais absorvido pelo tecido cutâneo que o laser de CO_2 (WEINSTEIN, 1999). Esta característica torna seu efeito no tecido basicamente fotomecânico, isto é, causa a ablação dos tecidos com pouca necrose coagulativa, o que difere do laser de CO_2 que é basicamente fototérmico, provocando importante

necrose coagulativa do tecido (ALSTER,1999). Assim passou-se a utilizar mais o laser de Er-YAG por apresentar menor grau de complicações e efeitos colaterais.

Com o objetivo de resultados estéticos mais satisfatórios e visando um período único de recuperação, foi proposto por alguns autores a associação de métodos num mesmo tempo operatório: a ritidoplastia para corrigir os efeitos gravitacionais e, para minimizar o envelhecimento cutâneo, foram utilizados inicialmente dermoabrasões, *peelings* químicos (BAKER, 1962) e mais recentemente, o laser (MAYL e FELDER, 1997; GRAF, BERNARDES, AUERSVALD e NORONHA, 1999).

Na ritidoplastia, o uso associado do laser de CO_2 sobre o retalho cutâneo pode levar a algum grau de sofrimento da pele da face devido ao seu efeito térmico residual capaz de levar à necrose dos tecidos. Desta forma, existe uma polêmica sobre o uso do laser sobre retalhos cutâneos pelo risco de necrose tecidual. Alguns trabalhos (GRAF, BERNARDES, AUERSVALD e NORONHA, 1999) demonstram a ausência de necrose do retalho facial com o uso concomitante do laser de CO_2 sobre toda a face, provavelmente devido ao uso de energia mais baixa sobre o retalho. A indicação de seu uso é no sentido de tratar o fotoenvelhecimento cutâneo e evitar a variação de textura e de coloração no local de transição entre a área não descolada e a área descolada, com menor energia nesta última.

Mais recentemente vários autores referem o uso do laser de Er-YAG sobre o retalho cutâneo facial associado à ritidoplastia por apresentar menor dano térmico residual, com a precisão da ablação em profundidade, preservando assim a integridade dos vasos sangüíneos subdérmicos responsáveis pela nutrição da pele (WEINSTEIN, POSNER e SCHEFLAM, 2001).

Em função de divergências entre opiniões de autores que defendem o uso do laser sobre o retalho cutâneo e os que não usam, foi realizado um estudo experimental com o uso do laser de Erbium:YAG sobre retalho cutâneo em dorso de ratos para a comprovação da sua viabilidade, já que o laser de Er:YAG produz efeito térmico residual mínimo (GRAF, 2000), o que pode explicar a ausência de lesão vascular quando usado sobre retalhos cutâneos.

OBJETIVOS

Este estudo objetiva aplicar o laser de Er:YAG, utilizando modelo experimental para pele dorsal de ratos proposto por KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) sobre retalho cutâneo dorsal em ratos e avaliar:

1. A influência da aplicação do laser na viabilidade do retalho, através de planimetria digital;
2. A presença de contração cutânea, sua intensidade e manutenção, através de planimetria digital;
3. A resistência mecânica através de tensiometria;
4. A morfometria através de programa de análise de imagem;
5. Aspectos histológicos através de microscopia óptica convencional.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MODELO DE RETALHO CUTÂNEO

McFARLANE, DeYONG e HENRY (1965) descreveram um retalho cutâneo dorsal em ratos de 10 x 4 cm, com um índice de comprimento/largura de 2,5/1,0, seguindo o eixo da coluna vertebral com pedículo cranial, tendo como pontos de referência os ângulos da escápula. Foram realizados três grupos, sendo que no primeiro grupo foi feita a elevação do retalho sem autonomização, no segundo a elevação do retalho com autonomização (segundo tempo após 14 dias) e no último grupo remoção do retalho como enxerto livre. Referem que a autonomização do retalho preveniu a necrose em 80% dos retalhos e que a situação crítica entre sobrevida e necrose do retalho se encontrava na sua ponta distal. 19 dos 90 retalhos sofreram necrose da ponta apesar da autonomização e foi possível comprovar que dentro de 3 a 4 dias de pós-operatório, se o retalho está se tornando necrótico e o primeiro sinal de necrose é a rigidez da ponta, entre 7 a 10 dias ocorre epidermólise e posteriormente deiscência. Houve necrose previsível de 25% do retalho e não mais que sua metade distal. Um critério fundamental para o sucesso deste trabalho experimental foi o comprimento deste retalho e demonstrou que a autonomização previne a necrose de um retalho pediculado.

McFARLANE, HEAGY, RADIN, AUST e WERMUTH (1965) estudaram o fenômeno de autonomização no mesmo modelo experimental e não encontraram explicação para o aumento da viabilidade dos retalhos após a autonomização embora

não houvesse aumento significante do número e calibre dos vasos ou do fluxo sanguíneo para a porção distal do retalho.

McFARLANE e WERMUTH (1966), avaliaram a influência do tratamento com oxigênio hiperbárico sobre a viabilidade de retalho cutâneo dorsal em ratos. Concluíram que o oxigênio hiperbárico atuou aumentando a área de viabilidade do retalho e estava diretamente relacionado às atmosferas de pressão de oxigênio administradas e ao número e tempo das sessões.

A partir dos trabalhos de McFARLANE muitos autores passaram a estudar a influência de substâncias e outros fatores na viabilidade de variados formatos de retalhos animais que apresentavam necrose distal isquêmica, como pode ser observados nos trabalhos abaixo.

ADAMSOM, HORTON, CRAWFORD e AYERS (1967) estudaram a influência da dimetil-sulfoxide tópica na viabilidade de retalho dorsal em ratos, de 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. Observou também o efeito desta substância nos pequenos vasos da orelha de coelhos através de técnicas de microscopia óptica.

REINISCH (1974), observando a autonomização de retalhos em porcos, propôs que a circulação na porção distal de retalhos ocorre através da abertura de pontes artério-venosas que têm como característica não permitir a troca metabólica entre os tecidos, promovendo a necrose tecidual. Essa abertura seria devido à perda do controle simpático por secção da inervação, que posteriormente retornaria ao seu tônus normal. O benefício da autonomização seria promover esta abertura enquanto o retalho é bipediculado, prevenindo as isquemias distais.

KERRIGAN (1983) estudou a vascularização de retalhos cutâneos em porcos através do uso de marcadores sanguíneos (cromo, microesferas de estrôncio e cerium 141) e concluiu que a maior causa de necrose distal do retalho é o inadequado

fluxo sanguíneo.

COHEN, HARMON e PHIZACKERLEY (1983) descreveram as alterações do metabolismo da glicose em retalhos abdominais de ratos de 11 x 3 cm, com clampeamento do pedículo e retalhos de 5 x 3 cm, sem clampeamento. Após 3 dias da elevação do retalho ocorria um aumento no consumo de glicose no retalho e aumento na produção de lactato. Em condições anaeróbicas o consumo de glicose estava aumentado levando à diminuição das reservas e ao aumento de ácido láctico, favorecendo a necrose.

LAWRENCE, MURPHY, ROBSON e HEGGERS (1984) utilizaram retalho de 10 x 4 cm de base cefálica e avaliou os efeitos da nicotina sobre a viabilidade do retalho. No grupo controle a área viável após 7 dias foi de 75% enquanto que no grupo que ficou exposto à nicotina foi de 40% devido ao efeito vasoconstritor e à trombose causados pela nicotina.

NOLAN, JENKINS, KURHARA e SCHULTZ (1985) utilizaram retalho de 10 x 2,5 cm de base caudal e estudaram os efeitos do tabagismo na sobrevivência de retalhos dorsais de ratos e demonstraram os efeitos vasoconstritores nocivos do tabaco sobre a viabilidade dos retalhos.

KAUFMAN, ANGEL, EICHENLAUB, LEVIN, HURWITZ e FUTREL (1985) utilizaram retalho de 10 x 3 cm de base caudal em dorso de ratos com o objetivo de avaliar o leito do retalho e as influências da pressão e umidade sobre este retalho e concluíram que a umidade pode diminuir a sobrevida do retalho, e que o suprimento sanguíneo de 45% da área proximal do retalho provém do pedículo do retalho e, em 55% da porção distal a vascularização provém do tecido suprafascial areolar. Assim, esta região distal comporta-se como um enxerto e depende de um bom contato com o leito do retalho.

MONTEIRO, SANTAMORE e NEMIR (1986), utilizando retalho de 9 x 3 cm, de base caudal, evidenciaram o efeito benéfico da pentoxifilina, que diminuiu o percentual de necrose distal.

KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) modificaram o retalho de Mc Farlane para retalho de mesmas dimensões para pedículo caudal, onde há duas artérias nutridoras do retalho ao invés de somente uma. Criaram quatro modelos diferentes de retalho com 10 cm de comprimento com a largura variando de 3 a 4 cm, com a base do pedículo caudal versus cranial. No oitavo dia de pós-operatório as margens do retalho e a área de necrose foram medidas. Os resultados foram expressos em % de área sobrevivente do retalho total. Baseados nestes dados, foi calculado o número de ratos para mostrar 10 a 20% das diferenças terapêuticas do tratamento hipotético com 95% de credibilidade. Tiveram como resultados que os retalhos com base caudal apresentaram pedículo com dois vasos sacrais constantes, com sobrevivência maior do que os retalhos com base cranial, que eram perfundidos por um único vaso escapular. A sobrevivência foi de 10 a 20%, com resultados mais previsíveis e consistentes, necessitando de uma amostra menor de animais para um estudo experimental.

ANGEL, RAMASASTRY, NARAYANAN, ZERBE, SWARTZ e FUTREL (1986) utilizaram retalho de 3 x 10 cm em dorso de ratos 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 do retalho seria menor se fosse privado o contato entre o retalho e seu leito.

KHOURI, EDSTROM e ANGEL (1987) publicaram revisão de 91 trabalhos, nos quais o retalho dorsal em ratos foi utilizado como meio de estudo da fisiologia dos retalhos cutâneos. Estudaram 26 diferentes desenhos de retalho, com diversidades também em parâmetros como peso, sexo e idade dos animais, dieta, condições de alojamento, anestesia, material e técnica para sutura e hemostasia, curativo, data de avaliação da viabilidade e o método utilizado. 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, DeYONG e HENRY (1965) e modificado por KHOURI, EDSTROM e ANGEL (1987). São descritos alguns exemplos abaixo.

ANGEL, RAMASASTRY, WARTZ, NARAYANAN, KUHNS, BASFORD e FUTRELL (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, BROOKSHER, MANN e BEERNINK (1993) estudaram o suporte metabólico que influencia a sobrevivência dos retalhos. Concluíram que a parte distal do retalho comporta-se como um enxerto livre e que a sua viabilidade depende do leito sob o retalho, ao contrário do que ocorre em humanos, onde os retalhos elevados dependem principalmente do seu pedículo para seu suporte metabólico e progressivamente a revascularização da periferia ocorre e o fluxo sanguíneo do pedículo torna-se menos importante.

HAYDEN e SNYDER (1993) estudaram a influência da pentoxifilina na viabilidade de retalho cutâneo dorsal em ratos. O único grupo que demonstrou aumento da viabilidade do retalho foi o que recebeu pentoxifilina imediatamente após o retalho ser elevado. O uso da droga no pré-operatório não influenciou a viabilidade do retalho.

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

DAVIS, COHEN, ROBINSON, URBEN e COOK (1995) estudaram a influência da analgesia pós-operatória na viabilidade do retalho. Avaliando a necrose distal após 14 dias, não encontraram diferença significativa entre o grupo controle e o grupo experimento no qual havia sido aplicado ketorolac tomethamine (antiinflamatório não esteroidal) em dose analgésica, por via intramuscular, em

estudaram os efeitos do fator de crescimento vascular na sobrevivência do retalho de McFARLANE em ratos. Realizaram a elevação do retalho em 72 ratos divididos em 6 grupos, sendo em 5 grupos injetado o fatos de crescimento vascular endovenoso na artéria femoral, em múltiplas injeções, subdérmico, subfascial do leito receptor e topicamente no receptor e um último grupo sendo o controle.Os estudos histológicos mostraram mais tecido de granulação e neovascularização no grupo experimento sugerindo que o fator de crescimento vascular pode recuperar tecido hipóxico através da angiogênese e que fatores de crescimento como o fator de crescimento vascular são uma promessa no aumento da viabilidade do retalho.

MATSUMURA, YOSHIZAWA, VEDDER e WATANABE (2001) realizaram o pré-condicionamento do clampeamento do pedículo proximal ao acaso pela administração endovenosa de drogas como a adenosina para poder melhorar a sobrevivência do retalho de KHOURI, EDSTROM e ANGEL (1987), em ratos. Foram retalhos bipediculados dorsais de 2 x 8 cm. No grupo isquêmico submetido ao pré-condicionamento o pedículo cranial foi cortado produzindo um retalho de base caudal de padrão randomizado. No grupo pré-condicionado foi injetado adenosina na metade cranial do retalho antes de ser cortado e no grupo controle solução salina. Foram observados que no dia 7 a sobrevida nos dois grupos foi significativamente maior que no grupo controle.

LANDECKER, KATAYAMA, MAMMANA, LEITÃO, SACHETTA, GEMPERLI e NEVES (2001) avaliaram o uso de ácido retinóico e ácido glicólico sobre retalhos dorsais de ratos, de 3 x 10 cm de base cranial e concluíram que estes ácidos não alteram a área de necrose dos retalhos, causando somente adelgaçamento da camada córnea e aumento da vascularização da derme superficial.

2.2 ESTUDO DO LASER EM MODELO EXPERIMENTAL

ANDERSON e PARRISH (1983) revolucionaram o papel do laser em medicina, transformando-os em dispositivos extraordinariamente precisos de ablação,

e assim, dando a base para o desenvolvimento do *resurfacing* da atualidade. Estes dois pesquisadores demonstraram que era necessário empregar o comprimento de onda do laser que deveria ser seletivamente absorvido pelo cromóforo apropriado, e também, que a duração do pulso deveria ser mais curta do que o tempo de relaxamento térmico do tecido alvo, liberando assim energia suficiente para produzir o grau de dano térmico desejado. Descreveram o método como fototermólise seletiva, onde pulsos curtos adequados de radiação óptica absorvidas seletivamente causam danos a duas estruturas em modelos experimentais: vasos sanguíneos e melanócitos. Os tecidos entre as estruturas alvo, incluindo as células superficiais e células imediatamente vizinhas são poupadas, reduzindo potencialmente a destruição extensa e a formação de fibrose não específica.

Em 1975 foi construído o primeiro laser Er:YAG que emite luz em temperatura ambiente. Somente depois que se descobriu que o comprimento de onda do laser de Er:YAG correspondia ao pico de absorção de água é que suas potencialidades médicas se tornaram aparentes (VEDLIN, 1995).

WALSH, FLOTTE e DEUTSCH (1989) relataram a quantificação da ablação do laser de Er:YAG em tecido mole (pele e aorta) e tecido duro (osso). O estudo foi realizado na aorta torácica bovina, pele e osso do crânio de porco da Índia. O conteúdo de água do osso é menor que o da pele (10% *versus* 70%), assim, a pele absorve mais rapidamente a irradiação, é mais rapidamente aquecida e a ablação é mais rápida que no osso. A diferença entre a ablação em tecido mole e duro é devido, em parte, às diferenças no conteúdo de água. O laser de Er:YAG pode efetivamente cortar ambos os tecidos.

KAUFMANN e HIBST (1990) usando um laser pulsado de *Xenônio Excimer* (308 nm) e um laser de Er:YAG (2.940 nm) investigaram ablação de pele *in vitro* realizada em pele humana excisada que foi consistente com resultados *in vivo* obtidos de experimentos em pele de porco. A radiação do *Excimer laser* causou considerável dano térmico não específico no tecido enquanto o laser de Er:YAG produziu lesões claras e precisas com dano térmico adjacente mínimo. Concluíram que o laser de Er:YAG parece ser um promissor instrumento cirúrgico para remoção cuidadosa de lesões da epiderme superior.

HIBST e KAUFMANN (1991) investigaram os efeitos de diferentes parâmetros (níveis de energia, radiações, número de pulsos e índices de repetição) do laser de Er:YAG em ablação de pele, apresentando mensurações *in vitro* dos níveis

de ablação e *in vivo* dos efeitos do dano e da temperatura. Correspondendo ao perfil da temperatura mensurada, o laser de Er: YAG induziu lesões finas, com margens claras, sem sinais aparentes de dano térmico. Consequentemente, ocorreu sangramento capilar quando as crateras alcançaram a derme papilar. A histologia apresentou somente poucos sinais de coagulação nas paredes e ao fundo da cratera. Concluíram que a temperatura necessária para o laser de Er:YAG induzir ablação de pele não é maior do que 100^0C e que o dano térmico decorrente da desnaturação proteica é um processo dependente do tempo e da temperatura, sendo a última dependente da energia dos pulsos do laser e dos índices de repetição. Os autores concluiram que, para aplicações clínicas, o uso de altas exposições de radiação aumenta o nível de ablação sem afetar a zona de dano térmico.

WALSH e CUMMINGS (1994) utilizando porcos guiné para análise de pele 48 horas *pós mortem,* apresentaram as bases para as propriedades ópticas dinâmicas dos tecidos. A água tem a espectroscopia para infravermelho que envolve absorção de fótons de baixa energia seguido do aumento da movimentação relativa, isto é, energia de vibração do átomo específico dentro da molécula absortiva. Demonstraram que, considerando o coeficiente de absorção dinâmica da água no meio médio infravermelho, pode-se explicar melhor e predizer os resultados na ablação dos tecidos.

KAUFMANN, HARTMANN e HIBST (1994) estudaram em pele de porcos o potencial cirúrgico de remoção de tecidos com mínimo dano térmico usando diferentes sistemas em diferentes comprimentos de onda: Thulium:YAG com 2010 nm, Holmium:YAG com 2100 nm, Erbium:ISGG com 2790 nm, e Erbium:YAG com 2940 nm. Concluíram que o Er:YAG é capaz de produzir uma ablação mais fina e superficial do que o CO_2. O efeito do CO_2 é primariamente fototérmico enquanto que o Er:YAG é primariamente fotomecânico. O laser de CO_2 deixa uma zona de necrose coagulativa mais ampla que resulta numa hemostasia altamente efetiva, produzindo contração do colágeno imediatamente visível acima de 25% durante a irradiação; em contraste o laser de Er:YAG causa difusão térmica menos extensa, menor necrose coagulativa que permite mais sangramento no intra-operatório e contração do colágeno menor, somente 1 a 2% durante a irradiação.

KAUFMANN e HIBST (1996) utilizando um laser de Er:YAG de alta potência investigaram a ablação em pele de porco *in vitro* e *in vivo*. Os resultados demonstraram que a eficiência da ablação cresce linearmente com a exposição e está

inversamente correlacionada com a freqüência dos pulsos. Lesões superficiais foram facilmente retiradas e a reepitelialização estava intacta devido à falta de necrose tecidual. Entretanto, em lesões profundas, o começo da hemorragia impediu o procedimento e foi observada formação de cicatriz após a reepitelialização. Desta maneira os autores concluíram que a cirurgia pelo laser permite uma retirada extremamente precisa de lesões superficiais de pele e que o instrumento tem potencial para *resurfacing* de pele.

HOHENLEUTNER, HOHENLEUTNER, ELÄUMLER e LANDTHALER (1997) demonstraram a eficácia da ablação e o total de dano térmico produzido pelo laser de Er:YAG *in vitro* e *in vivo*. O início da ablação deu-se aproximadamente em 1,6 J/cm^2. Com o aumento do número de passadas aplicadas sobre um ponto, a ablação decresceu significativamente. O total de dano térmico foi claramente dependente do número de passadas aplicadas, ao passo que altas fluências aumentaram minimamente as zonas de coagulação. Concluíram que a alta potência e freqüência de repetição tornam este laser um instrumento efetivo para ablação de pele, sem aumento de dano térmico.

O laser de Er:YAG, por apresentar uma maior absorção de água, causa menores danos térmicos à pele do paciente, atenuando os problemas de lesões térmicas, propiciando recuperação mais rápida. Quando comparados com os lasers de CO_2 pulsados e com gerador de padrões computadorizados, que produzem efeitos de coagulação tecidual, os laser de Er:YAG são capazes de ablação verdadeira dentro de coagulação térmica residual significativamente menor. A radiação de 2940 nm do laser de Er:YAG tem aproximadamente dez vezes o grau de absorção de água quando comparada com os laser de CO_2, explicando, desta forma, sua habilidade em produzir verdadeira ablação tecidual em contraposição à coagulação tecidual dos laser de CO_2 (ADRIAN, 1998).

SECKEL, YOUNAI e WANG (1998), observaram em pele de porco contração de 33,5% após aplicação de laser de CO_2 e um encurtamento da fibra colágena de 7,5% durante um experimento onde tatuaram 2 figura de 20 x 20 cm 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/cm^2. Estudaram 4 grupos de 3 animais, avaliados no dia 1, 28, 56 e 84. As figuras experimento mostraram conteúdo maior de colágeno, com pico de deposição no dia 56, o qual se apresentava mais compacto que o controle. Realizaram avaliação

tensiométrica onde as figuras experimento mostraram no dia 28 uma carga de ruptura maior e não significante que as figuras controle, no dia 56 uma carga de ruptura maior e significante ($p<0,05$) e no dia 84 mostraram-se praticamente iguais.

ROSS, BARNETTE, SKROBAL, GREVENLINK, ANDERSON e NASEEF (1999) estudaram experimentalmente pele de porco com o laser de CO_2. Foi aplicado o laser em 9 locais utilizando fluência baixa (9,5 J/cm^2), moderada (16 J/cm^2) e alta (32 J/cm^2). Mediram a contração imediata, logo após as passadas do laser e observaram que a contração tende a aumentar com o aumento da fluência e do número de passadas até atingir um máximo de 38% de contração, após o qual a percentagem de contração permanece constante. O dano térmico residual aumentou com o número de passadas nos grupos com fluências baixa e moderada, enquanto que nos grupos de fluência alta o dano térmico permaneceu constante com o aumento do número de passadas. Eles concluíram então que o laser de CO_2 produziu contração tecidual imediata e dano térmico residual que é saturável para múltiplas passadas e fluências altas. Para fluências baixas, entretanto, há um aumento quase linear no dano térmico e na contração com o aumento do número de passadas.

AUERSVALD (1999) aplicou laser de CO_2 ultrapulsado em pele de dorso de 8 ratos linhagem Wistar nos quais ele estudou o dano de ablação e o dano térmico residual. Os animais receberam 2 aplicações do laser regulado com CPG, potência de 300 mJ, energia de 60 W e fluência de 7,5 J/cm^2. Descreveu modelo morfométrico para medir ablação tecidual que foi de 178,50 μm e dano térmico residual de 100,68 μm.

FRANÇA (1999) fez estudo histopatológico das lesões causadas por duas e quatro passadas do laser de Er:YAG com 0% de sobreposição de spots, em dorso de ratos e concluiu que com quatro passadas a superfície foi mais regular ocorrendo a remoção de toda a epiderme homogeneamente.

RODRIGUES (2000) estudou os efeitos da contração tecidual e a fibroplasia em pele de ratos causadas pelo laser de CO_2 ultrapulsado e concluiu que o laser de CO_2 promoveu contração imediata de 49,71% que se manteve até o final do experimento (112 dias) com deposição de fibras colágenas finas, regulares e dispostas paralelas à epiderme com área de fibroplasia intensa com seu pico no dia 56, quando apresentou sua maior carga de ruptura. O estudo histológico demonstrou no dia 1 do experimento ablação tecidual de 154,80 μm e dano térmico residual de 235,89 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.

GRAF (2000) demonstrou que o laser de Er:YAG também produz contração imediata e tardia através de estudo experimental em dorso de ratos. A contração produzida pelo laser de Er:YAG foi menor do que a encontrada por RODRIGUES (2000) pelo laser de CO_2 que foi de 37,76% , e que se manteve até o final do experimento (112 dias) com deposição de fibras colágenas finas, regulares e dispostas paralelas à epiderme com área de fibroplasia intensa com seu pico no dia 56, quando apresentou sua maior carga de ruptura. O estudo histológico demonstrou no dia 1 do experimento ablação tecidual de 215,24 μm e dano térmico residual de 41,45 μm. Este estudo comprovou a hipótese de que o laser de Er:YAG provoca uma contração que se mantém ao longo do tempo.

2.3 ESTUDO DO LASER EM HUMANOS

O *resurfacing* de pele a laser começou a ser realizado em 1994 (HRUZA, 1995), com o laser de CO_2, para remoção de cicatrizes, rugas, lesões benignas de pele e transplante de cabelo. O uso do laser CO_2 expandiu-se como ferramenta para realizar incisões em queimaduras e no desbridamento de úlceras de decúbito, tendo vantagens a ausência de sangramento, menor edema e menos dor no pós-operatório. As limitações, por sua vez, incluíam pós-operatório difícil, doloroso, com manchas e pigmentações deixando um vermelhidão que se prolongava de três a quatro meses. Além disso, os primeiros sistemas de laser de CO_2 produziram danos térmicos de difícil controle, relacionados com os efeitos da difusão de calor em tecido adjacente, resultando em necrose térmica, podendo ocorrer cicatrizes hipertróficas.

GROSS et al. (1996) comparam o tratamento realizado com as tecnologias do laser de CO_2 e de Er:YAG em *resurfacing* de face de 20 pacientes. Realizaram várias passadas com cada laser para criar uma profundidade de dano cumulativo equivalente (ablativo mais coagulativo), requerendo acima de 8 passadas com o laser de Er:YAG, comparadas com 3 passadas do laser de CO_2. A contração da pele causada pelo laser de CO_2 foi associada com melhores resultados em algumas

rugas profundas, enquanto que o resultado foi similar para ambos os lasers em rugas finas ou superficiais.

McDANIEL, ASH, LORD, NEWMANN e ZUKOWSKI (1997) avaliaram prospectivamente a aplicação do laser de Er:YAG para determinar sua eficácia clínica em *resurfacing* de face, pescoço e mãos. Os resultados demonstraram que a crosta pós-tratamento findou em 2,7 dias, a dor em três dias, eritema em 5,2 dias e edema em 3 dias. Foi realizada uma análise dos pacientes 12 meses após a operação que revelou 52% de melhoria combinada de todas as áreas. Concluíram que, em geral, o laser de Er:Yag produziu consistente redução de rugas e aperfeiçoamento da aparência de pele danificada pelo sol. O tempo de reepitelialização e de duração do eritema foram menores do que aqueles tipicamente observados com o laser de CO_2.

DRNOVSÊK-OLUP e VEDLIN (1997) utilizaram o laser de Er:YAG para tratamento de 64 pacientes com desordens benignas de pele. Os resultados demonstraram que a epiderme foi efetivamente removida na base de camada por camada. Para ablação foram necessárias densidades de energia mais altas do que 2,5 J/cm^2. Não foram observadas cicatrizes durante a recuperação.

KYE (1997) avaliou a eficácia e segurança do laser de Er:YAG em *resurfacing* de cicatrizes faciais. Os resultados indicaram que três meses após o tratamento, todos os pacientes com cicatrizes pequenas (varicela) tiveram melhoria de 55% e pacientes com cicatrizes de acne de 40%. O autor concluiu que *resurfacing* de pele com laser de Er:YAG é um tratamento efetivo e seguro para cicatrizes faciais.

TEIKEMEIER e GOLDBERG (1997) avaliaram o papel do laser de Er: YAG no tratamento de rugas. Vinte pacientes com rugas periorais, periorbitais e frontais foram tratados. Pulsos de energia variando entre 400 e 800 mJ foram utilizados, bem como diâmetros de 2,5 e 5 mm. A reepitelialização ocorreu entre 4 e 10 dias. O eritema pós-operatório foi solucionado em menos de duas semanas. Melhora clínica ocorreu entre 3 e 8 semanas após o tratamento.

ACHAUER (1997) utilizou o laser de Er:YAG por ser menos agressivo embora não produza resultados dramáticos como os do laser de CO_2. Ele requer 2 a 3 vezes mais passadas para se obter resultado similar e produz mais sangramento por ter menor efeito coagulativo. As densidades de energia foram diferentes para o Er:YAG: os níveis podem ser: leve (5 a 8 J/cm^2), moderado (10 J/cm^2) ou pesado (12 a 14 J/cm^2). Geralmente são necessárias de 2 a 5 passadas com passadas adicionais nas áreas problemáticas.

ADRIAN (1998) tratou vinte pacientes com rugas faciais utilizando um laser de CO_2 de um lado e um laser de Er:YAG do lado oposto. Observou que quando profundidades iguais de coagulação tecidual (CO_2) e ablação tecidual (Er: YAG) são comparadas, seqüelas pós-operatórias são menos divergentes. Concluiu que linhas finas mostraram eficácia usando Er:YAG, rugas profundas apresentaram resposta ao *resurfacing* por CO_2.

BASS (1998) avaliou o tempo de recuperação, duração do eritema e melhora clínica usando o laser de Er:YAG (pulso 350 µseg, 2 J, diâmetro de 3 a 5 mm). 25 pacientes foram tratados com duas passadas em toda a face e de três a cinco passadas foram realizadas em unidades estéticas muito afetadas. Sangramento da superfície dérmica foi menor do que o comumente encontrado com a dermoabrasão, porém maior do que aquele provocado pelo laser de CO_2. Uma quantidade moderada de contração tecidual foi observada durante o tratamento. O período de reepitelialização foi entre 5 a 9 dias. A duração média do eritema (4,24 ± 1,5 semanas) foi relativamente curta comparada com o laser de CO_2.

PEREZ, BANK e SILVERS (1998) avaliaram clínica e histologicamente parâmetros específicos de tratamento de rugas pelo laser de Er:YAG. 15 pacientes apresentando rugas faciais periorais, periorbitais e totais foram tratados com o laser de Er:YAG, utilizando-se 0,8–1,0 J, diâmetro de 5 mm, com fluência final de 4–5 J/cm^2. Os resultados demonstraram que todos os pacientes apresentaram algum grau de melhoria de suas rugas. A reepitelialização ocorreu entre 3 e 8 dias e eritema resolveu entre 3 e 6 semanas. Após cinco ou seis passadas houve ablação da derme papilar profunda e da derme reticular superficial com resultado significativo no tratamento de rugas superficiais e médio-profundas.

WEINSTEIN (1998) realizou estudo em 141 pacientes usando um laser de Er:YAG computadorizado, observando que foi possível fazer ablação precisa da pele com menor dano térmico do que aquele observado com o CO_2. O sistema computadorizado permitiu realizar ablação homogênea e precisa da epiderme e da derme superficial, embora o *resurfacing* profundo tivesse levado ao aparecimento de sangramento. A recuperação foi mais rápida, o eritema menos evidente e desapareceu dentro de 3 a 4 semanas. Biópsias após seis semanas demonstraram formação de novo colágeno e diminuição da elastose solar. Estes resultados somente foram obtidos com fluências cumulativas de 20 J/cm^2, 20 Hz, com 30% de sobreposição.

HUGHES (1998) mediu a contração cutânea resultante do laser de

Er:YAG. Utilizando lentigos como marcas de pele foi aplicado o laser em áreas quadradas sobre a pele do antebraço. Os resultados mostraram que após 2 a 3 passadas do laser de Er:YAG houve um imediato encurtamento linear da pele de 4%, aumentando para 8% em uma semana, 11% em 2 a 4 semanas, 13% em 6 semanas e 14% em 16 semanas. Concluiu que o uso do laser de Er:YAG produz contração cutânea mensurável e que este fenômeno pode contribuir para o positivo encurtamento clínico da pele humana.

GOLDBERG (1998) estudou 100 pacientes com pele fototipo I a IV em região periorbital e perioral. Foi utilizado laser de Er:YAG com fluência de 4 a 10 J/cm^2 com 20 a 30% de sobreposição, sendo o ponto final ideal do laser a remoção das rugas ou sangramento suficientes para alcançar a derme. 88% dos pacientes mostraram reepitelização completa com 5 a 7 dias e 11% em até 14 dias. O eritema estava presente em 100% dos pacientes, que durou de 1 a 8 semanas. A hiperpigmentação pós-inflamatória ocorreu em 10% e resolveu entre 8 e 20 semanas e em somente um caso a hiperpigmentação permaneceu até 6 meses. Nos pacientes com rugas leves a melhora foi de 75 a 100% e nas rugas moderadas de 50 a 75%.

GOLDBERG e MEINE (1998) relata que a reepitelização após a abrasão depende da migração dos queratinócitos das estruturas pilosebáceas. Estas estruturas estão marcadamente diminuídas na pele do pescoço quando comparadas à pele da face, cicatrizando mais lentamente após a ablação da epiderme, com um risco mais alto de desenvolver cicatrizes hipertróficas. Foi utilizado o laser de Er:YAG numa fluência de 3 a 4,5 J/cm^2, com 4 passadas no pescoço com sobreposição de 10%. A cicatrização ocorreu em 7 a 10 dias e a resolução completa do eritema em até 20 dias. Concluíram que o resultado pode ser atribuído à alta especificidade pela água, menor profundidade de penetração e lesão térmica pequena quando comparado ao laser de CO_2.

POLNIKORN, GOLDBERG e SUWANCHINDA (1998) procuraram determinar a eficácia e segurança do tratamento com o laser de Er:YAG com fluências variando entre 5 e 15 J/cm^2 em 50 pacientes com pele do tipo asiático, apresentando rugas, cicatrizes ou alteração pigmentares. Houve melhora significativa em todos os pacientes. Períodos de pequena duração (5 a 7 dias) para reepitelização e resolução do eritema (1 a 8 semanas) foram notados. Concluíram que o laser de Er:YAG é um meio seguro e efetivo para tratamento de pele do tipo asiática.

GOLDBERG e METZLER (1999) estudaram 242 áreas em 61 pacientes com fotoenvelhecimento com rugas grau I e II (leve e moderada), utilizando o laser *Q-switched* Nd:YAG com comprimento de onda de 1064 nm e fluência de 2,5 J/cm^2. Este laser libera um raio que não é absorvido pela água do tecido e é não-seletivo dentro da derme e parece ser absorvido pelos melanossomas. Todos os pacientes receberam 3 tratamentos num intervalo de 1 mês cada. Após 8 meses houve melhora na textura e na elasticidade da pele. Por não provocar ablação epidérmica este tipo de laser tem um baixo risco de eritema prolongado e a pequena lesão térmica tem um importante papel no remodelamento dérmico com melhora das rugas finas.

GOLDMAN e MANUSKIATTI (1999) fizeram um estudo com 10 pacientes que receberam, em metade da face laser de CO_2 ultrapulsado , 3 passadas à 300 mJ, e na outra metade da face, 2 passadas de laser de CO_2 ultrapulsado à 300 mJ seguido de 2 passadas de laser de Er:YAG com fluência de 14 J/cm^2. Foi observado que no período imediato após o laser o dano térmico no lado do CO_2 foi de 80 µm e no lado do CO_2 /Er:YAG foi de 20 µm. A epiderme se refez 1 a 2 dias mais rápido no grupo CO_2/Er:YAG. A densidade de vasos sanguíneos estava aumentada na derme papilar superficial no grupo CO_2. O eritema estava resolvido dentro de 2 a 3 semanas no grupo CO_2/Er:YAG e persistiu em todos os pacientes do grupo CO_2 até 8 semanas. Este trabalho demonstrou que esta associação tem a vantagem do efeito térmico previsível do laser de CO_2 que resulta num aquecimento do colágeno dérmico causando sua contração e tem-se adicionado a ele o efeito altamente específico de ablação do laser de Er:YAG para reduzir o seu dano térmico não específico, o que leva à diminuição no tempo de cicatrização pós-operatória e no grau de eritema.

ALSTER (1999 a) utilizou 6 diferentes tipos de laser de Er:YAG: Candela, Continuum Biomedical, HGM, MDLT, SEO e Sharplan-ESC em 12 pacientes, com fluência idêntica de 5,0 J/cm^2, 3 passadas. Não foi observado contração do colágeno durante o procedimento. Em todos os pacientes com 1 semana já havia reepitelização completa. Hiperpigmentação ocorreu até a quarta semana de pós-operatório. A melhora clínica foi de 50%. Histologicamente, 3 passadas de Er:YAG provocou uma ablação de 8 a 12µm sem efeito térmico residual na derme. O efeito termomecânico do laser de Er:YAG resultou em menor difusão térmica, necrose coagulativa, hemostasia e contração do colágeno. Diferentes sistemas de Er:YAG não produzem medidas diferentes de efeitos teciduais.

WEISS, HARRINGTON, PFAU, WEISS e MARWAHA (1999) avaliaram o

efeito clínico e histológico do laser de Er:YAG no *resurfacing* regional. Quinze pacientes foram submetidos à aplicação de laser de Er:YAG, 3 passadas com uma fluência de 21,2 J/cm^2. A terceira passada foi utilizada fluência de 15 J/cm^2 diretamente na linha da ruga. Ele observou que a reepitelização foi rápida com duração média de 2,65 dias. A permanência do eritema durou em média 2 semanas. A histologia mostrou ablação completa da epiderme na primeira passada com zona de dano térmico de 10 µm, sendo que após a segunda e terceira passada a ablação térmica foi de 10 µm dentro da derme papilar com um aumento de 10 µm para 20 µm no dano térmico residual. Concluíram que o uso do laser de Er:YAG de forma regional apresentou menor eritema, reepitelização mais rápida, menor morbidade e diminuição das linhas de demarcação que o laser de CO_2 com resultados clínicos semelhantes.

WEINSTEIN (1999) relata que após 1 ano de uso do laser de Er:YAG mudou totalmente sua conduta no *resurfacing* de face que anteriormente era realizado com o laser de CO_2. Atualmente somente utiliza o laser de Er:YAG na forma computadorizada e o uso combinado de laser de CO_2 seguido da aplicação de laser de Er:YAG. A aplicação do laser de Er:YAG após o uso do laser de CO_2 remove a necrose de coagulação até níveis residuais de dano térmico de 30 a 50 µm, diminuindo a morbidade e complicações relacionadas com o laser de CO_2 sem aparentemente mudar os benefícios estéticos alcançados tardiamente com este tradicional laser. E em outro artigo WEINSTEIN (1999) refere que o laser de Er:YAG pode ser usado com sucesso para o *resurfacing* de face, com menor morbidade que o laser de CO_2 . Em uma série de 625 pacientes refere um ganho estético a longo termo (mais de 6 meses) em rugas e cicatrizes de acne. As rugas profundas são melhores tratadas com uma combinação de laser de Er:YAG e CO_2 e complicações são relativamente incomuns.

UTLEY, KOCH e EGBERT (1999) compararam os efeitos do laser de Er:YAG e CO_2 isolados e em associação. Foi utilizado o laser de CO_2, fluência de 4,7 J/cm^2 e o laser de Er:YAG, fluência de 4,7 J/cm^2. Fez estudo histológico de pele da região pré-auricular em 10 pacientes, durante a ritidoplastia. As regiões pré-auriculares foram divididas em 4 tratamentos distribuídos da seguinte maneira: CO_2 (4 passadas), CO_2 (2 passadas) seguido por Er:YAG (4 passadas), Er:YAG (8 passadas), Er:YAG (4 passadas) seguido por CO_2 (2 passadas). Verificou que após 7 dias havia cicatrização completa e foi observada rica formação de colágeno em todos os grupos. No grupo CO_2 seguido pelo Er:YAG ocorreu uma melhor reepitelização e regeneração dérmica.

STUZIN, BAKER e BAKER (1999) em um artigo sobre a perspectiva

pessoal e atualidades no uso do laser de CO_2 e de Er:YAG, relataram os principais avanços terapêuticos conseguidos com o advento do laser de Er:YAG: a precisão na ablação, com profundidade que não diminui progressivamente após múltiplas passadas se comparada com o laser de CO_2, e a zona de dano térmico comparativamente menor. Além disso, ocorreu menor eritema pós-operatório e um possível decréscimo na profundidade do Er:YAG quando comparado ao laser de CO_2.

McDANIEL, LORD, ASH e NEWMAN (1999) estudaram os efeitos da aplicação do laser de CO_2 isolado e seguido de Er:YAG em 20 mulheres voluntárias, pele fototipo I a III, com rugas periorais médias a profundas. Foi aplicado o laser de CO_2 ultrapulsado, 2 passadas, com fluência de 7,5 J/cm^2, seguido do laser de Er:YAG, 3 passadas, com fluência de 5,2 J/cm^2. Houve 70% de melhora das rugas, sem qualquer diferença vista entre os dois tratamentos. No local onde a aplicação do laser de CO_2 foi seguida pela aplicação do laser de Er:YAG houve redução do tempo de epitelização (de 7,4 para 6,5 dias). Concluiu que a aplicação do laser de Er:YAG após a aplicação do laser de CO_2 é equivalente ao uso isolado do laser de CO_2 e superior ao uso isolado do laser de Er:YAG que apresenta vantagens como cicatrização mais rápida.

GOLDMAN, FITZPATRICK e MANUSKIATTI (1999) estudaram 20 pacientes consecutivos separados em 2 grupos de 10 pacientes. O objetivo do trabalho foi avaliar o tratamento de pele de pescoço fotoenvelhecida com o laser de Er:YAG. Foram usadas 2 metades de tratamento com 2 passadas. No primeiro grupo foi utilizado fluência de 8,7 J/cm^2 na primeira passada, seguida de 2 a 9 J/cm^2. No segundo grupo todo o pescoço foi tratado com uma passada, fluência de 13,5 J/cm^2, seguida de segunda passada apenas na metade superior do pescoço com fluência de 2 a 6 J/cm^2. Após 6 meses houve normalização da epiderme com aumento de colágeno novo na derme. A melhora da textura da pele foi maior no segundo grupo. Concluiu que a pele fotoenvelhecida do pescoço pode ser tratada com o laser de Er:YAG com mínimos efeitos colaterais.

DOVER (1999) relatou a opinião de nomes importantes da história do laser, discutindo sobre o rejuvenescimento facial com laser de CO_2 e Er:YAG. Atualmente estão usando o laser de CO_2 associado ao laser de Er:YAG, pois diminui o tempo de cicatrização e de eritema e complicações como cicatrizes hipertróficas e hipopigmentação tardia. O laser de Er:YAG tem sua aplicação quando há a necessidade de remover uma camada fina de tecido sem liberar calor para a derme. É

de grande uso no pescoço. Outra situação é na remoção da necrose térmica deixada pelo laser de CO_2. Quando se deseja um *resurfacing* mais superficial poderá ser feito com uma passada única de CO_2 ou duas de Er:YAG que poderá ser equivalente.

GRAF, BERNARDES, AUERSVALD e NORONHA (1999 a) utilizaram o laser de CO_2 sobre o retalho facial durante ritidoplastias. Observaram que não houve necrose do retalho cutâneo em nenhum paciente (total de 106 pacientes) realizando biópsias em 10 casos sendo comprovado que o laser atingiu somente até derme reticular superficial mantendo a vascularização subdérmica intacta.

3 MATERIAL E MÉTODO

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 se encontrava instalado o aparelho de laser de Erbium-YAG para a realização do procedimento cirúrgico, após o qual retornaram ao local de origem.

As peças retiradas do experimento foram levadas para o laboratório de química e petroquímica do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR) onde foram feitos os estudos de tensiometria e para o Laboratório de Patologia Experimental da Pontífica Universidade Católica, PUC do Paraná, onde foram realizados os estudos de morfometria digital e histologia.

Neste trabalho, foram seguidas as Normas para 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.

Os animais foram separados, de maneira aleatória e randomizada, em 2 grupos de 25 ratos sendo um grupo definido como grupo controle e o outro como grupo Erbium. Foi confeccionado retalho descrito por KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) de base caudal em todos os animais e aplicado laser de Er:YAG sobre o retalho somente no grupo Erbium.

3.2 CUIDADOS COM OS ANIMAIS

Os animais permaneceram no biotério do IPEM em caixas plásticas padrão, mantidos em temperatura e umidade naturais do ambiente, com livre acesso à água potável e ração de origem industrial, em ciclo circadiano claro/escuro.

3.3 LASER

O aparelho utilizado neste estudo foi o laser de Er:YAG- DERMA^{TM} K, ESC Medical Systems-Ltd., (Yokndam Industrial Park, Israel) (figura 1). Este laser poder ser utilizado nos seguintes parâmetros: energia variando de 0 a 1,5 J, a potência pode ir até 20 W, a fluência é dada em J/cm^2 e varia conforme a potência utilizada. O tamanho do ponto do laser pode variar de 3 a 6 mm e ser utilizado de modo contínuo ou pulsado. Quando é usado o gerador de padrões computadorizados (CPG), as regulagens podem ser no formato quadrado, retangular e circular; o tamanho pode ir de 1 a 10; a frequência de repetição de 0 a 50 pulsos por segundo; o ângulo de 0 a 90 e a sobreposição de 0 a 50% (figura 2).

FIGURA 1 – APARELHO DE LASER.



NOTA: Laser de Erbium:YAG - Derma K -Esc Medical Systems-ltd., (Yokndam Industrial Park, Israel)

FIGURA 2 – TELA DE PROGRAMAÇÃO DO LASER.



NOTA: Parâmetros utilizados no experimento: energia-1,5 J; velocidade 20 pps.

3.4 ANESTESIA

Os animais receberam anestesia tipo inalatória com ventilação expontânea. 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 do plano anestésico. Foi considerado o animal anestesiado, quando este se apresentava imóvel ao manuseio e havia a perda do reflexo corneano, mas com freqüência e amplitude respiratórias normais. Manteve-se o plano anestésico com sistema aberto durante os procedimentos.

3.5 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

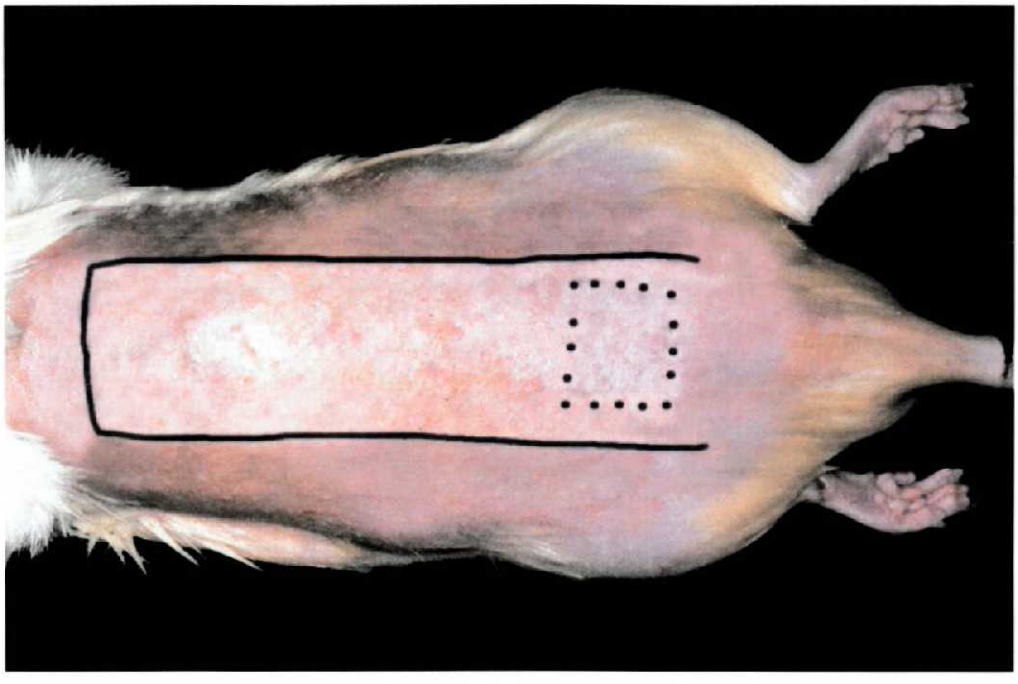
Após a realização da anestesia, cada animal foi posicionado em decúbito ventral, para a tricotomia da região dorsal do rato, com lâmina de aço inoxidável (Gillette® - Gillette do Brasil Ltda), seguida de limpeza local com sabão neutro líquido e água corrente e secagem com gase. Foi desenhado com caneta de tinta solúvel em álcool um retalho cutâneo padronizado.

Este retalho, descrito por KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986), é constituído por pele e tela subcutânea, com pedículo de base caudal de 3 cm de largura x 10 cm de comprimento.

Os parâmetros para delimitação do retalho foram: superiormente o ângulo inferior das escápulas; inferiormente as cristas ilíacas e centralizados sobre a coluna vertebral. 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, para o estudo da contração (figura 3).

A figura anteriormente carimbada foi tatuada com tinta de natureza atóxica e os animais foram divididos em subgrupos de 5 ratos cada, sendo tatuadas linhas transversais na cauda de cada rato (I a IIIII) para a sua identificação.

FIGURA 3 – DORSO DO ANIMAL COM DESENHO DO RETALHO E DA FIGURA



3.5.1 Grupo controle

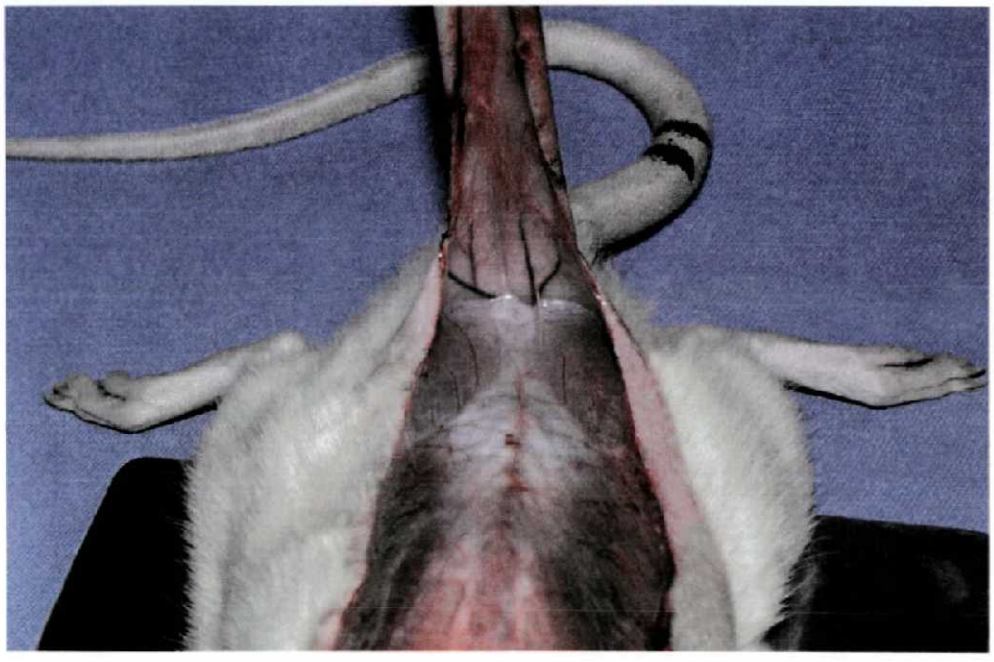
No grupo controle, após a anti-sepsia local com solução aquosa de polivinilpirrolidona-iodo, o retalho foi incisado com bisturi de lâmina número 15 e elevado da musculatura dorsal, utilizando-se como plano de dissecção a fáscia aponeurótica (figura 4). Em seguida foi realizada hemostasia dos vasos sangrantes. Tomou-se o cuidado para não lesar o pedículo do retalho, onde se encontravam os vasos sacrais (figura 5).

O retalho foi imediatamente recolocado em sua posição original e suturado por planos. Inicialmente com pontos separados subdérmicos, em posições simétricas, com fio monofilamentar de poliglecaprone 25 de espessura 4-0 e agulha PS-2. Em seguida, utilizando o mesmo tipo de material, foi realizada sutura contínua intradérmica em todo o retalho. O curativo foi mantido aberto.

FIGURA 4 – RETALHO DORSAL DE PEDÍCULO CAUDAL.



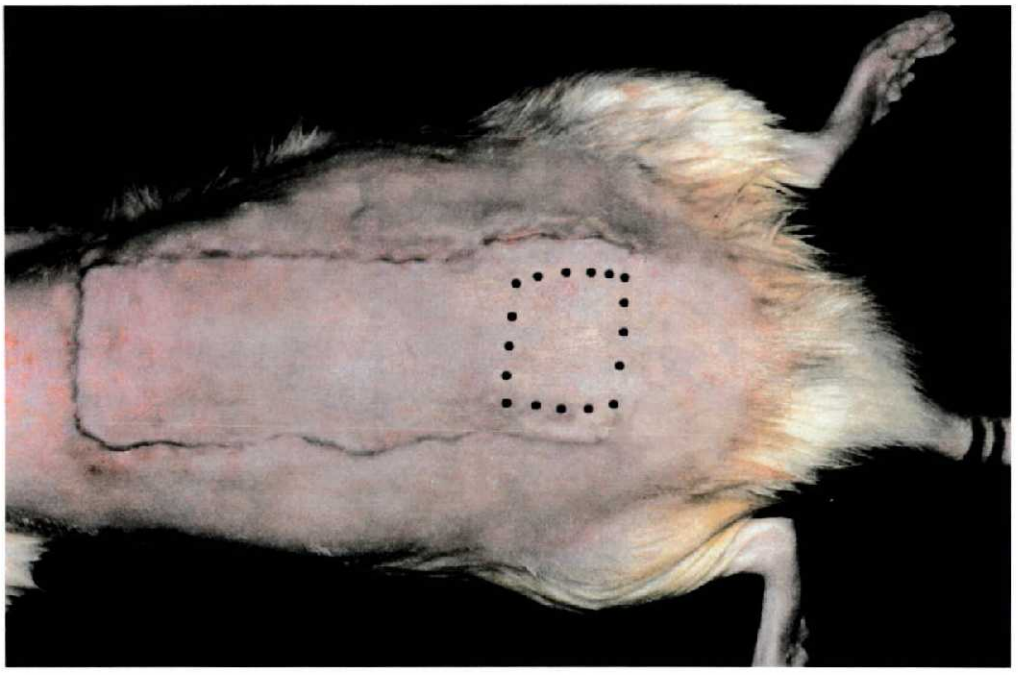
FIGURA 5 – BASE DO RETALHO OBSERVANDO-SE OS VASOS SACRAIS.



NOTA: O pedículo caudal tem duas artérias sacrais para a sua nutrição que penetram na base do retalho.

A figura 6 demonstra o retalho suturado após ser recolocado em sua posição original e a figura tatuada na sua base.

FIGURA 6 – DETALHE DO RETALHO APÓS SÍNTESE EM ANIMAL DO GRUPO CONTROLE.



3.6.2 Grupo Erbium

Na sala destinada ao aparelho de laser respeitaram-se as normas de segurança, como óculos de proteção e a prevenção de explosões, não se utilizando comburentes (gás oxigênio) ou combustíveis (álcool ou éter) no mesmo ambiente.

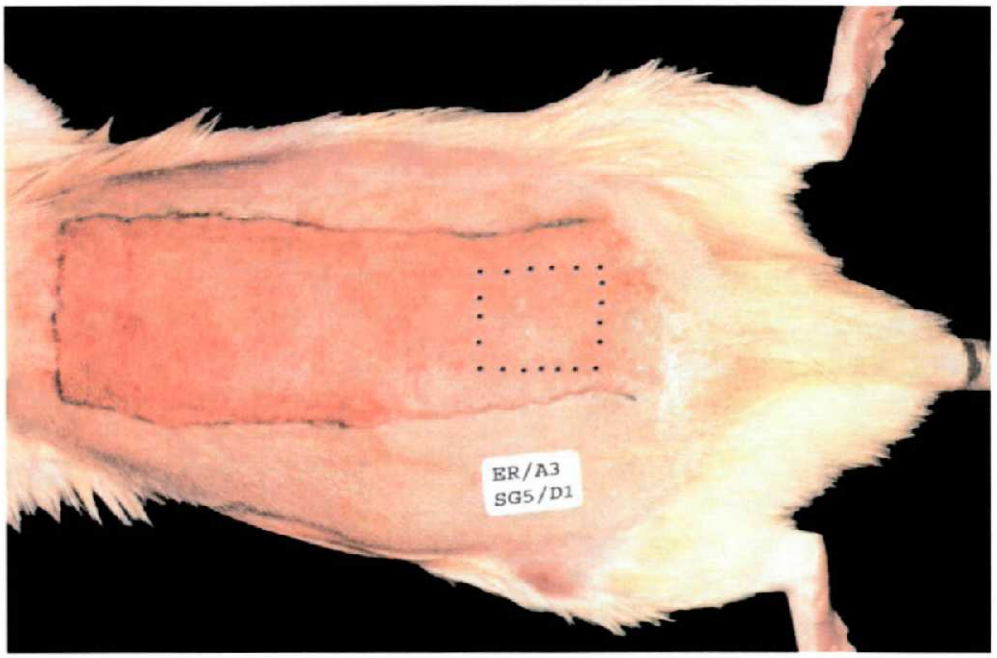
Nos animais do grupo Erbium foi aplicado o laser de Er:YAG- DERMA^{TM} K, ESC Medical Systems-Ltd., (Yokndam Industrial Park, Israel) antes da incisão do retalho (figura 7). Foi programado, conforme descrito por GRAF (2000), nos seguintes parâmetros: energia de 1,5 J e potência de 1,7 W, fluência de 21,4 J/cm^2, tamanho do ponto do laser de 3 mm e sendo utilizado um gerador de padrões computadorizados (CPG), com as regulagens: formato quadrado, tamanho 10, frequência de repetição de 20 pulsos por segundo, ângulo 0 e sobreposição de 30%.

FIGURA 7 - APLICAÇÃO DO LASER EM ANIMAL DO GRUPO ERBIUM.



Neste grupo foi realizado a confecção do retalho, nas mesmas dimensões do grupo controle, logo após a aplicação do laser (figura 8).

FIGURA 8 – ANIMAL DO GRUPO ERBIUM IMEDIATAMENTE APÓS SÍNTESE DO RETALHO E A APLICAÇÃO DO LASER.



NOTA: ER= grupo Erbium; A= animal; SG= subgrupo; D= dia. Observar a contração da figura tatuada.

3.7 PÓS-OPERATÓRIO

Logo após o ato cirúrgico os animais foram transferidos ainda anestesiados para a sala de procedimentos pós-operatórios. Foram mantidas as condições anteriores de alojamento e todos os procedimentos avaliação macroscópica e planimetria digital foram realizados igualmente nos subgrupos do grupo controle e Erbium, exceto a morfometria digital da fibroplasia que se apresentava apenas nos subgrupos do Erbium.

A pesagem foi realizada, após anestesia, nos seguintes dias: SG1 a SG5 nos dias 1 e 14, SG2 a SG5 no dia 28, SG3 a SG5 no dia 56, SG4 a SG5 no dia 84 e SG5 no dia 112. Foi utilizado balança eletrônica modelo V-1200 (ACCULAB). 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.

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

3.8 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

Todos os animais foram avaliados nos mesmos dias da pesagem, separados em subgrupos, durante todo o período do experimento, quanto à extensão da viabilidade e da área de necrose do retalho, aspecto da sutura, presença de hematoma, infecção, tecido de granulação, tempo de cicatrização e reepitelização.

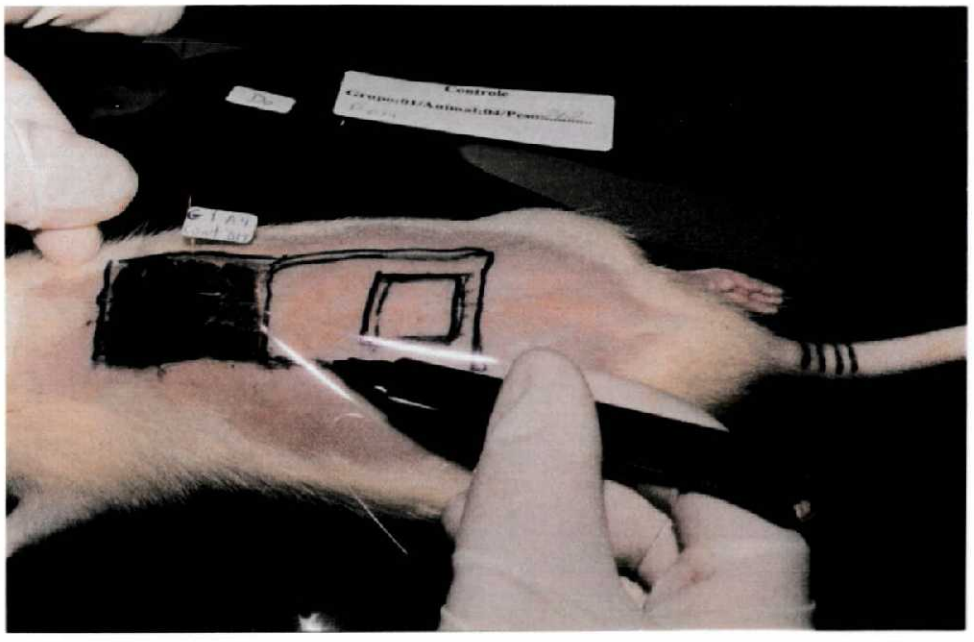
No grupo Erbium, além dos aspectos anteriores, também foi observado a cicatrização da superfície da derme exposta causada pelo laser.

Estes dados foram obtidos, sem anestesia, nos seguintes subgrupos diariamente: SG1 a SG5 do dia 1 ao dia 14 e SG2 a SG5 do dia 14 ao dia 28.

3.9 PLANIMETRIA DIGITAL

A avaliação da contração foi realizada em todos os animais vivos nos dias 1, 14, 28, 56, 84 e 112. No dia 1 o estudo foi realizado após a sutura do retalho e nos dias da eutanásia foi realizado após anestesia. As áreas do retalho de cada animal foram copiadas, assim como a área das figuras tatuadas de 2,2 x 2,2 cm próximo à base do retalho. Utilizou-se para este procedimento a aposição de filme transparente (Transparência PPC® - 3M do Brasil Ltda) e caneta de tinta solúvel em álcool (caneta Retro Projetor® - Faber-Castell) conforme demonstrado na figura 9.

FIGURA 9 – CÓPIA DE ÁREAS POR APOSIÇÃO PARA PLANIMETRIA DIGITAL



NOTA: Área de necrose da porção distal do retalho à esquerda.

As figuras obtidas foram digitalizadas através de *scanner* de mesa (Genius® - Kye Systems Corp.) com resolução óptica de 100 dpi, e enviadas a um computador Pentium® II e analisadas através do programa de computador Corel DRAW 9 e seus aplicativos, Corel PHOTO-PAINT® e Corel TRACE 9®, na seguinte seqüência:

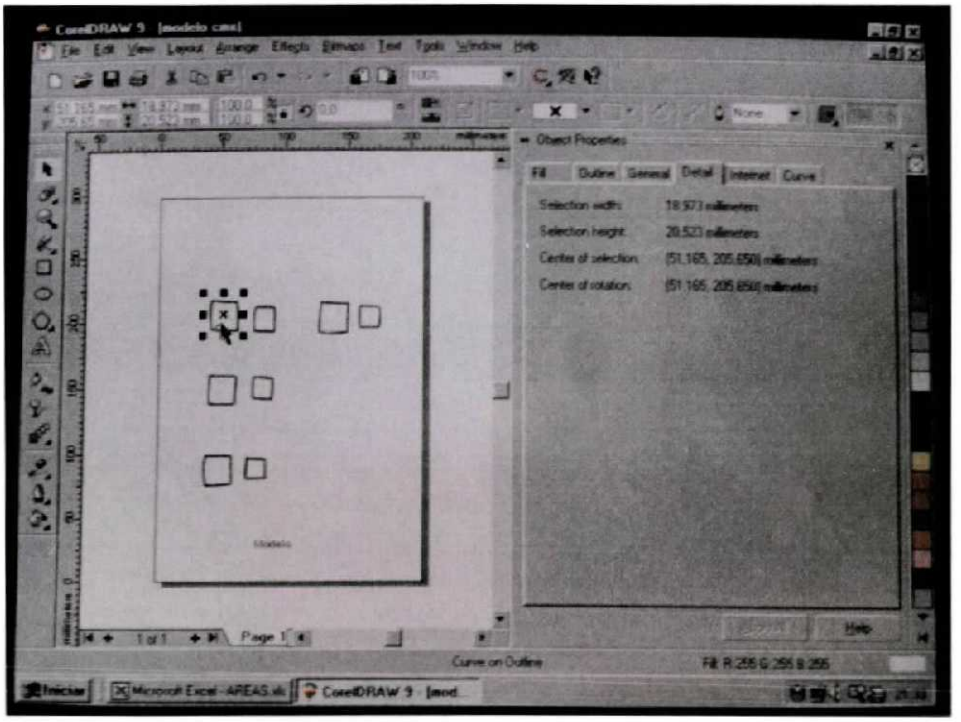
1- após a digitalização de cada folha do filme transparente como uma única

imagem, foi utilizado o aplicativo Corel PHOTO-PAINT® para serem eliminados objetos indesejados e imperfeições;

2- após a limpeza da imagem, esta foi convertida de colorida para preto e branco e de bpm (bytes per minutes) para vetor pelo aplicativo Corel TRACE 9®;

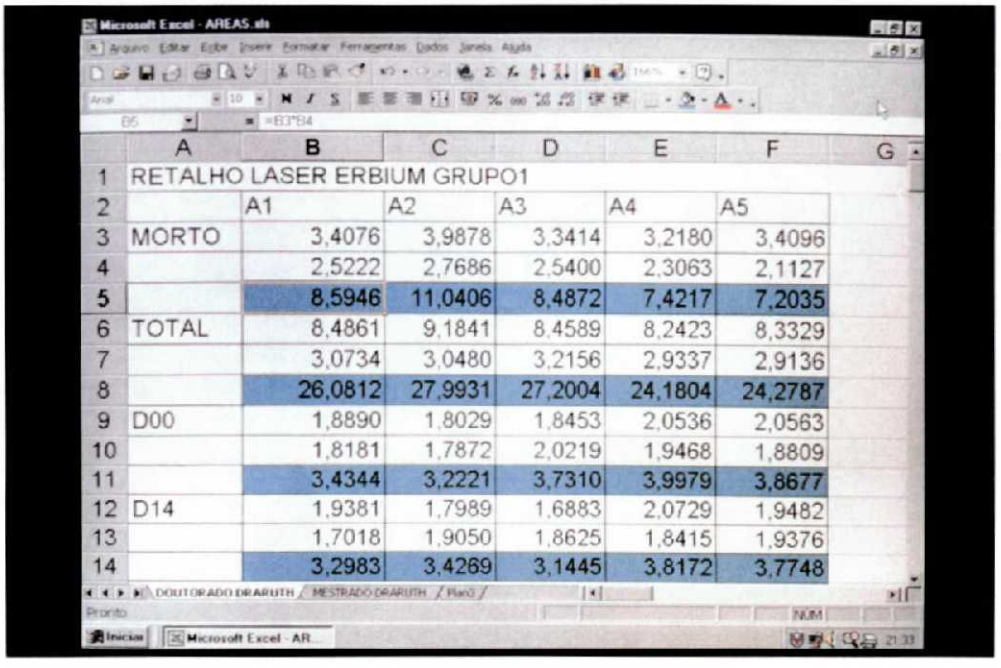
3- a imagem convertida foi enviada para o programa Corel DRAW 9®, que desagrupou a imagem em objetos individuais e obteve as propriedades do objeto, entre elas, as medidas da largura média e do comprimento médio (figura 10);

FIGURA 10 - 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 (figura 11).

FIGURA 11 - OBTENÇÃO DE ÁREA PELO APLICATIVO EXCEL 97®



	A	B	C	D	E	F	G
1	RETALHO LASER ERBIUM GRUPO1						
2		A1	A2	A3	A4	A5	
3	MORTO	3,4076	3,9878	3,3414	3,2180	3,4096	
4		2,5222	2,7686	2,5400	2,3063	2,1127	
5		8,5946	11,0406	8,4872	7,4217	7,2035	
6	TOTAL	8,4861	9,1841	8,4589	8,2423	8,3329	
7		3,0734	3,0480	3,2156	2,9337	2,9136	
8		26,0812	27,9931	27,2004	24,1804	24,2787	
9	D00	1,8890	1,8029	1,8453	2,0536	2,0563	
10		1,8181	1,7872	2,0219	1,9468	1,8809	
11		3,4344	3,2221	3,7310	3,9979	3,8677	
12	D14	1,9381	1,7989	1,6883	2,0729	1,9482	
13		1,7018	1,9050	1,8625	1,8415	1,9376	
14		3,2983	3,4269	3,1445	3,8172	3,7748	

3.9.1 Avaliação da área do retalho cutâneo

Considerou-se viabilidade do retalho toda área viva do retalho que apresenta aspecto normal de textura, coloração e morfologia, semelhante ao tecido não descolado. 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 Erbium após a aplicação do laser.

Os dados foram obtidos no dia 14,após anestesia, dos animais do SG1 ao SG5.

3.9.2 Avaliação da área da figura tatuada

A área da figura tatuada foi medida em cm^2. A área foi também calculada como 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, através da aposição de papel transparente, nos seguintes dias: SG1 a SG5 no dia 1 e no dia 14, SG2 a SG5 no dia 28, SG3 a SG5 no dia 56, SG4 a SG5 no dia 84 e SG5 no dia 112.

3.10 ESTUDO TENSIOMÉTRICO

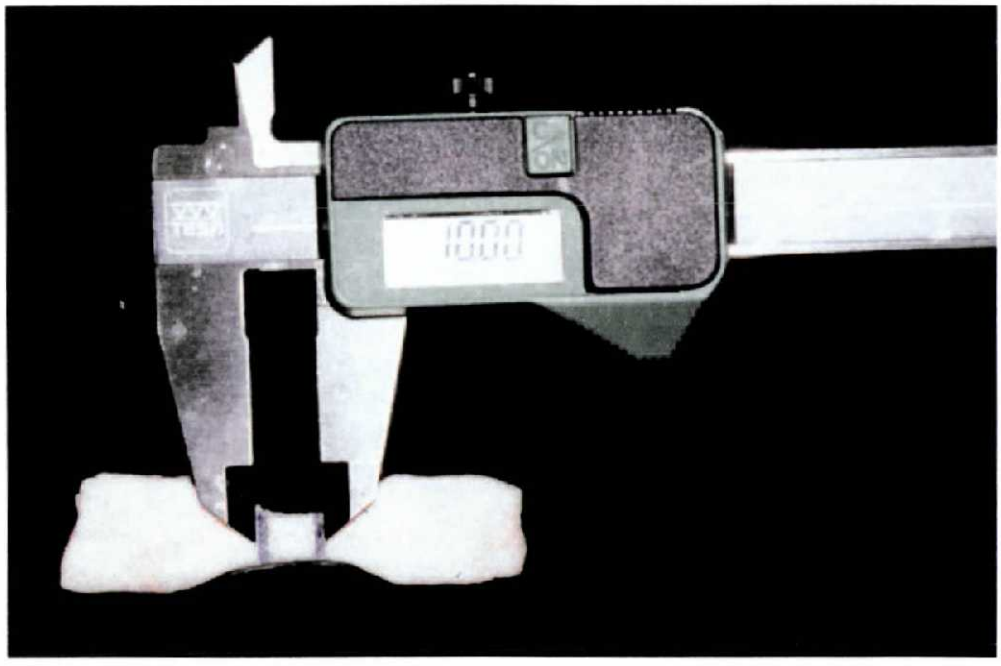
Para o estudo tensiométrico foi utilizada a Máquina Universal de Ensaios® (Alfred J. Amsler S., Co.®- Schaffhausen - Suíça), regulada com escala de sensibilidade até 20 Kgf e velocidade de alongamento manual de 52 mm por minuto. Os estudos foram realizados nos seguintes subgrupos e dias: SG1 no dia 14, 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.

Para a realização dos estudos tensiométricos foi ressecado de cada retalho um fragmento em forma de borboleta, medindo 45 x 15 mm, com a porção central de 15 x 8 mm, que foi imediatamente acondicionado em frasco contendo 20 ml de solução fisiológica a 0,9% resfriado a 10 °C e mantido nestas condições por três horas, até ser submetido a estudo tensiométrico.

Uma área teste de 10 mm de comprimento foi demarcada com caneta de tinta solúvel em álcool (caneta Retro Projetor® - Faber-Castell) no segmento central do fragmento. Durante a demarcação não foi exercida tração sobre a área a ser testada (figura 12).

FIGURA 12 – SEGMENTO CENTRAL DO FRAGMENTO MARCADO PARA TENSIOMETRIA



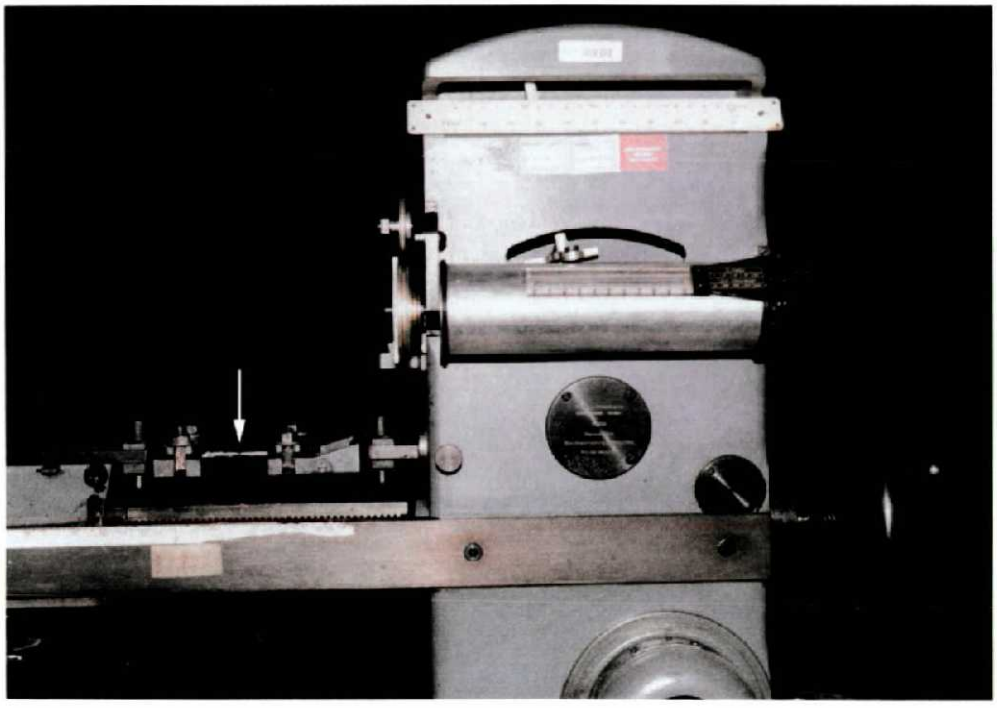
3.10.1 Carga de Ruptura

É a força necessária para o rompimento do segmento central do fragmento, expressa em quilogramas-força (Kgf) como demonstra a figura 13.

3.10.2 Alongamento de Ruptura

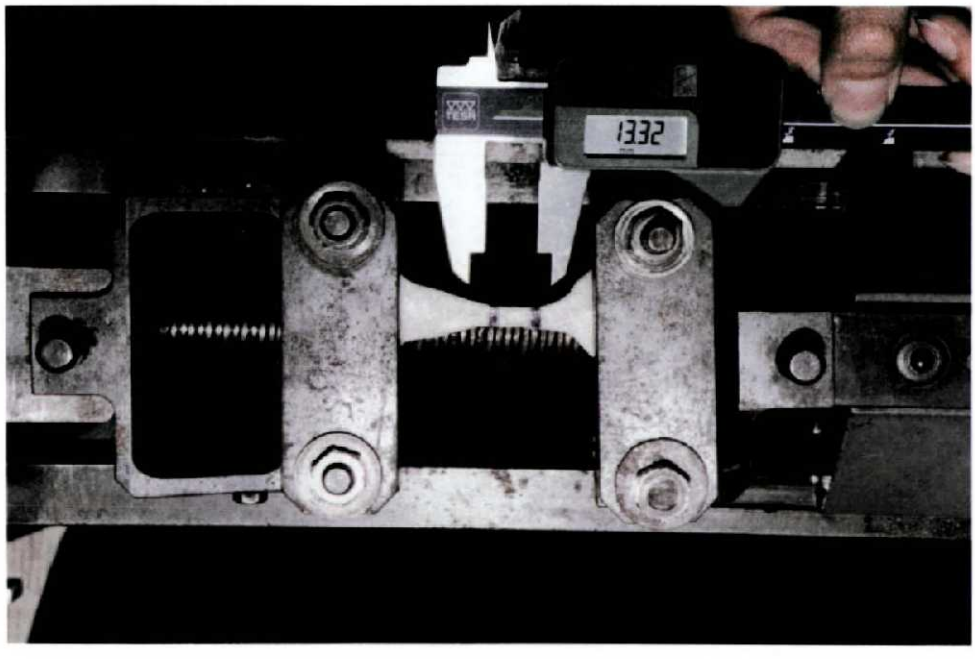
É o aumento de comprimento, em milímetros, do segmento central demarcado até o seu rompimento. O resultado é expresso em percentagem (%) (figura 14).

FIGURA 13 – DEMONSTRAÇÃO DA CARGA DE RUPTURA NA TENSIOMETRIA.



NOTA: Fragmento de retalho montado na máquina e sendo testado para carga de ruptura, indicado pela seta (↓)

FIGURA 14 – DEMONSTRAÇÃO DO ALONGAMENTO DE RUPTURA NA TENSIOMETRIA



NOTA: fragmento de retalho montado e sendo testado para alongamento de ruptura.

3.11 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, na sua porção central viável, 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 técnico, 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 contendo 2 cortes cada, conforme técnicas descritas em BANCROFT e STEVENS (1982). A primeira lâmina foi corada em hematoxilina-eosina (HE) para a verificação do processo de cicatrização do retalho e de fibroplasia cutânea, a segunda pela técnica de Weigert para a avaliação de fibras elásticas e a terceira pelo tricrômico de Mallory (TM) que permite a avaliação de fibras colágenas.

As alterações histológicas da pele foram avaliadas com a observação de cada uma das lâminas processadas utilizando-se a avaliação da epiderme e da derme na pele do grupo controle e do grupo Erbium.

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.

3.12 MORFOMETRIA DIGITAL

Para o estudo morfométrico foi utilizado equipamento composto de micrótomo 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

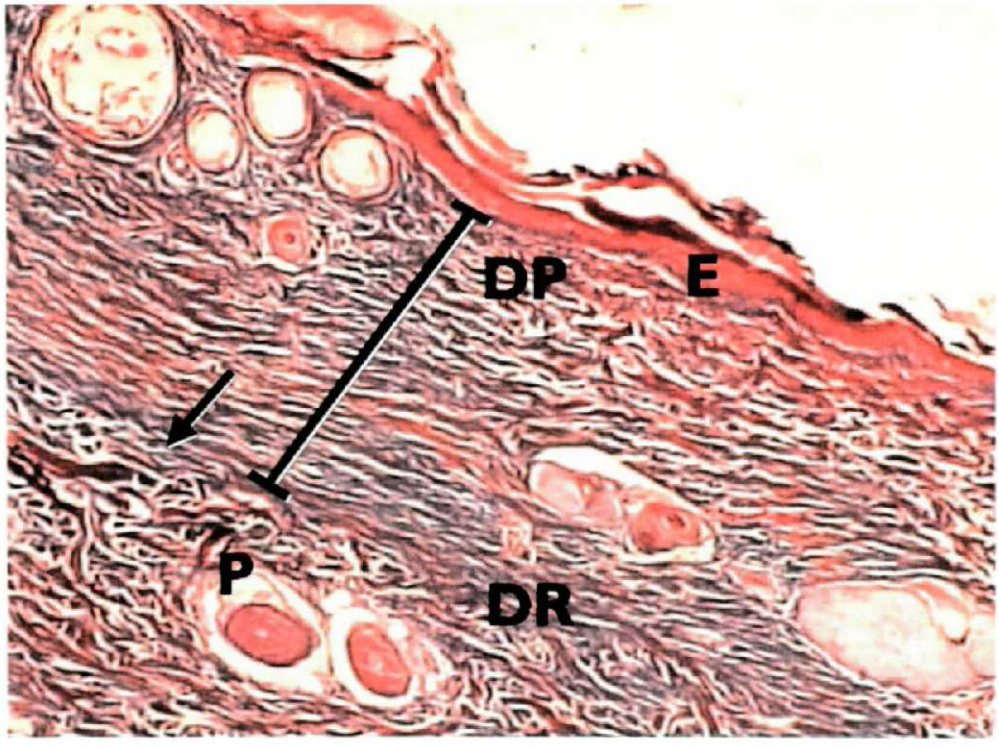
imagens a um microcomputador Pentium® II, que as digitalizou para serem analisadas pelo programa Optymas® 6.2.

Neste processo 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. A medida foi obtida do SG1 no dia 14, SG2 no dia 28, SG3 no dia 56, SG4 no dia 84 e SG5 no dia 112, somente no grupo Erbium.

Para medir a espessura da fibroplasia em lâminas coradas por HE, foi calibrado o programa Optymas® 6.2 em micrômetros para a objetiva de 10X, que, associada a ocular de 10X, proporcionou aumento total de 100X (figura 15).

Foram realizadas 30 medidas para cada lâmina, 5 por campo, e foram excluídos os campos em que se encontravam artefatos técnicos.

FIGURA 15 – MEDIDA DA ESPESSURA DA FIBROPLASIA. AUMENTO DE 100X



NOTA: Espessura fibroplasia (I); transição DN (derme normal) / DL (derme lesada) (↗); P= folículo piloso; E= epiderme; DR= derme reticular ou profunda; DP= derme papilar ou superficial.

3.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Neste estudo foram consideradas as variáveis percentual de viabilidade (%), área da figura tatuada (cm^2), 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 controle e o retalho do grupo Erbium. A avaliação foi efetuada no dia 14 em todos os animais vivos.

Para a variável da figura tatuada foi realizada a comparação entre o retalho do grupo controle e o retalho do grupo Erbium. As avaliações foram efetuadas nos dias 1, 14, 28, 56, 84 e 112 em todos os animais vivos.

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

Para estes 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 da hipótese de nulidade.

4 RESULTADOS

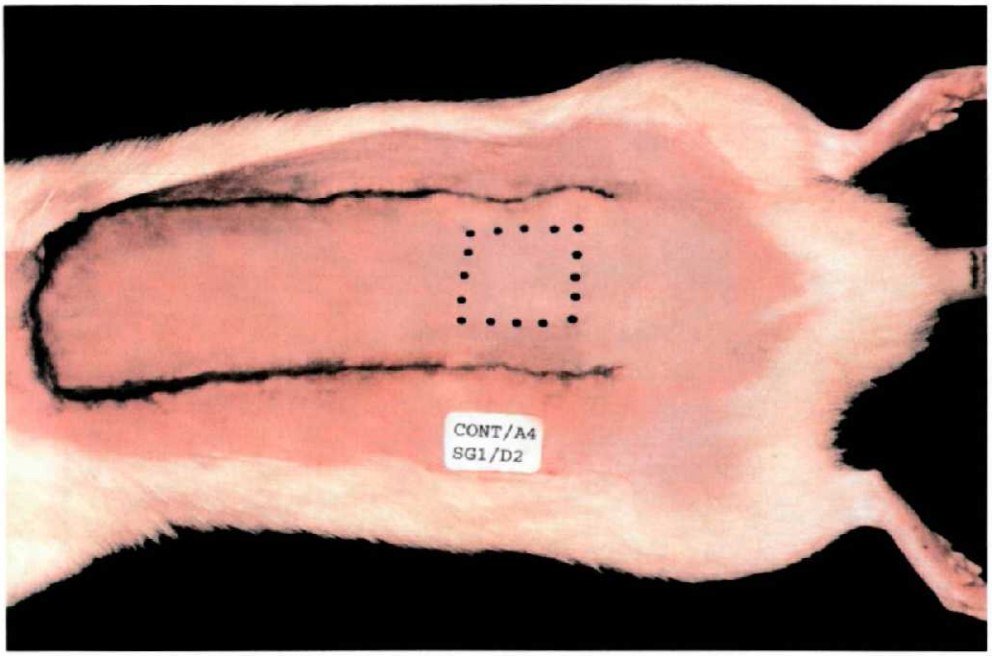
4 RESULTADOS

4.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DO RETALHO

4.1.1 Grupo Controle

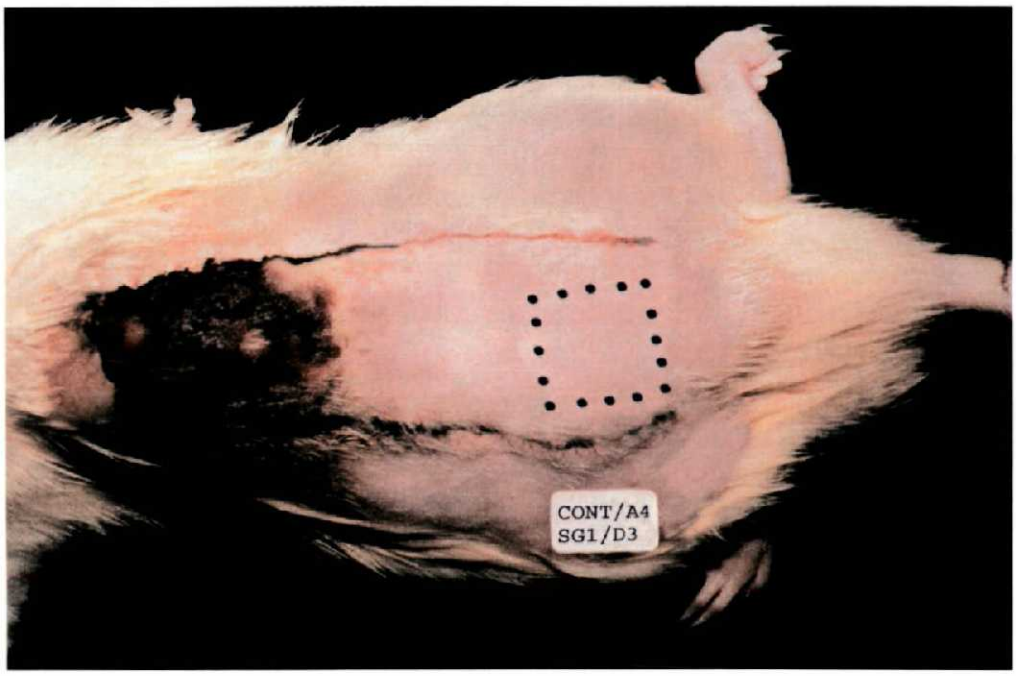
A observação diária do processo de cicatrização nos 25 animais do grupo controle foi realizada do dia 1 ao dia 14. O retalho apresentou evolução para necrose de sua ponta, iniciando com edema e isquemia de sua porção distal que foram observados em todos os animais deste grupo no dia 2 (figura 16), e necrose sem limites precisos também observada em todos os animais deste grupo no dia 3 (figura 17).

FIGURA 16 – RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 2



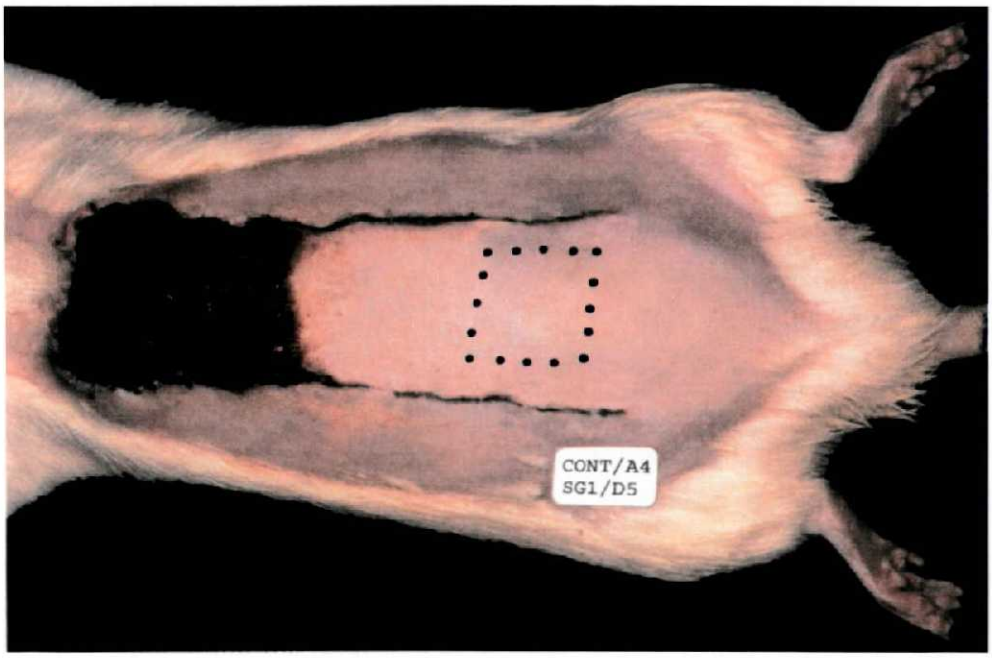
Nota: CONT= grupo controle; A= animal; SG= subgrupo; D= dia

FIGURA 17 – RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 3



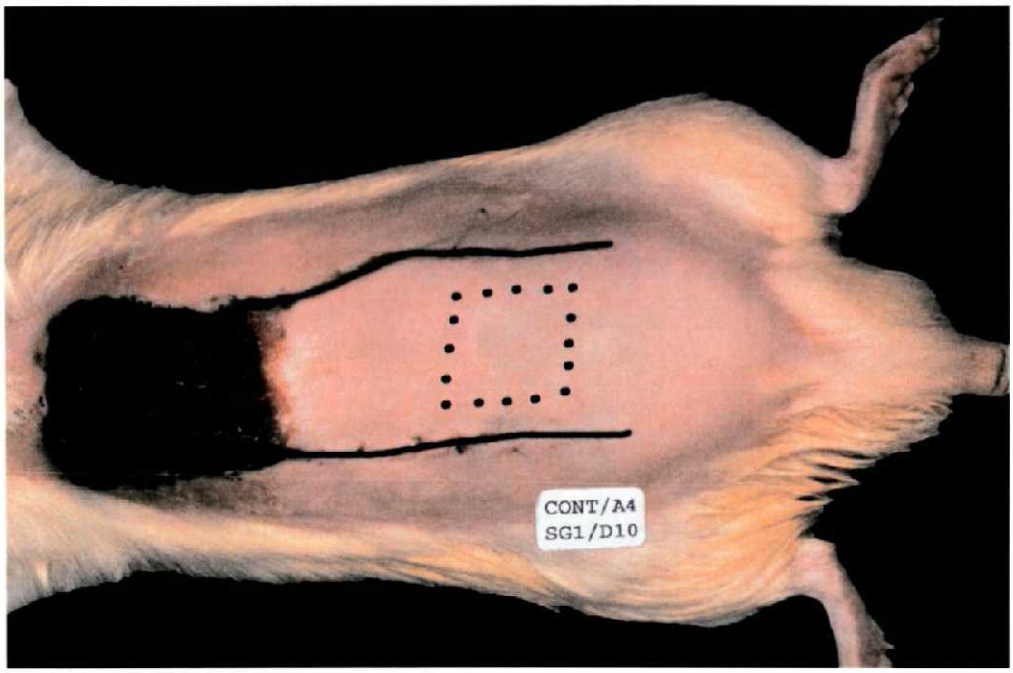
Na evolução até o dia 5, a necrose distal se tornou definida em todos os animais embora a linha de transição com o retalho vivo ainda não se apresentava bem delimitada (figura 18).

FIGURA 18 – RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 5



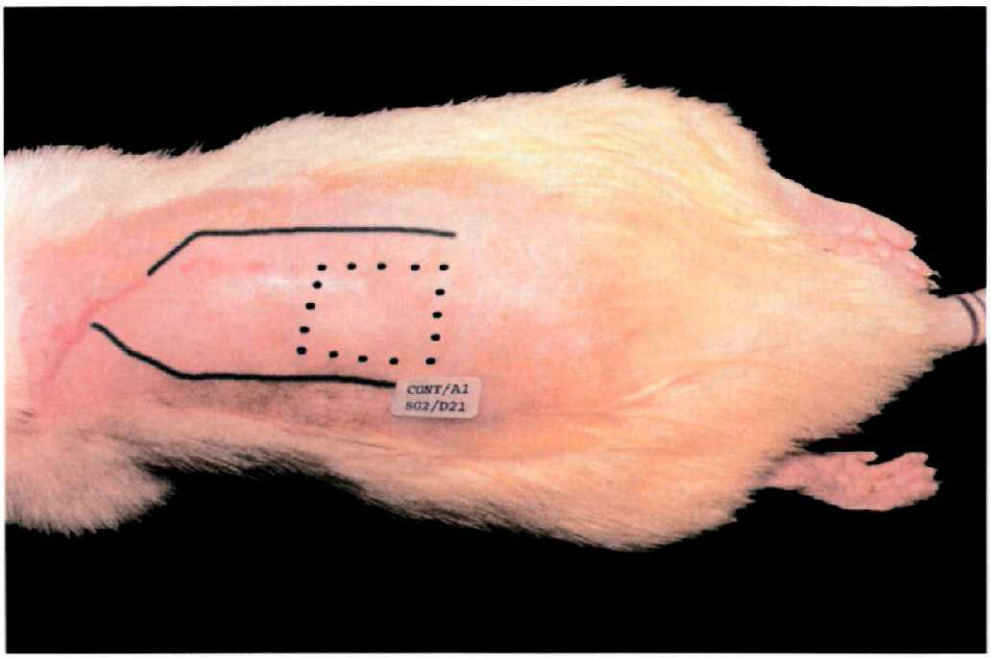
No dia 10 a transição entre retalho que sobreviveu e a porção distal necrótica era bastante nítida em todos os animais (figura 19).

FIGURA 19 – RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 1 (C) NO DIA 10



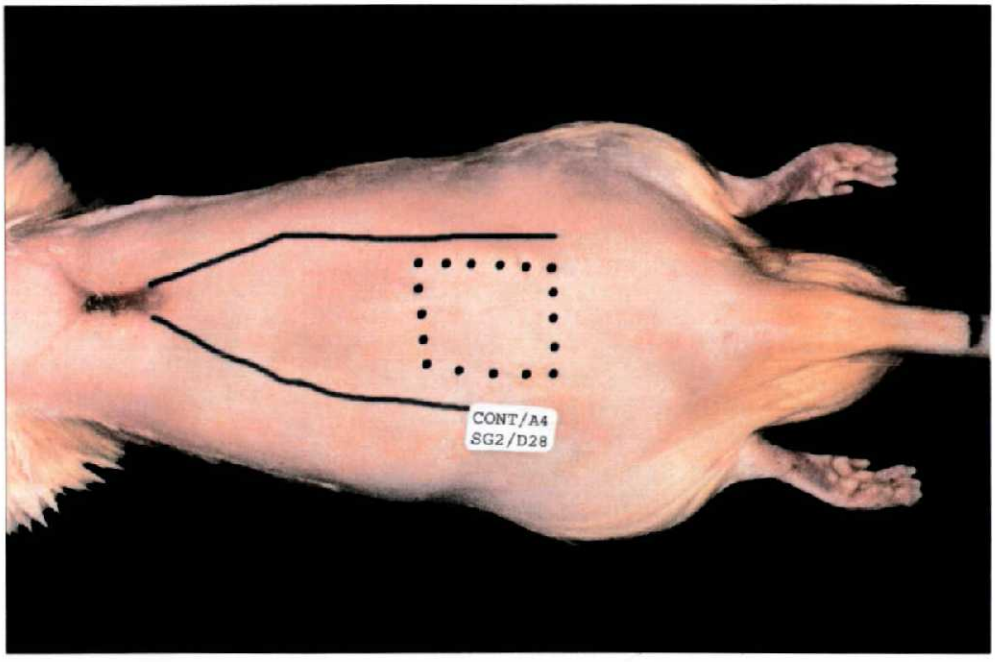
No dia 14 houve o destacamento da necrose distal em 3 dos 25 animais e, no dia 21, 9 animais apresentavam queda da crosta com sinal de reepitelização nesta região (figura 20).

FIGURA 20 – RETALHO DO ANIMAL 1 DO SUBGRUPO 2 (C) NO DIA 21



No dia 28 a reepitelização estava completa em 19 animais, sendo que em 6 animais podia-se notar ainda pequenas áreas de tecido de granulação (figura 21). Não foi observado hematoma, infecção ou deiscência de sutura em nenhum animal deste grupo.

FIGURA 21 – RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 2 (C) NO DIA 28



4.1.2 Grupo Erbium

No grupo Erbium, imediatamente após a aplicação do laser (dia 1), houve ablação completa da epiderme, com sangramento puntiforme e eritema homogêneo na derme remanescente sobre todo os retalhos deste grupo.

No dia 3 já apresentavam exsudação plasmática com formação de crosta em todos os 25 animais (figura 22).

No dia 5 a secreção sero-hemática já encontrava-se ressecada com a formação de crosta que começou a se destacar espontaneamente da porção proximal do retalho de 8 dos 25 animais (figura 23).

FIGURA 22 – RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 5 (E) NO DIA 3

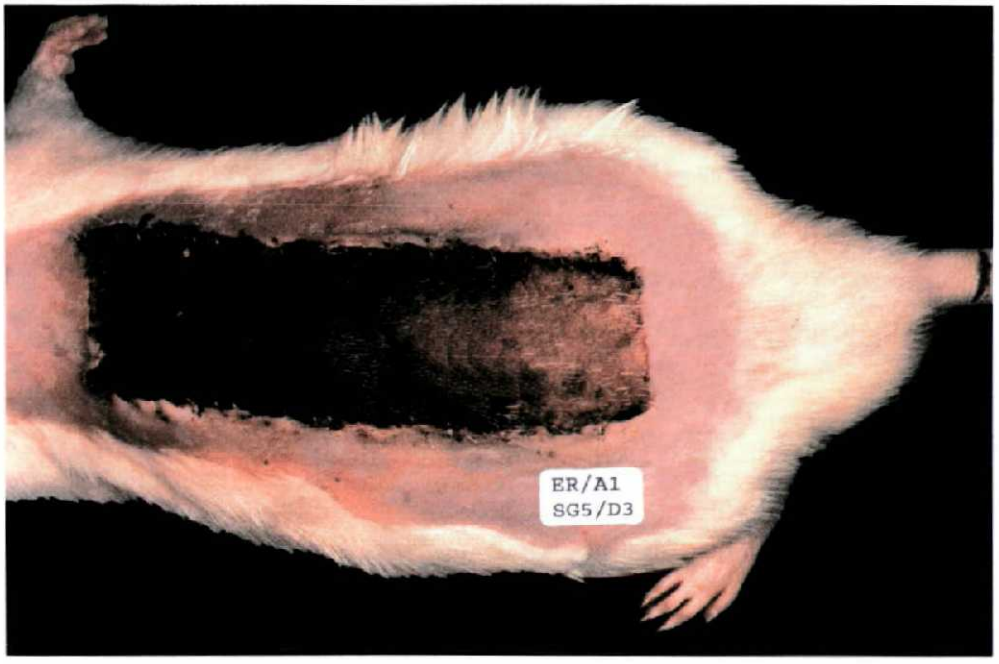


FIGURA 23 – RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 5 (E) NO DIA 5



No dia 10 em 9 dos 25 animais a crosta proximal encontrava-se firmemente aderida ao retalho impossibilitando qualquer tipo de avaliação e em 16 animais a

crosta sobre a porção proximal do retalho se destacou, facilitando a visualização e aparecendo retalho viável com hiperemia homogênea, embora sem uma linha de transição nítida com a área de necrose distal (figura 24).

FIGURA 24 – RETALHO DO ANIMAL 1 DO SUBGRUPO 5 (E) NO DIA 10

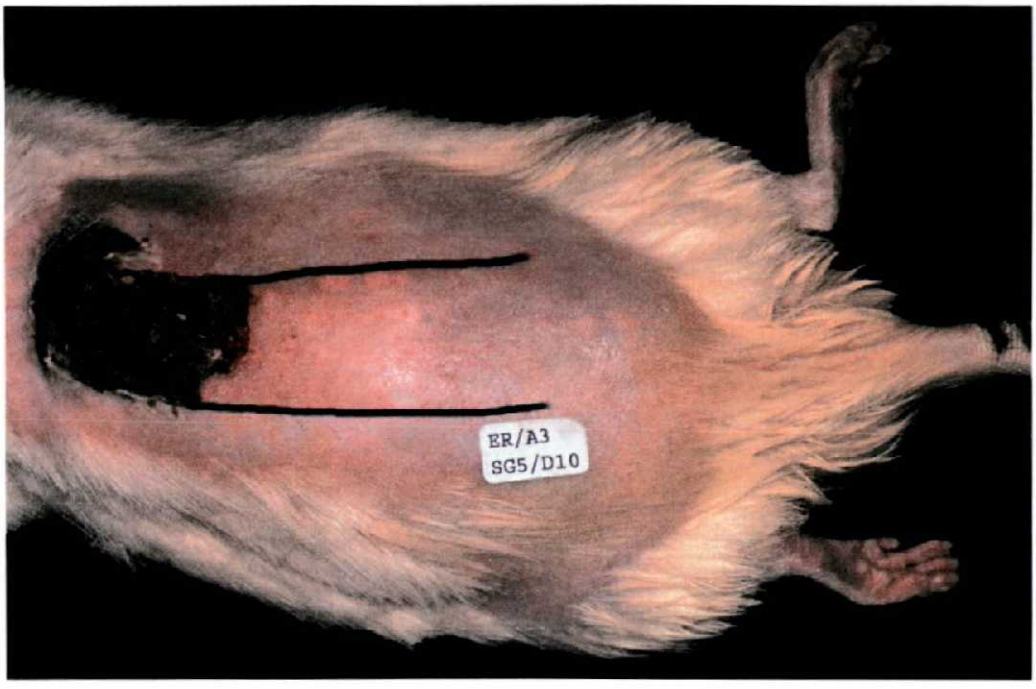
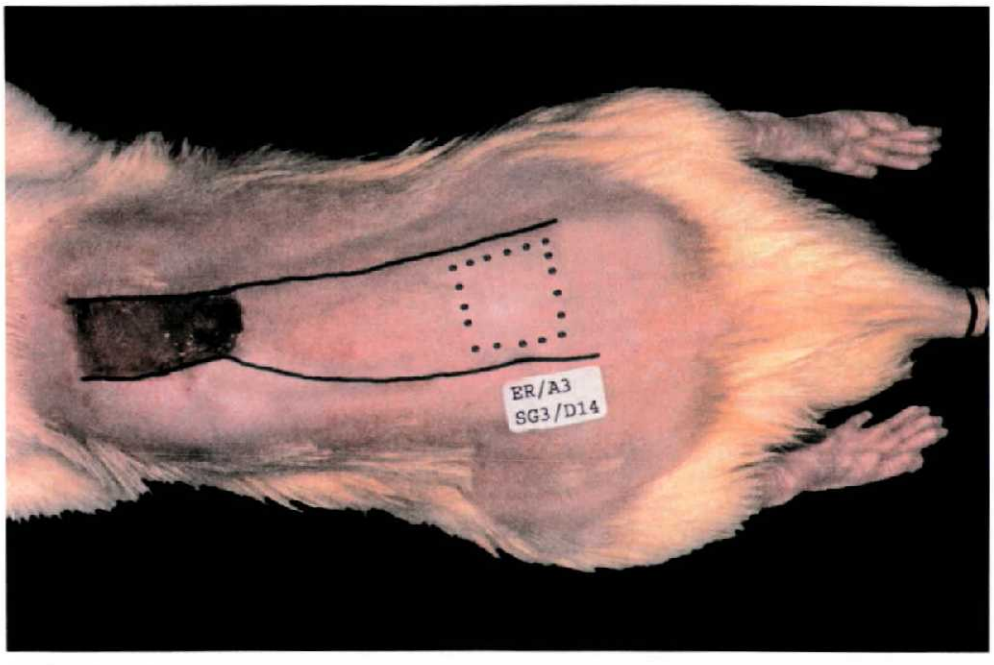


FIGURA 25 – RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 3 (E) NO DIA 14

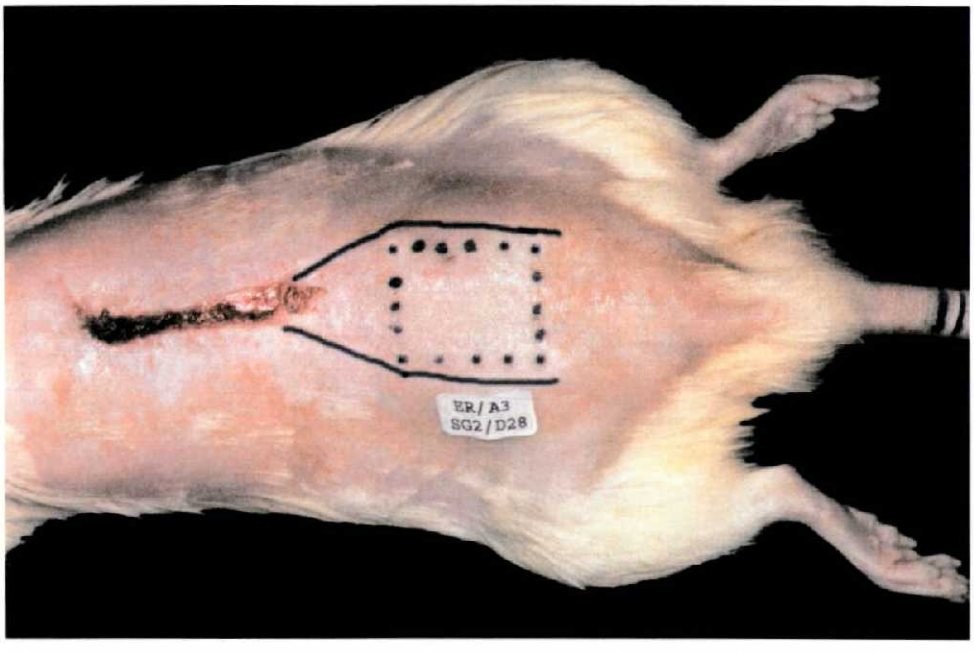


No dia 14 todos os animais apresentavam o retalho viável nitidamente, com nova epiderme fina e brilhante, e uma transição bem delimitada em relação à porção distal que evoluiu para necrose (figura 25).

No dia 21 nenhum dos 20 animais apresentava necrose distal, que se destacou, apresentando em seu lugar tecido de granulação, aparecendo retalho viável com hiperemia homogênea, que desapareceu a partir do dia 28 e a pele se tornou semelhante ao grupo controle até o final do experimento. No dia 28 a epitelização era completa em todos os 20 animais (figura 26).

Não houve hematoma, infecção ou deiscência de sutura neste grupo durante todo o período do experimento. Até o final do estudo a epiderme se mostrou de aspecto normal semelhante à pele do grupo controle.

FIGURA 26 – RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 2 (E) NO DIA 28



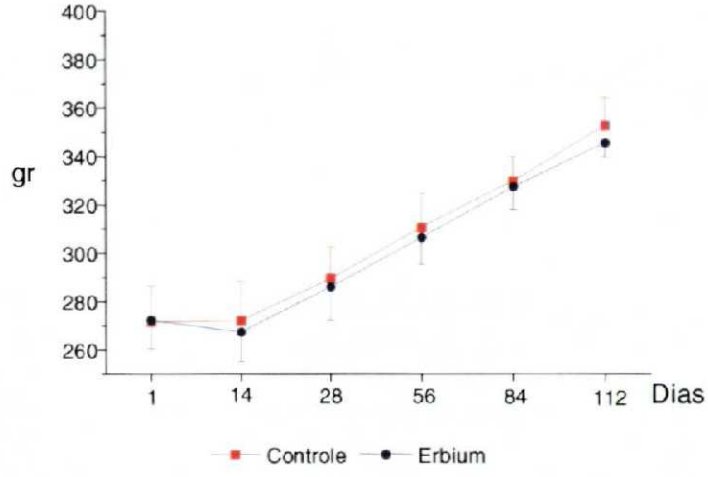
4.2 PESAGEM DOS ANIMAIS

Conforme o crescimento natural dos animais houve um aumento de peso durante todo o estudo, tanto no grupo controle quanto no grupo Erbium. No grupo

controle o peso médio antes do procedimento era de 271,56 g e peso médio final de 352,80 g. No grupo Erbium o peso médio antes do procedimento foi de 272,28 g e o peso médio final de 345,60 g.

O gráfico 1 mostra a média, desvio padrão, valor máximo e mínimo do peso doa animais do grupo controle e Erbium durante todo o estudo.

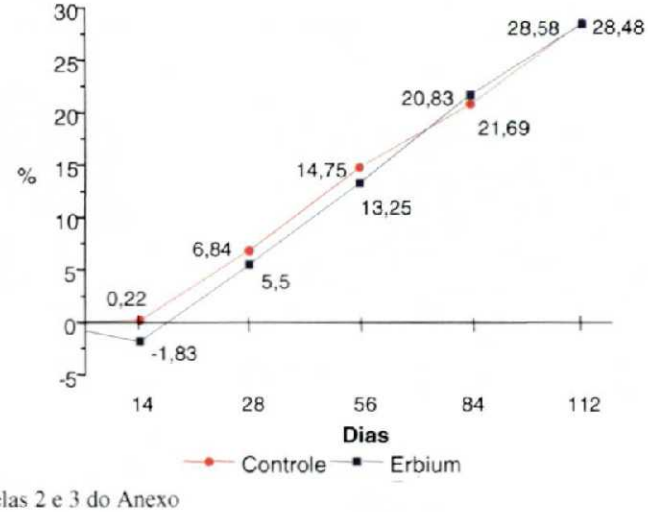
GRÁFICO 1. PESO DOS ANIMAIS (C + E), EM GRAMAS, DO DIA 1 AO DIA 112.



FONTE: Tabelas 2 e 3 do Anexo

No gráfico 2 pode ser observado que a variação percentual do peso no grupo controle foi de 28,5% e no grupo Erbium foi de 28,4%.

GRÁFICO 2. PESO DOS ANIMAIS (C+E), COMO % DO PESO INICIAL, DO DIA 1 AO DIA 112.



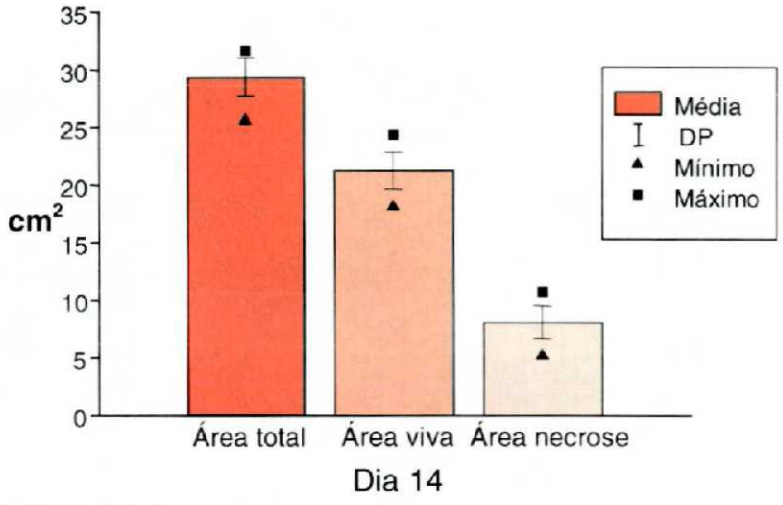
FONTE: Tabelas 2 e 3 do Anexo

4.3 PLANIMETRIA DIGITAL

4.3.1 Avaliação da área do retalho cutâneo

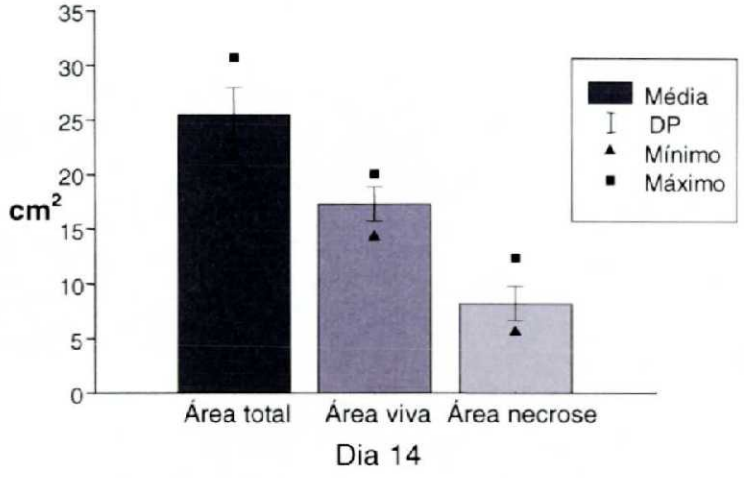
A planimetria digital demonstrou, no dia 14, que os retalhos dos 25 animais do grupo controle apresentavam área total média 29,41 cm^2, dividida em área viável de 21,28 cm^2e área de necrose de 8,13 cm^2 (gráfico 3). Neste mesmo dia os 25 animais do grupo Erbium apresentaram área total média de 25,61cm^2, sendo a área viável de 17,38 cm^2e a área de necrose de 8,23 cm^2 (gráfico 4).

GRÁFICO 3 – ÁREA DO RETALHO (C), EM CM^2, NO DIA 14



FONTE – Tabela 4 do Anexo

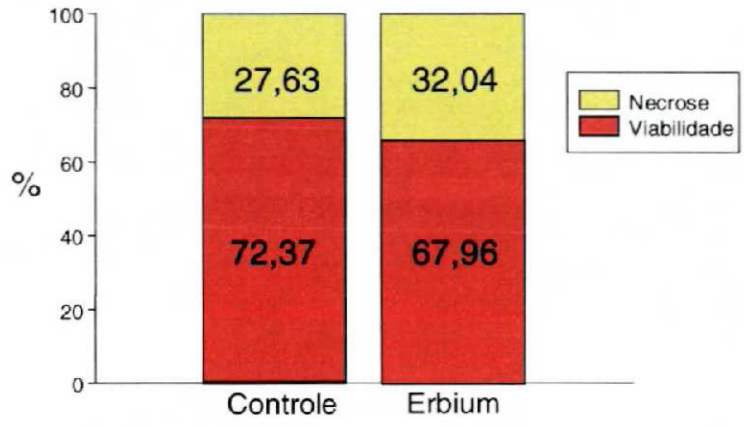
GRÁFICO 4 – ÁREA DO RETALHO (E), EM CM^2, NO DIA 14



FONTE – Tabela 5 do Anexo

Foram avaliadas as áreas viáveis e as áreas de necrose dos retalhos tanto do grupo controle quanto do grupo Erbium, percentualmente, em relação à sua área total. O gráfico 5 demonstra este percentual.

GRÁFICO 5 – ÁREA DO RETALHO (C + E), COMO % DA ÁREA TOTAL, NO DIA 14



FONTE – Tabela 4 e 5 do Anexo

Na análise estatística, testou-se a hipótese nula de que o percentual de viabilidade do retalho do grupo controle era igual ao do grupo Erbium *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	72,37	65,00	81,72	4,39
ERBIM	25	67,96	57,89	74,56	3,99

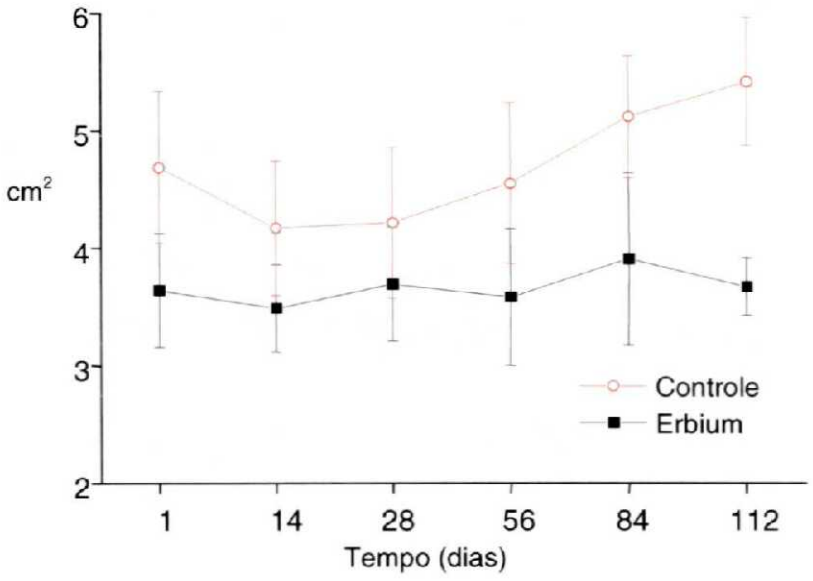
FONTE: Tabelas 4 e 5 do Anexo

O resultado do teste mostrou a não rejeição da hipótese nula no nível de significância de 5% (p=0,0015); 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 uma área média de 4,69 cm^2 no dia 1 e de 5,42 cm^2 no dia 112. Logo após as 3 aplicações do laser (dia 1), a área inicial média da figura tatuada na base do retalho do grupo Erbium foi de 3,64 cm^2 (22,05% menor que o controle) e no dia 112 foi de 3,67 cm^2 (31,78% menor que o controle), como pode ser observado no gráfico 6.

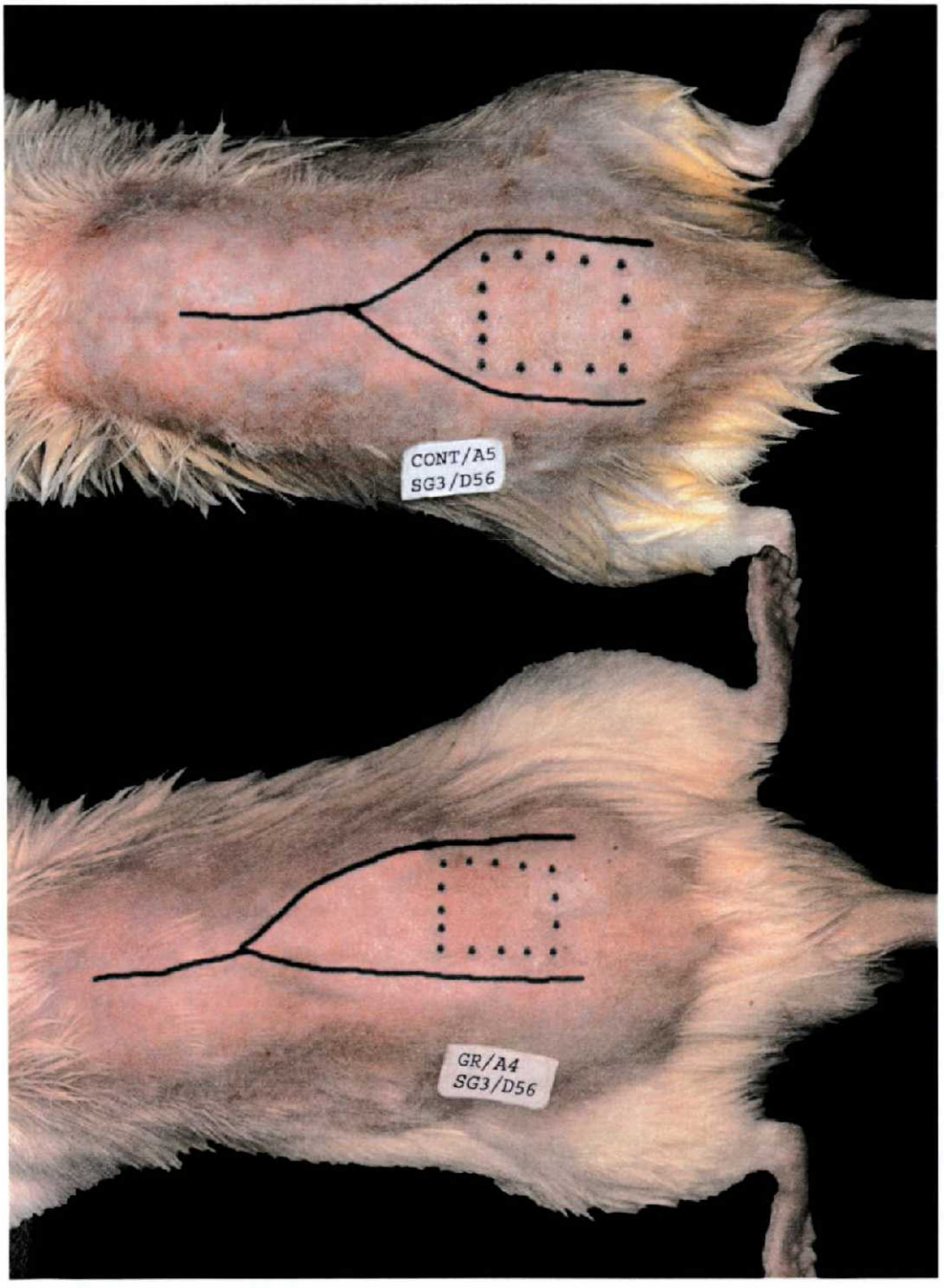
GRÁFICO 6 – ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO (C + E), EM CM^2, DO DIA 1 AO DIA 112



FONTE – Tabela 6, 7, 8 e 9 do Anexo

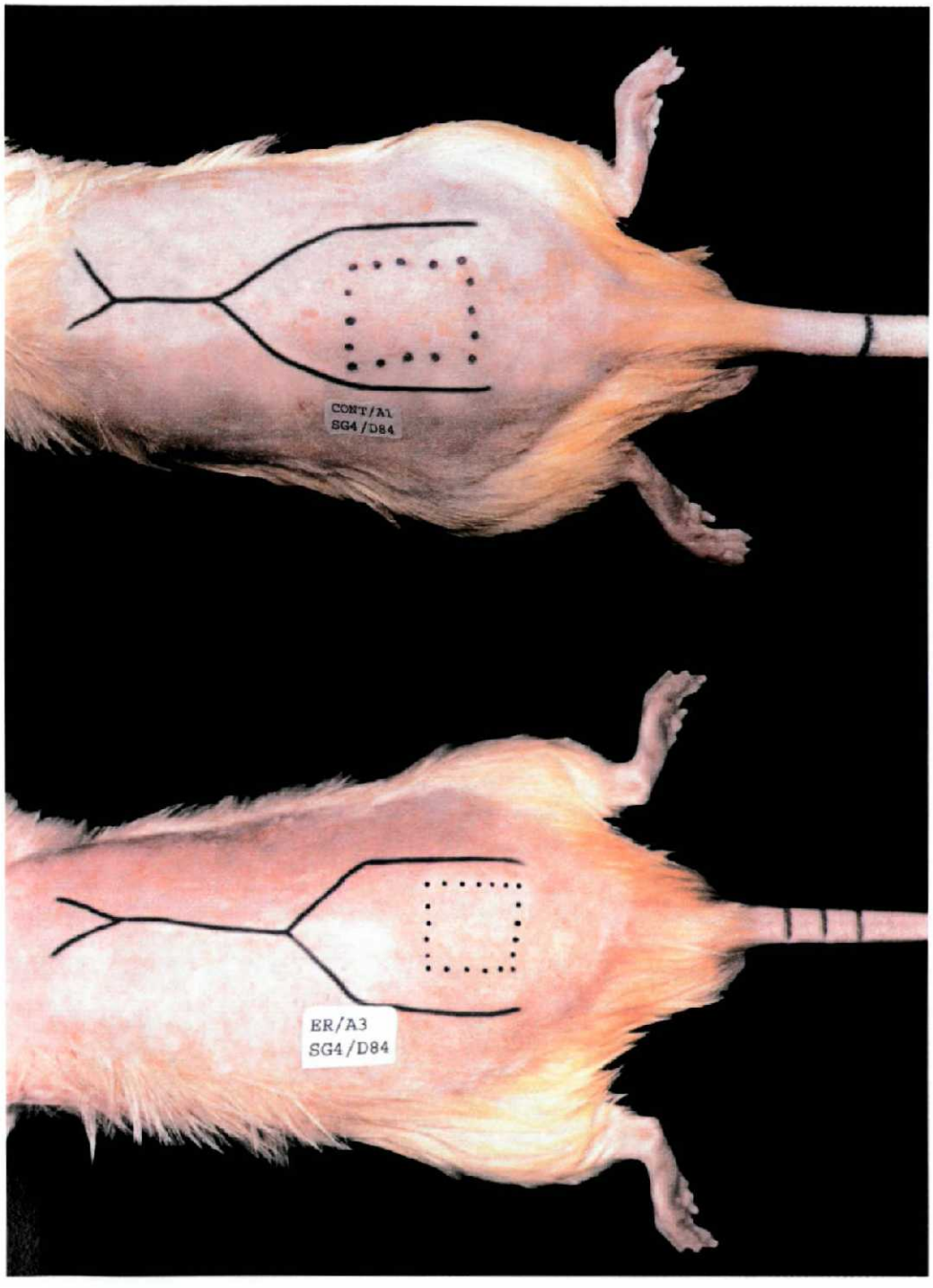
A figura tatuada na base do retalho apresentou contração maior no grupo Erbium em relação ao grupo controle como pode ser observado macroscopicamente nas fotografias 27, 28 e 29.

FIGURA 27 – RETALHO DO ANIMAL 5 DO SUBGRUPO 3 (C) E
RETALHO DO ANIMAL 4 DO SUBGRUPO 3 (E), NO DIA 56



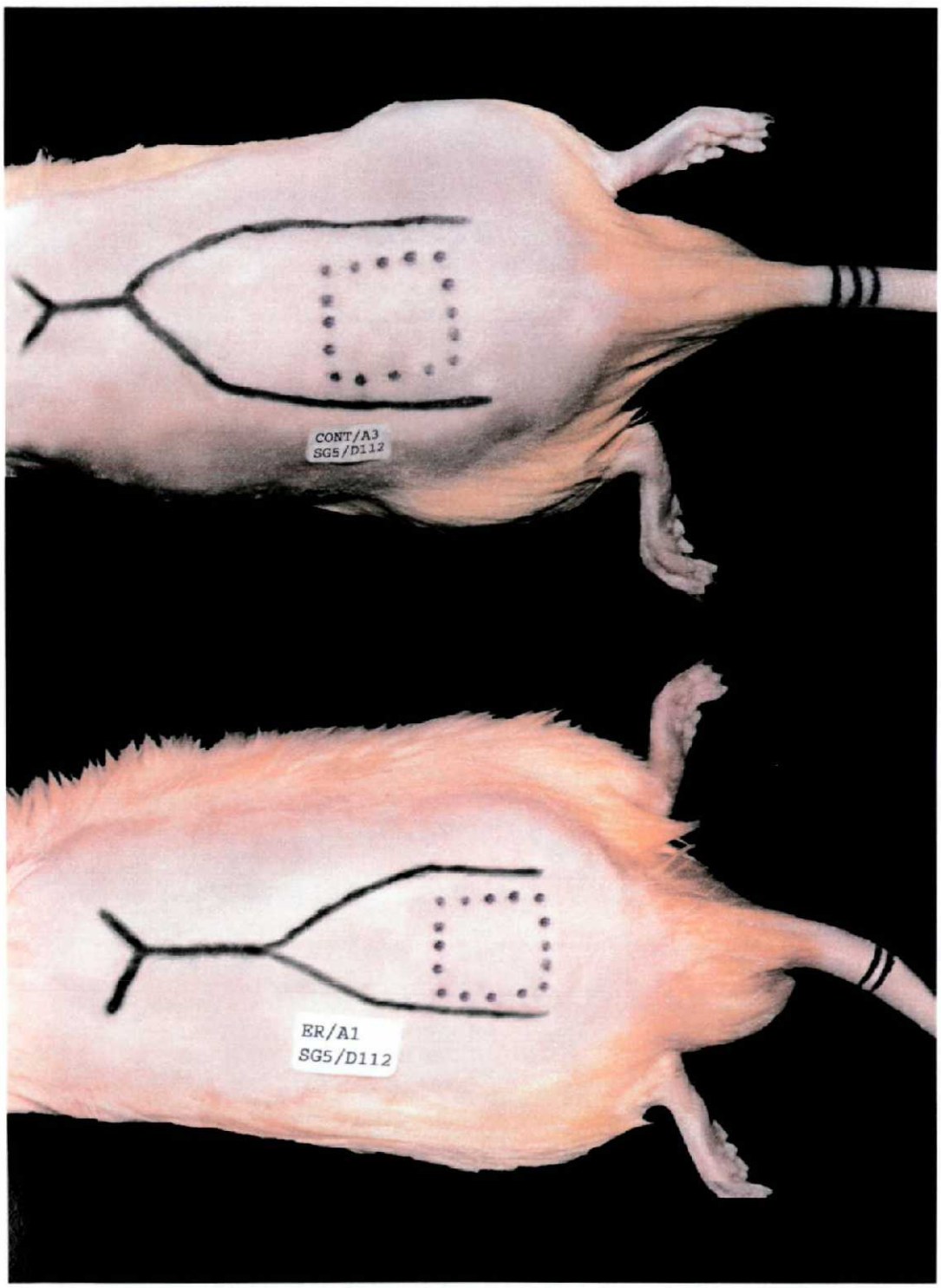
NOTA: Observar diferença de contração da figura em animal na foto superior do grupo controle em relação ao animal do grupo Erbium na foto inferior.

FIGURA 28 – RETALHO DO ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 4 (C) E
RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 4 (E), NO DIA 84



NOTA: Observar diferença de contração da figura em animal na foto superior do grupo controle em relação ao animal do grupo Erbium na foto inferior.

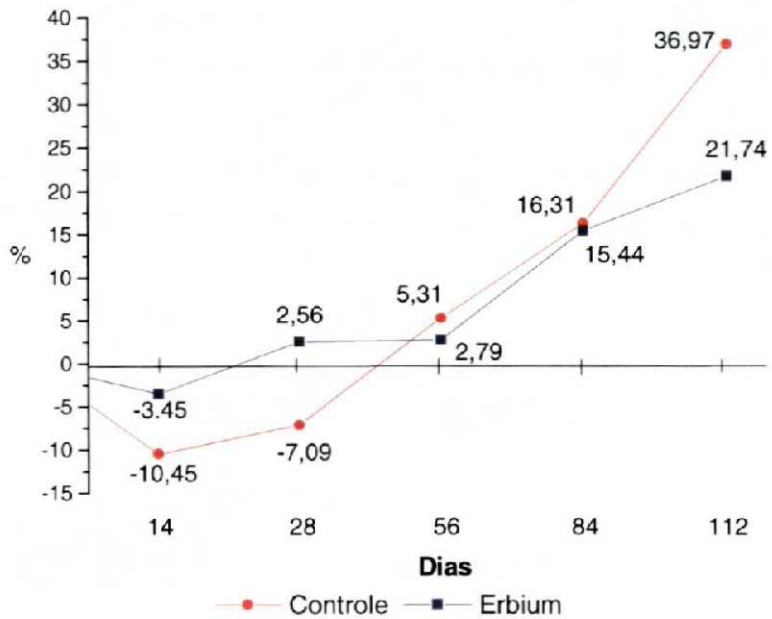
FIGURA 29 – RETALHO DO ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 5 (C) E
RETALHO DO ANIMAL 1 DO SUBGRUPO 5 (E), NO DIA 112



NOTA: Observar diferença de contração da figura em animal na foto superior do grupo controle em relação ao animal do grupo Erbium na foto inferior.

As áreas das figuras tatuadas apresentaram uma em relação à área inicial, como pode ser observado no gráfico 7, sendo que a contração final no grupo controle foi de 36,97% e no grupo Erbium foi de 21,74% em relação à área inicial.

GRÁFICO 7 – ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO (C +E), COMO % DA ÁREA INICIAL, DO DIA 1 AO DIA 112



FONTE – Tabela 6, 7, 8 e 9 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 controle era igual a do grupo Erbium *versus* a hipótese alternativa de áreas de figura tatuada diferentes. Os valores assim obtidos podem ser vistos nas tabelas 2 e 3 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 estudados.

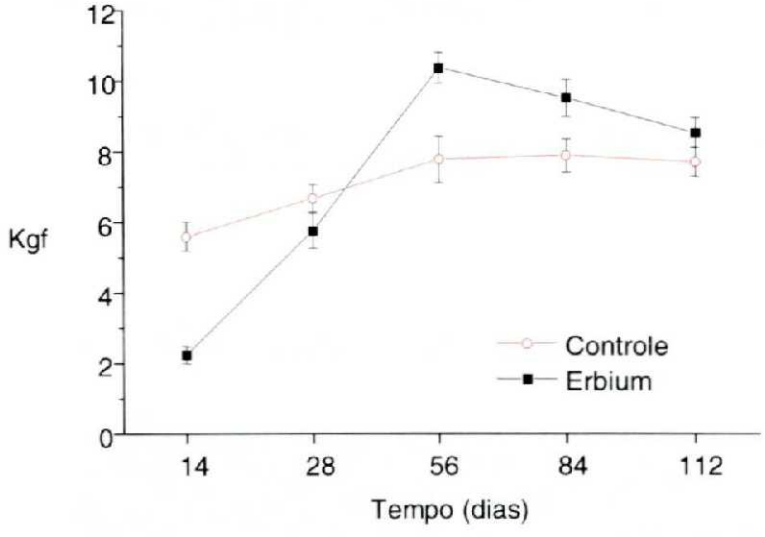
4.4 ESTUDO TENSIOMÉTRICO

4.4.1 Carga de ruptura

Podemos observar no gráfico 8, o estudo da carga de ruptura no grupo controle, no dia 14 de 5,59 Kgf, aumentando para 7,88 Kgf no dia 84 e baixou gradativamente até o final do experimento para 7,70 Kgf.

No grupo Erbium o estudo da carga de ruptura foi menor no dia 14 (2,24 Kgf) que no grupo controle (5,59 Kgf), aumentando para 10,37 Kgf no dia 56 no grupo Erbium em relação à 7,78 Kgf no grupo controle e baixou gradativamente até o final do experimento para 8,53 Kgf no grupo Erbium e para 7,70 Kgf no grupo controle.

GRÁFICO 8. CARGA DE RUPTURA DO RETALHO (C +E), EM KGF, DO DIA 14 AO DIA 112.



FONTE: Tabelas 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 e 21 do Anexo

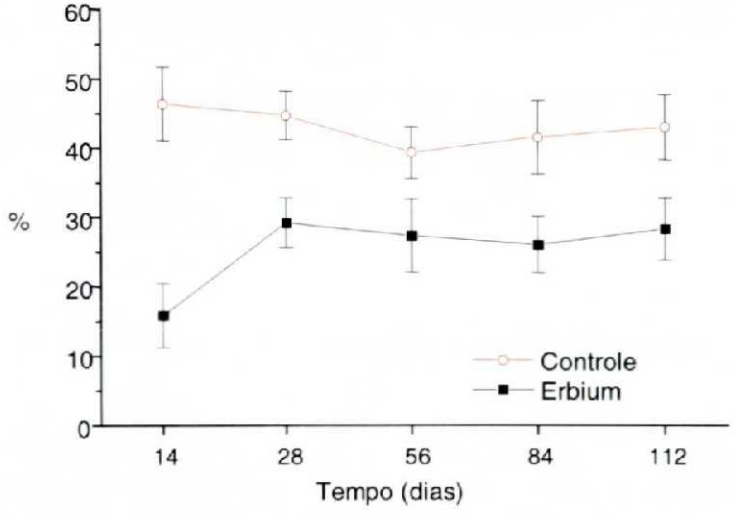
Na análise estatística, para cada um dos momentos avaliados, testou-se a hipótese nula de que a carga de ruptura no retalho do grupo Erbium era igual a do grupo controle *versus* a hipótese alternativa de cargas de ruptura diferentes. Os valores

obtidos na análise podem ser observados nas tabelas 4 e 5 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 cargas de ruptura nos retalhos foram diferentes nos 2 grupos.

4.4.2 Alongamento de ruptura

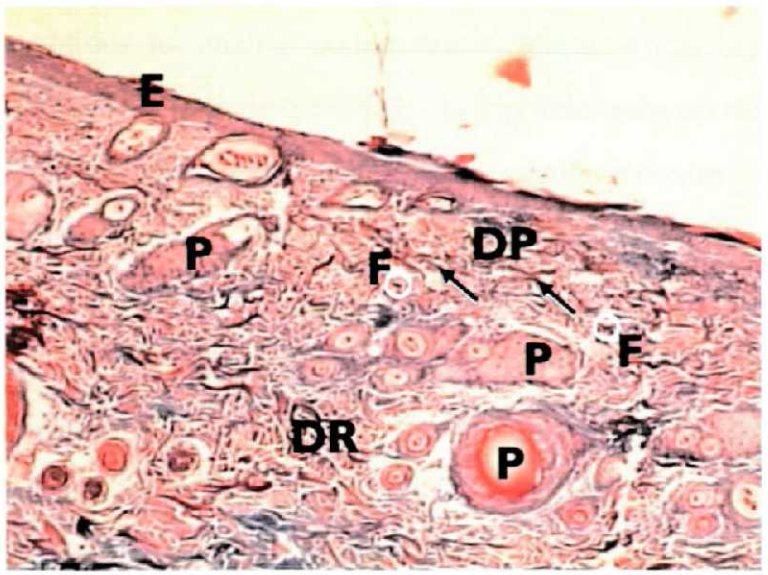
Em relação ao estudo do alongamento de ruptura foi observado que durante todo o tempo do experimento o grupo controle apresentou valores mais elevados que o grupo Erbium. O valor inicial médio do grupo controle foi de 46,36% e final de 43,04% e o do grupo Erbium foi de 15,84% no início, apresentou um pico máximo no dia 28 (29,22%) e declinou para 28,34% no dia 112(gráfico 9).

GRÁFICO 9. ALONGAMENTO DE RUPTURA DO RETALHO (C + E), EM % , DO DIA 14 AO DIA 112.



FONTE: Tabelas 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 22 e 23 do Anexo

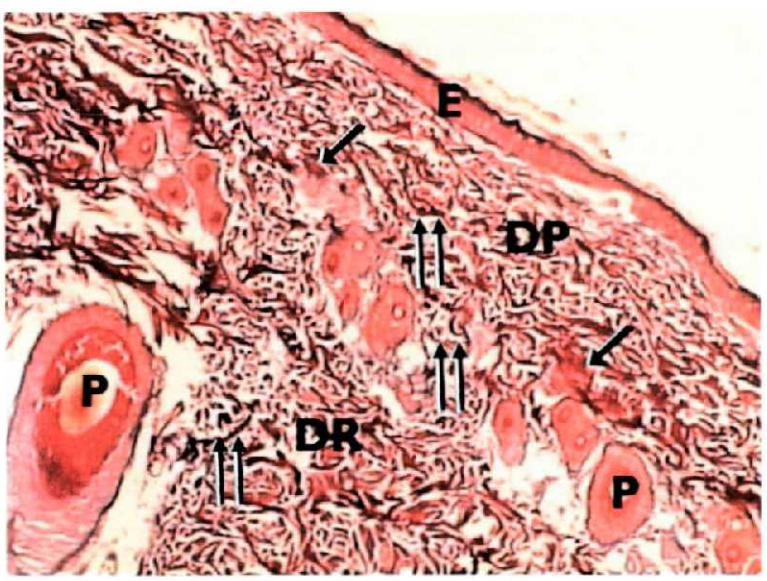
FIGURA 30 – CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 14
ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 1 (C), HE, 100X



NOTA: Observa-se a epiderme (E) e a derme com fibras colágenas (↗), folículos pilo-sebáceos (P), fibras colágenas (↗), derme papilar ou superficial (DP), derme reticular ou profunda (DR).

Na coloração de Weigert foram observadas poucas fibras elásticas dispostas desordenadamente, entremeadas por fibras colágenas, como pode ser vista na fig. 31.

FIGURA 31 – CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 84
ANIMAL 2 DO SUBGRUPO 1 (C), WEIGERT, 100X

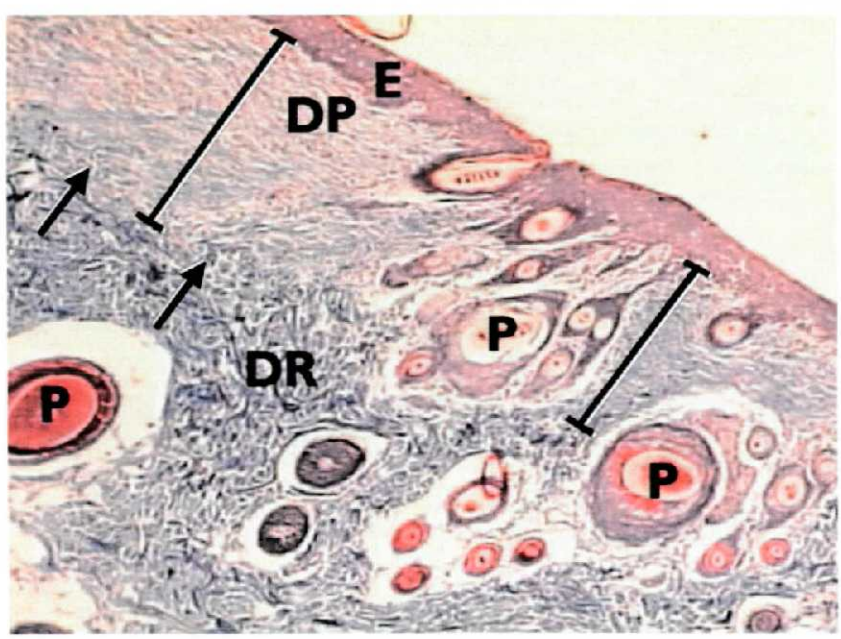


NOTA: Observa-se na derme fibras colágenas (↗), e fibras elásticas (↗↗).

4.5.2 Aspectos histológicos da pele do retalho Erbium no dia 14

Foi observado reepitelização da epiderme com fina camada córnea e presença de raras crostas. Havia uma área de fibroplasia dérmica com núcleos de fibroblastos e fibras colágenas dispostos paralelamente à superfície epidérmica. Fibras elásticas ausentes. Presença de infiltrado inflamatório crônico na derme, como pode ser observado pela coloração de tricrômico de Mallory (TM) na figura 32.

FIGURA 32 – CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 14
ANIMAL 3 DO SUBGRUPO 1 (E), TM, 100X



NOTA: Observa-se a epiderme fina (E), área de fibroplasia (I) com transição nítida (↗) para a derme reticular normal (DR).

4.5.3 Aspectos histológicos da pele do retalho Erbium no dia 28

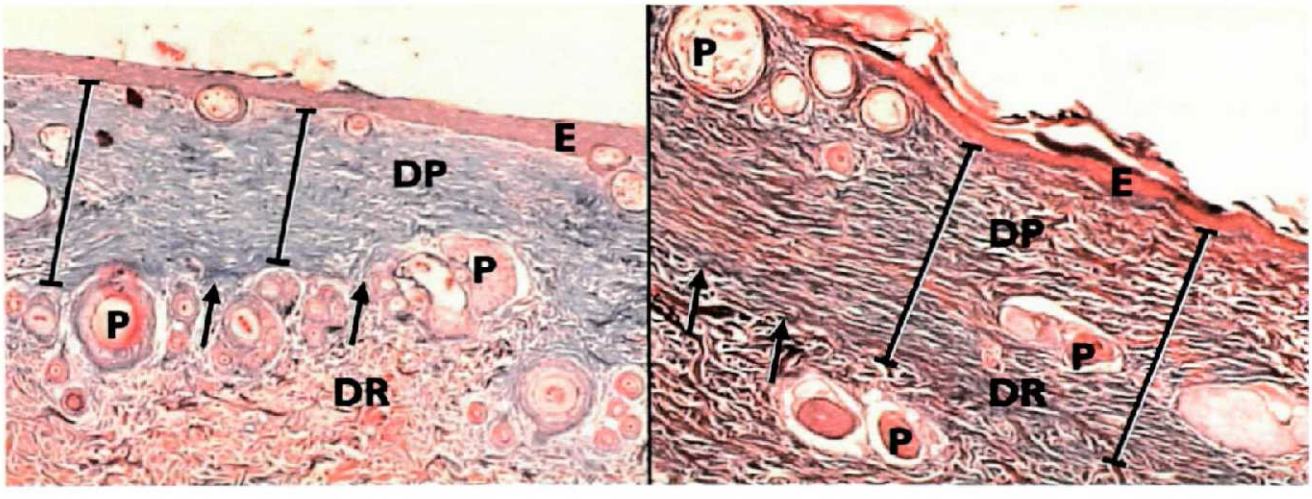
Foi observado reepitelização completa da epiderme que já se apresentava de aspecto normal. A área de fibroplasia dérmica estava mais espessa que no dia 14 com maior quantidade de núcleos de fibroblastos e fibras colágenas mais espessas,

dispostos paralelamente à superfície epidérmica. Fibras elásticas ausentes. Presença de infiltrado inflamatório crônico mínimo na derme (figura 33).

4.5.4 Aspectos histológicos da pele do retalho Erbium no dia 56

A epiderme se apresentava de aspecto normal. A área de fibroplasia dérmica estava mais espessa que no dia 28 com maior quantidade de fibras colágenas, dispostas de maneira compacta, ordenada e paralela à superfície epidérmica. Presença de infiltrado inflamatório crônico mínimo na derme (figura 33).

FIGURA 33 – CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 28 E 56 DO GRUPO ERBIUM, TM, 100X



NOTA: À esquerda corte histológico do dia 28 e à direita do dia 56. Observar diferença da espessura da fibroplasia. Observa-se a epiderme normal (E), folículos pilosos (P), derme papilar (DP), derme reticular (DR), área de fibroplasia (I) com grande quantidade de fibras colágenas e transição nítida (↗) entre a derme normal e a derme lesada.

4.5.4 Aspectos histológicos da pele do retalho Erbium no dia 84

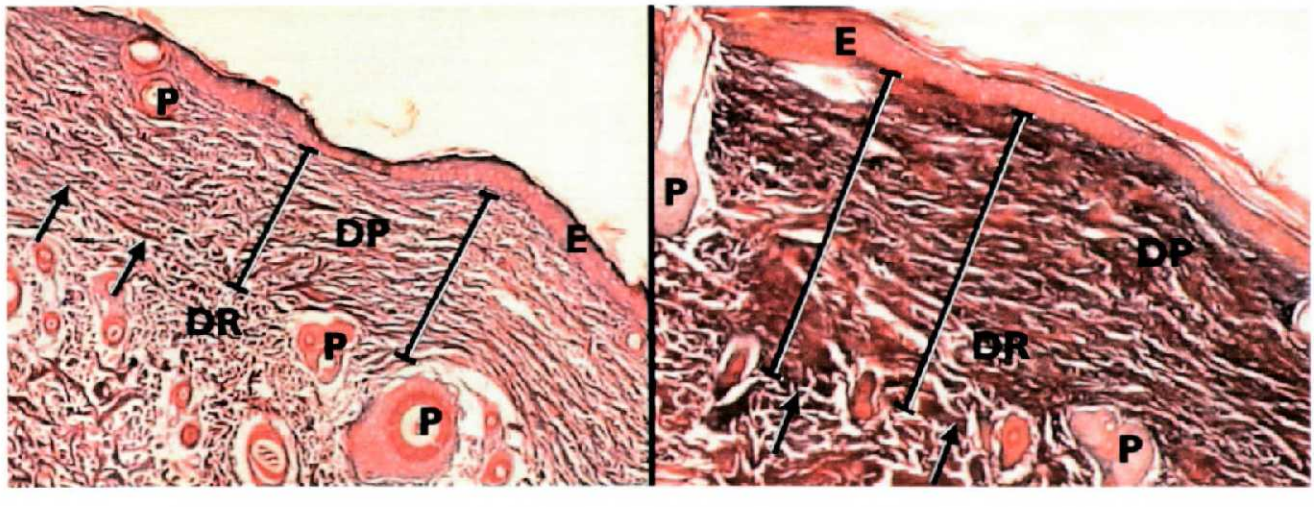
Foi observado epiderme normal. Área de fibroplasia dérmica mais espessa

que no dia 56, com moderada quantidade de fibroblastos e grande quantidade de fibras colágenas dispostas paralelamente à superfície epidérmica de aspecto mais fino e regular. Fibras elásticas ausentes. Presença de infiltrado inflamatório crônico mínimo na derme. Na coloração de Weigert pode ser observado grande número de núcleos de fibroblastos, com ausência de fibras elásticas (figura 34).

4.5.6 Aspectos histológicos da pele do retalho Erbium no dia 112

Foi observado epiderme de aspecto normal. A área de fibroplasia dérmica estava um pouco menor que no dia 84 com quantidade de fibroblastos semelhante à derme normal e quantidade moderada de fibras colágenas, finas e regulares, dispostas paralelamente à superfície epidérmica. Não foram observados fibras elásticas, nem infiltrado inflamatório (figura 34).

FIGURA 34 – CORTE HISTOLÓGICO DO RETALHO CUTÂNEO NO DIA 84 E 112 DO GRUPO ERBIUM, WEIGERT, 100X

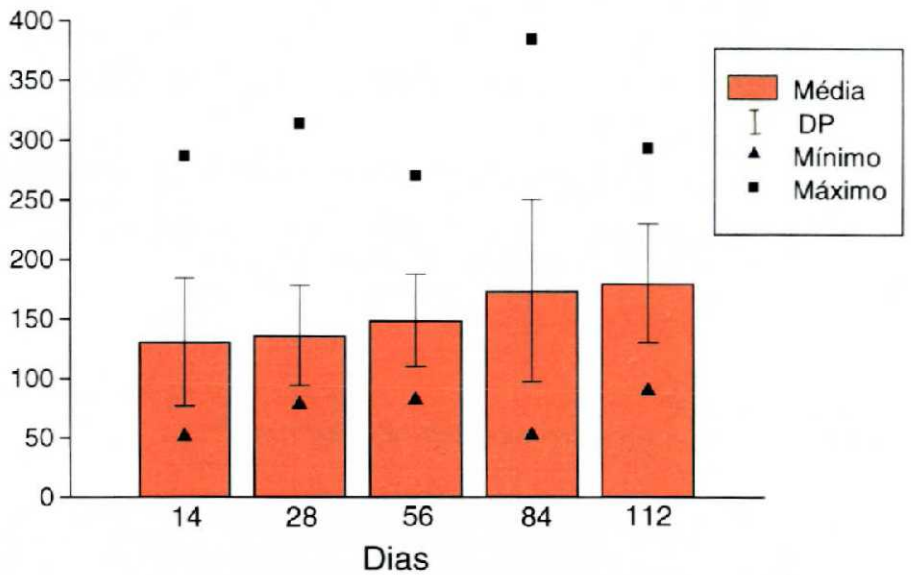


NOTA: À esquerda corte histológico do dia 84 e à direita do dia 112. Observar diferença da espessura da fibroplasia. Observa-se no dia 84 a epiderme normal (E), área de (I) fibroplasia com grande quantidade de fibras colágenas e transição nítida (↗) entre a derme normal e a derme lesada.
Observa-se no dia 112 na derme fibras colágenas coradas em vermelho(↗) e não se observam fibras elásticas.

4.6 MORFOMETRIA DIGITAL

O gráfico 10 demonstra as médias, valores máximo e mínimo das medidas da fibroplasia no dia 14 com valores em µm.

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



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

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

5.1 MODELO EXPERIMENTAL

5.1.1 Escolha do Animal

Neste estudo o animal escolhido foi o rato da linhagem Wistar, por ser um animal de pequeno porte, de fácil aquisição e padronização no que diz respeito a idade, peso, sexo, alojamento, alimentação, cuidados de limpeza e manipulação experimental. Além disso, estes animais apresentam pequena mortalidade, são resistentes à infecções e podem ser utilizados em grande número e anestesiados, por via inalatória, intraperitoneal ou intravenosa, conforme a necessidade.

Estudos experimentais da padronização da viabilidade de retalho cutâneo em dorso de ratos foram realizados no grupo controle similar aos trabalhos de Mc FARLANE, DeYONG e HENRY (1965) que descreveram retalho cutâneo dorsal em ratos de 3 x 10 cm seguindo o eixo da coluna vertebral e pedículo cranial com necrose previsível de 25% distal do retalho e de KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) que modificaram o retalho de Mc Farlane para retalho de mesmas dimensões para pedículo caudal, onde há duas artérias sacrais nutridoras do retalho ao invés de somente uma, com uma sobrevivência maior do retalho. Os trabalhos de KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) demonstraram que são modelos previsíveis e que podem ser reproduzidos de maneira semelhante ao utilizado neste trabalho onde foi utilizado o mesmo modelo experimental num grupo controle e associado ao uso do laser em

grupos paralelos para se obter informação necessária se o laser interfere na viabilidade dos retalhos.

O animal que tem sido mais utilizado em estudos experimentais dos efeitos do laser sobre a pele é o porco (SECKEL, YOUNAI e WANG, 1998; ROSS et al.1999), pois sua pele apresenta grande analogia com a estrutura, espessura e cicatrização com a pele humana. Além disso a pele do porco se assemelha também quanto ao número de folículos pilosos e no processo de epitelização. Outros estudos são em porcos de Guinea (WALSH Jr e DEUTSCH, 1989; WALSH Jr, FLOTTE e DEUTSCH, 1989; KAUFMANN e HIBST, 1990; WALSH Jr e CUMMINGS, 1994; KAUFMANN e HIBST, 1996), e há também descrição de experimentos em coelhos (YANG e CHAI, 1995). Entretanto deve-se considerar o grande porte destes animais e as dificuldades decorrentes de sua obtenção, manipulação e manutenção.

A utilização deste animal para o uso do laser foi idealizada em função de trabalhos anteriores no qual este modelo se mostrou apropriado à semelhança de AUERSVALD (1999) com a padronização de leitura para cortes histológicos com o laser de CO_2 e FRANÇA (1999) em estudo similar com o laser de Er:YAG.

Quanto à contração cutânea, o modelo animal utilizado neste estudo se mostrou adequado pois o tipo de colágeno predominante na derme do rato é o colágeno tipo I, que também é o tipo predominante na derme da espécie humana. O que varia entre as espécies é o percentual de colágeno tipo I em relação ao total de colágeno e às outras fibras presentes na pele, à semelhança de KIRSCH et al. (1998) que encontraram contração do colágeno em pele facial humana e também em tendão calcâneo bovino.

Neste estudo foi escolhido este modelo animal para a utilização do laser à semelhança de RODRIGUES (2000) que estudou a contração tecidual do laser de CO_2 em dorso de ratos e GRAF (2000) que fez trabalho semelhante com o uso do laser de Er:YAG em dorso de ratos.

Em relação ao efeito térmico residual após a aplicação do laser o modelo se

mostrou adequado pois o conteúdo hídrico da pele do rato é grande e o cromóforo é a água (WALSH Jr, FLOTTE e DEUTSCH, 1989; WEINSTEIN, 1999). Nos trabalhos em animais experimentais procura-se causar dano de ablação e dano térmico residual semelhantes em profundidade ao causado em humanos quando da aplicação do laser (HOHENLEUTNER et al., 1997; MC DANIEL et al., 1997; HUGHES, 1998; ALSTER, 1999 a).

5.1.2 Escolha do tipo de retalho

Para se estudar os efeitos da autonomização de um retalho pediculado é necessário desenhá-lo de tal maneira que se torne necrótico quando elevado num estágio único, e que, sobreviva quando elevado após a sua autonomização. A autonomização significa incisá-lo num tempo inicial e num segundo estágio elevá-lo e/ou rodá-lo. Isto é necessário para prevenir que um retalho pediculado se torne necrótico.

O retalho cutâneo realizado no dorso dos animais deste estudo foram baseados nos estudos de Mc FARLANE, DeYONG e HENRY (1965) que descreveram um retalho cutâneo dorsal em ratos de 10 x 4 cm seguindo o eixo da coluna vertebral com pedículo cranial. Referem que a autonomização do retalho preveniu a necrose em 80% dos retalhos e que a situação crítica entre viabilidade e necrose do retalho se encontrava na sua ponta distal. Já KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) modificaram o retalho de Mc Farlane para retalho de mesmas dimensões para pedículo caudal, onde há duas artérias nutridoras do retalho ao invés de somente uma, apresentando uma sobrevivência de 10 a 20% maior do retalho e com resultados mais previsíveis e consistentes, necessitando de uma amostra menor de animais.

Assim, KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) demonstraram que são modelos previsíveis e que podem ser reproduzidos de maneira semelhante como pode ser observado neste estudo, onde foi utilizado o mesmo modelo experimental num

grupo controle e associado ao uso do laser sobre o retalho em grupos paralelos para se obter informação necessária se o laser interfere na viabilidade dos retalhos. Assim, baseados nos trabalhos de KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986), a área viável dos retalhos do grupo controle foi de 72,37%, superior ao encontrado pelos autores acima, que relataram viabilidade proximal dos retalhos de 63,2%. Este percentual superior provavelmente se deveu à mensuração realizada 14 dias após a confecção do retalho em nosso trabalho, enquanto que KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) realizaram a mensuração 8 dias após a confecção dos retalhos.

5.1.3 Escolha do laser e número das aplicações

A escolha de 3 passadas do laser de Er:YAG foi feita criteriosamente num estudo prévio onde foram utilizadas 3 passadas do laser com estudo histológico imediato e tardio (GRAF, 2000). Os resultados em relação ao laser de Er:YAG foram semelhantes aos encontrados naquele trabalho onde a aplicação foi realizada sobre a pele e, no estudo atual, sobre o retalho cutâneo, na mesma região, isto é, dorso de ratos. Foram utilizados os mesmos parâmetros sobre os retalhos e comparado a sua viabilidade com o retalho padrão sem a utilização do laser.

Assim, para este estudo, a escolha foi de 3 passadas para se obter resultados mais previsíveis, sendo observado que todos os animais apresentaram cicatrização completa até o dia 7 do experimento na porção proximal do retalho, à semelhança de KAUFMANN e HIBST (1990) que descrevem a cicatrização em porcos sendo mais rápida com o laser de Er:YAG do que com outro tipo de laser. Estes dados são corroborados pelos estudos de GRAF (2000) onde a cicatrização se completou até o dia 7 do experimento enquanto que RODRIGUES (2000) refere a cicatrização com o laser de CO_2 se completando entre 7 e 10 dias comprovando que o laser de Er:YAG apresenta processo de cicatrização mais rápido que o laser de CO_2. Já a porção mais distal do retalho apresentou retardo na cicatrização, sendo que a crosta demorou em média 14 dias para seu destacamento espontâneo, fato este relacionado com o grau de

viabilidade previsível deste tipo de retalho como é descrito por KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986).

A padronização dos parâmetros utilizados no aparelho de laser de Er:YAG foi semelhante à descrita na literatura (ROSS et al., 1999; ACHAUER, 1997; GOLDMAN e MANUSKIATTI, 1999 ; GRAF, 2000), com uma fluência constante na sua aplicação, oferecendo segurança na quantidade de J/cm^2 num período de tempo padronizado. No estudo de FRANÇA (1999), com 1 a 3 passadas não houve homogeinização da epiderme que sofreu ablação, permanecendo áreas de epiderme intacta. Já com 4 passadas, a ablação foi mais regular removendo toda a epiderme uniformemente, embora não se observando dano térmico acentuado. Provavelmente isto se deveu a não sobreposição dos pontos do laser, que provocou menor profundidade de sua ação. Nos trabalhos descritos anteriormente na literatura a sobreposição foi de 20 a 30% para se alcançar um dano térmico terapêutico não agressivo (GOLDBERG, 1998; WEINSTEIN, 1998). Esta característica do laser de Er:YAG torna seu efeito no tecido basicamente fotomecânico, causando ablação com pouca necrose coagulativa e menores danos térmicos à pele. Já o efeito do laser de CO_2 é basicamente fototérmico, pois além da ablação tecidual provoca importante necrose coagulativa, levando a imediata e visível contração tecidual por dano térmico do colágeno e consequentes diferenças no índice de contração tecidual (ADRIAN, 1998; HUGHES, 1998; ALSTER,1999).

O laser de Er:YAG pode liberar acima de 1,7 J, a mais alta energia por pulso, com uma potência máxima de 20W, através de todos os índices de repetição, de 5HZ a 12Hz (figura 2). Os índices de repetição e níveis de energia podem ser ajustados, assegurando resultados livres de carbonização (DERMA^{TM} 20 Er:YAG, 1997).

5.2 OBSERVAÇÃO CLÍNICA

Todos os animais apresentaram evolução clínica favorável e a observação

diária do processo de cicatrização durante todo o tempo do experimento mostrou que os retalhos, tanto do grupo controle quanto do grupo Erbium apresentaram cianose da porção distal do retalho (cerca de 25% do comprimento do retalho) que evoluiu para necrose desta área cujo resultado foi superior ao de KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986). Assim, baseados nos trabalhos destes autores, que relataram viabilidade proximal dos retalhos de 63,2%, a área viável dos retalhos do grupo controle no presente estudo foi de 72,37%. Este percentual superior provavelmente se deveu à mensuração realizada 14 dias após a confecção do retalho, enquanto que KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) realizaram a mensuração 8 dias após a confecção dos retalhos.

Em relação aos estudos de Mc FARLANE, DeYONG e HENRY (1965) houve índice de viabilidade menor dos retalhos devido à base cefálica utilizada em seus experimentos pois havia somente uma artéria nutridora do retalho em relação à dupla vascularização do retalho de base caudal utilizada por KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) e no atual experimento. Segundo KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) o retalho cutâneo dorsal em ratos de 10 x 3 cm baseado caudalmente é capaz de fornecer um controle da necrose mais previsível e pode ser usado com uma amostragem menor de animais.

No grupo Erbium, logo após a aplicação do laser sobre o retalho com os parâmetros utilizados por GRAF (2000) em pele dorsal de ratos, houve evolução clínica mais lenta, provavelmente devido ao menor aporte sanguíneo do retalho e conseqüente retardo na cicatrização, sendo esta hipótese corroborada nos artigos de ANGEL et al.(1988) e SINGER e CLARK (1999). Na porção proximal dos retalhos, o destacamento das crostas ocorreu em todos os animais somente a partir do dia 14, após utilizar os mesmos parâmetros do laser de Er-YAG descritos por GRAF (2000). Assim, os resultados diferem deste último onde, a partir do dia 7, todos os animais já apresentavam reepitelização, o que significou uma cicatrização muito rápida com o laser de Er:YAG de modo similar ao observado por outros autores em porcos

(WALSH Jr, 1989; KAUFMANN e HIBST, 1990). Esta diferença do laser utilizado sobre a pele e sobre o retalho cutâneo se deveu provavelmente devido ao menor aporte sangüíneo do retalho e conseqüente retardo na cicatrização.

Os animais do grupo controle e Erbium apresentaram peso inicial semelhante. Após 14 dias do início do estudo os animais do grupo controle apresentaram ganho de peso percentual em relação ao dia 1 de 0,22% e os do grupo Erbium demonstraram perda de 1,83% devido ao maior trauma cirúrgico ocasionado pelo laser, stress pós-operatório e a demanda energética do processo de cicatrização (COTRAN, 1996). Estes dados foram semelhantes aos encontrados por GRAF (2000) e RODRIGUES (2000).

Logo após a fase inicial da cicatrização, os animais dos dois grupos aumentaram o peso progressivamente, terminando o estudo praticamente iguais, com ganho de peso percentual de 28,58% no grupo controle e 28,48% no grupo Erbium. Estes dados foram compatíveis com a idade dos animais e aumentou gradativamente conforme o crescimento natural dos animais, devido às corretas condições de alojamento, manejo e alimentação, similar aos obtidos por SECKEL, YOUNAI e WANG (1998), RODRIGUES (2000) e GRAF (2000), onde o crescimento dos animais foi gradativo.

Após completado o processo agudo de cicatrização, no grupo Erbium o eritema persistiu até o dia 14, devido a exposição dos vasos sanguíneos da derme. Após este período, a pele retornou progressivamente ao aspecto macroscopicamente normal (dia 21), mantendo-se desta maneira até o final do estudo, semelhante ao descrito por GRAF (2000).

5.3 VIABILIDADE DO RETALHO CUTÂNEO

O retalho cutâneo realizado no dorso dos animais deste estudo foram baseados nos estudos de Mc FARLANE, DeYONG e HENRY (1965) que descreveram um retalho cutâneo dorsal em ratos de 10 x 4 cm seguindo o eixo da

coluna vertebral com pedículo cranial. Referem que a autonomização do retalho preveniu a necrose em 80% dos retalhos e que a situação crítica entre viabilidade e necrose do retalho se encontrava na sua ponta distal. Houve necrose previsível de 25% do retalho.

KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) modificaram o retalho de Mc Farlane para retalho de mesmas dimensões para pedículo caudal, onde há duas artérias nutridoras do retalho ao invés de somente uma, apresentando uma sobrevivência maior do retalho de 10 a 20% e com resultados mais previsíveis e consistentes, necessitando de uma amostra menor de animais e que podem ser reproduzidos de maneira semelhante como pode ser observado neste estudo onde foi utilizado o mesmo modelo experimental num grupo controle e associado ao uso do laser sobre o retalho em grupos paralelos para se obter informação necessária se o laser interfere na viabilidade dos retalhos. Assim, baseados nos trabalhos de KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986), a área viável dos retalhos do grupo controle foi de 72,37%, superior ao encontrado pelos autores acima, que relataram viabilidade proximal dos retalhos de 63,2%. Este percentual superior provavelmente se deveu à mensuração realizada 14 dias após a confecção do retalho, enquanto que KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) realizaram a mensuração 8 dias após a confecção dos retalhos.

Observando-se o grupo controle a partir do dia 7, que foi relatado por Mc FARLANE, 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 viabilidade do retalho até o dia 14.

O motivo de se mensurar a área viável apenas no dia 14 se deveu a que a visibilidade da linha de transição do grupo Erbium dependia do destacamento da crosta que se formou sobre o retalho após as três aplicações do laser, na regulagem proposta por GRAF (2000), devido à exudação da derme exposta. No dia 7 esta linha não era

visível em nenhum animal, no dia 10 em 7 animais e no dia 14 era visível em todos os animais. Estes resultados diferem dos relatados por GRAF (2000), que refere o destacamento das crostas em todos os animais, até o dia 7 do experimento, em pele dorsal de ratos, sem a elevação de retalho, após utilizar os mesmos parâmetros do laser de Er-YAG. Esta diferença foi devida ao menor aporte sanguíneo do retalho e consequente retardo na cicatrização, sendo esta hipótese corroborada nos artigos de ANGEL et al.(1988) e SINGER e CLARK (1999).

A completa separação entre as áreas viável e necrótica dos retalhos foi nítida em todos os animais após o dia 14 do experimento, discordando de KAUFMAN et al. (1985) e HAMMOND et al. (1993), que encontraram em seus estudos pequenas áreas de necrose na porção distal dos retalhos que definiram como comportamento semelhante a enxerto de pele desta parte do retalho.

O valor médio $\pm$ DP da área de necrose da ponta do retalho do grupo controle foi de 27,6 $\pm$ 4,4 %, com um valor mínimo de 18,3 % e máximo de 35,0 %, enquanto que no grupo Erbium a média $\pm$ DP foi de 32,0 $\pm$ 4,0 % variando de 25,4 % a 42,1 %. Estes resultados obtidos foram semelhantes aos de KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) onde a área de necrose variou de 31,4 a 42,2% com uma média percentual de 36,8%, que, repetindo o mesmo modelo de Mc FARLANE, DeYONG e HENRY (1965) obtiveram necrose distal de 70,1 %, variando de 65,2 % a 75,0 %, confirmando os resultados destes, que obtiveram necrose maior devido a vascularização do pedículo do retalho ser monovascular, embora encontraram sobrevida de 6% em retalhos sem autonomização, 81% em retalhos com autonomização e 0% em retalhos seccionados e usados como enxerto livre. A explicação de KHOURI, ANGEL e EDSTROM (1986) é de que este retalho de 10 x 3 cm de base caudal apresenta necrose previsível e pode ser utilizado para estudos posteriores com uma amostra menor de animais.

Em relação ao percentual de necrose do retalho após a aplicação do laser de Er:YAG pode-se afirmar que não houve diferença significativa (p=0,0015) em relação

ao grupo controle como pode ser observado nos gráficos 4, 5 e 6. No grupo Erbium a média foi de 32,0 ± 4,0 % variando de 25,4 % a 42,1 % e no grupo controle a média foi de 27,6 ± 4,4 %, com um valor mínimo de 18,3 % e máximo de 35,0 %. Estes resultados vêem corroborar os trabalhos de GRAF et al. (1999) onde a aplicação do laser de CO_2 sobre o retalho cutâneo facial atingiu profundidade até derme papilar não destruindo a vascularização do retalho e não aumentando a percentagem de necrose cutânea.

Outros estudos foram realizados com base neste tipo de retalho, como foi observado nos trabalhos de McFARLANE e WERMUTH (1966), ADAMSOM et al. (1967), KERRIGAN (1983), COHEN, HARMON e PHIZACKERLEY (1983), DAVIS et al. (1995), AKER et al. (1997), BEKERECIOGIU, TERCAN e OZYAZGAN (1998), MATSUMURA et al. (2001), LANDECKER et al. (2001) que demonstraram aumento ou diminuição do percentual de viabilidade dos retalhos com o uso de drogas que influenciaram na sua vascularização, mas nenhum deles estudou aplicação de laser sobre a superfície dos retalhos.

5.4 CONTRAÇÃO CUTÂNEA DO RETALHO

O laser de Er:YAG provoca contração tecidual na fase imediata e tardia da cicatrização, embora menor que o provocado pelo laser de CO_2 (GRAF,2000; RODRIGUES, 2000).

Imediatamente após as 3 passadas do laser de Er:YAG a área da figura tatuada sobre o retalho estava em média 22,05% menor que a do grupo controle. Comparando-se com a contração imediata descrita por GRAF (2000), segundo a qual, após três aplicações de mesmo laser, a área da figura do grupo Erbium tatuada sobre a pele estava 37,76% menor que a figura do grupo controle, o laser de Er:YAG provocou contração tecidual imediata, embora não tão elevada como a observada pelo laser de CO_2 nos estudos de RODRIGUES (2000), onde a contração imediata após 3 aplicações do laser de CO_2, no mesmo modelo experimental foi de 49,71%. Estes

dados estão de acordo com os resultados da literatura (KAUFMANN et al., 1994; ROSS et al., 1999), nos quais o laser de CO_2 provoca uma maior contração tecidual devido a um maior estímulo de fibras colágenas na derme papilar e reticular.

Neste estudo foi demonstrado que as dimensões da figura tatuada do grupo controle aumentaram enquanto as tratadas com laser mantiveram a contração de suas dimensões, provocando uma redução ao final do estudo de 31,78% em relação ao grupo controle. A dimensão da figura no grupo controle variou de 4,68 $cm^2 \pm 0.64$ no dia 1 para 5,42 $cm^2 \pm 0.55$ no dia 112 (variação percentual de 36,97%), refletindo o crescimento dos animais. Esta variação foi considerada normal e esperada, sendo proporcional à variação do peso e ao crescimento dos animais. No grupo Erbium a dimensão da figura variou de 3,64 $cm^2 \pm 0.48$ no dia 1 para 3,67 $cm^2 \pm 0.24$ no dia 112, pouco se alterando até o final do experimento (variação percentual de 21,74%) e mostrou-se menor que a área da figura do grupo controle em todos os momentos estudados, demonstrando a manutenção da contração cutânea após o uso do laser de Er:YAG sobre o retalho. Estas observações confirmam os resultados obtidos por GRAF (2000) com o mesmo tipo de laser e por SECKEL, YOUNAI e WANG (1998) e RODRIGUES (2000) com o uso do laser de CO_2, de que a contração inicial após a aplicação do laser se mantém no tempo, apesar do aumento da superfície corporal dos animais. A redução nas dimensões das figuras do grupo Erbium em relação às figuras do grupo controle durante todo o estudo, demonstrou que a contração se manteve durante todo o período do experimento. Esta manutenção da contração se deve possivelmente à neoformação de fibras colágenas inicialmente e ao amadurecimento posterior das mesmas, provocada por ambos os tipos de laser.

5.5 TENSIOMETRIA

O grupo Erbium mostrou uma carga de ruptura no dia 14 de 2,24 Kgf, estatisticamente inferior ao grupo controle, que apresentava carga de ruptura de 5,59 Kgf. Isto se deveu à perda de conteúdo de fibras colágenas da pele que sofreu ablação,

ao dano térmico residual, a reparação dérmica ter sido feita à base de deposição de colágeno jovem, além da diminuição da resistência causada pelo processo de cicatrização no plano de descolamento do retalho cutâneo.

No grupo Erbium o pico máximo da carga de ruptura ocorreu no dia 56 (10,37 Kgf) enquanto que no grupo controle subiu para apenas 7,78 Kgf com resultado estatisticamente significativo (p=0,009). GRAF (2000) observou-se resultado semelhante, com uma carga de ruptura significativamente superior da pele do grupo Erbium (9,26 Kgf), em relação ao seu controle (7,33 Kgf) no dia 56.

A carga de ruptura no final do experimento (112 dias) manteve-se discretamente maior no grupo Erbium (8,53 Kgf) em relação ao grupo controle (7,70 Kgf) ainda estatisticamente significativa (p=.0,028).

O alongamento de ruptura do grupo controle se manteve entre 39,36 e 46,36% durante todo o estudo, enquanto que no grupo Erbium os valores foram mais baixos, entre 15,84% e 29,22%. No grupo Erbium o pico máximo do alongamento de ruptura se deu no dia 28 (p=0,009), coincidindo com a produção de colágeno jovem com pouca resistência, quando a deposição de colágeno se torna estável e as fibras colágenas encontram-se maduras e mais resistentes, e o processo de cicatrização do retalho está completo. Diminuiu muito pouco até o dia 84 (26,06%) e manteve-se assim até o final do experimento (28,34%) com p=0,009. Estes dados tem semelhança com os resultados encontrados por GRAF (2000), RODRIGUES (2000) e por SECKEL et al. (1998) onde o alongamento de ruptura apresentou índices baixos na fase inicial da aplicação do laser que foi explicado pela grande quantidade de produção de fibras colágenas jovens e que apresentam seu pico no dia 28, a semelhança dos achados neste trabalho.

Comparativamente, a carga de ruptura se manteve estável durante todo o tempo de estudo no grupo controle enquanto que no grupo Erbium ela foi muito baixa no início (2,24 Kgf), devido à presença de colágeno jovem e edemaciado e à quantidade de necrose do retalho na fase inicial do experimento. O grupo Erbium

apresentou resistência baixa à força empregada para a sua ruptura, aumentando rapidamente no dia 28 (5,75 Kgf) devido à grande quantidade de colágeno de maturação intermediária depositada e alcançando o seu pico (maior do que o do grupo controle) no dia 56 (10,37 Kgf) com p=0,009, para então diminuir lentamente, mantendo-se no entanto maior que no grupo controle, devido à presença de colágeno maduro e resistente que permanece até o dia 112 (p=0,009). Estes resultados corroboram os estudos de SECKEL, YOUNAI e WANG (1998), GRAF (2000) e RODRIGUES (2000) que mostraram um pico de força tensil no dia 56 que diminui um pouco subsequentemente, porém ainda se mantendo maior que no início.

5.6 HISTOLOGIA E MORFOLOGIA

A deposição de colágeno caracterizada pela fibroplasia que se segue à aplicação de laser sobre a pele é diretamente proporcional ao dano de ablação e à quantidade de tecido que sofreu dano térmico residual. Este processo pode ser acompanhado e medido por microscopia óptica.

Neste estudo foram observadas fibras colágenas parcialmente alteradas e contraídas no seu comprimento, que permaneceram na derme após a sua cicatrização, mantendo assim a contração cutânea inicial corroborando o que foi observado por SECKEL et al. (1998) em estudos de microscopia eletrônica.

A caracterização posterior de uma zona de fibroplasia mais espessa que a pele normal como foi observada neste trabalho, é importante pois é nesta zona que se encontram as alterações intermediárias da desnaturação da fibra colágena com neoformação das mesmas, provocando a contração da pele após a aplicação do laser (TANG et al., 1997). Estes achados foram similares aos encontrados por RODRIGUES (2000), embora a zona de fibroplasia foi mais espessa com o laser de CO_2., provavelmente devido a maior necrose coagulativa do tecido provocada por este último, o que leva à imediata e visível contração tecidual por dano térmico do colágeno (ALSTER, 1999).

Neste estudo foi observado um espessamento da derme papilar às custas de neoformação colágena que aumentou progressivamente até o final do experimento quando a neocolagênese alcançou o seu máximo. No início o colágeno é imaturo, com grande quantidade de fibroblastos jovens e fibras colágenas menos densas, devido a grande quantidade de água que possuem (HUGHES, 1998). A partir daí o tecido conjuntivo vai amadurecendo progressivamente com maior deposição de colágeno maduro, que é responsável pelo espessamento das áreas lesadas pelo laser no período de cicatrização (NANNI e ALSTER, 1998). No dia 56 já foi observado maior quantidade de colágeno maduro, que é menos celular e com menor quantidade de água, que se manteve até o dia 112. Estes achados diferem dos encontrados por GRAF (2000) e RODRIGUES (2000), onde na pele normal a fibroplasia alcançou o seu máximo no dia 28 e 56, respectivamente, e decaiu progressivamente até o dia 112. O retardo da fibroplasia neste estudo com a sua manutenção elevada provavelmente seria causada pela isquemia característica dos retalhos cutâneos até a reconstituição dos vasos sanguíneos seccionados.

A célula responsável pela deposição de colágeno na derme em processo de cicatrização é o fibroblasto (SINGER e CLARK, 1999). Os fibroblastos necessários à cicatrização cutânea se acumulam no tecido à partir de diferenciação de fibrócitos presentes na derme restante viável e da migração de tecidos vizinhos através de contiguidade tecidual ou aporte vascular através da diferenciação dos monócitos. Na derme, os fibroblastos prontamente se multiplicam e começam a produzir colágeno novo. No presente estudo foi notado que a área de fibroplasia dérmica apresenta-se bem diferenciada a partir do dia 14 com aumento progressivo na sua espessura até o dia 112, representando este dia o pico da deposição de colágeno. Estes resultados diferem dos observados por GRAF (2000), que observou o pico da fibroplasia no dia 28 e SECKEL, YOUNAI e WANG (1998) e por RODRIGUES (2000), no dia 56. No trabalho de ROSS et al. (1999) foi observado um aumento da fibroplasia do dia 21 para o dia 42 do experimento.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Baseados nos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que o laser de Erbium-YAG :

1. não alterou a viabilidade do retalho quando comparado com o grupo controle, apresentando áreas viáveis dos retalhos semelhantes com p=0,0015;

2. promoveu, através da planimetria digital a contração cutânea imediata de 22,05% (p<0,0001) e esta se manteve até final do estudo com p=0,0090;

3. provocou o estímulo do colágeno, com neoformação de fibras colágenas que se depositaram na derme de forma regular, dispostas paralelas à epiderme, observado histologicamente, e que refletem o grau de fibroplasia presente durante todo o estudo;

4. através da morfometria por imagem apresentou uma zona de fibroplasia acentuada, que se manteve até o final do experimento;

5. O laser de Er:YAG alterou os resultados da tensiometria em todas as fases do experimento e a maior carga de ruptura ocorreu no dia 56. O alongamento de ruptura se manteve menor em todas as fases do estudo, sendo estatisticamente significante nos dias 14, 28 e 56 do estudo (p=0,0090).

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ACHAUER, B. M. Lasers in plastic surgery : current practice. **Plast. Reconstr. Surg.,** Baltimore, 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.

ADRIAN, R.M. The Erbium: YAG laser: facts and fiction. **Dermatol. Surg.,** New York, v.24, p.296,1998.

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. Clinical and histologic evaluation of six Erbium:YAG lasers for cutaneous resurfacing. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.24, p. 87-92, 1999 a.

ALSTER, T.S. Cutaneous resurfacing with CO_2 and Erbium:YAG lasers: preoperative, intraoperative, and postoperative considerations. **Plast. Reconstr. Surg.,** Baltimore, v.103, n.2, p. 619-634, Feb.1999 b.

ALSTER, T. S.; LEWIS, A.B. Dermatologic laser surgery. **Dermatol. Surg.,** New York, v.22, p.797-85, 1996.

ANDERSON, R. ; PARRISH, J. A. Selective photothermolisis: precise microsurgery by selective absorption of pulsed radiation. **Science,** Washington, 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.; FUTRELL, 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 CO_2 ultrapulsado.** Curitiba, 1999. Dissertação (Mestrado em Princípios da Cirurgia). Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná. Hospital Universitário Evangélico de Curitiba.

BANCROFT, J. D.; STEVENS, A. **Theory and practice of histological techniques.** London : C. Livingstone, 1982.

BASS, L. S. Erbium: YAG laser skin resurfacing: preliminary clinical evaluation. **Ann. Plast. Surg.,** Boston, v.40, n.4, p. 328-334, Apr. 1998.

BEKERECIOGIU, M.; TERCAN, M. e OZYAZGAN, I. The effect of Gingko Biloba Extrat (Egb 761) as a free radical scavenger on the survival of kkin flaps in rats. **Scand. J. Plast. Reconstr. Hand Surg.,** v.32, p.135-9, 1998.

BURKHARDT, B. R.; MAW, R. Are more passes better? Safety versus efficacy with the pulsed CO_2 laser. **Plast. Reconstr. Surg.,** Baltimore, v.100, n.6, p. 1531-1534, Nov.1997.

CHAMON, W. **Estudo clínico sobre ceratectomia fototerapêutica com Excimer laser de fluoreto de argônio (193 mm).** São Paulo, 1995. Tese (Doutorado em Medicina). Escola Paulista de Medicina. Universidade Federal de São Paulo.

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.

COTRAN, R.S.; KUNAR, V.; ROBBINS, S.L.**Robbins patologia estrutural e funcional**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

CRAWFORD, D. T.; BAINS, J.W.; KETCHAM, A. S. A standart model for tensiometric studies. **J. Surg. Res.,** New York, v.5 , n.6, p.265-269, Jun. 1965.

DAVID, L.M.; LASK, G.P.; GLASSBERG, E.; JACOBY, R.; ABERGEL, R.P. Laser abrasion for cosmetic and medical treatment of facial actinic damage. **Cutis,** Belle Mead, NJ, v.43, n.6, p.583-587, Jun. 1989.

DAVIS, R.E.; COHEN, J.I.; ROBINSON, J.E.; URBEN, S.L.; COOK, T.A. Ketorolac (Toradol) and acute random-pattern skin flap survival in rat. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg.**, v.121, p.673-677, 1995.

DERMA^{TM}20 ER:YAG superior technology. **Derma^{TM}20 Er:YAG, application notes,** v.4, n.1, p.1-4, 1997

DERMA^{TM}20 ER:YAG: a technological leap in skin rejuvenation. **Derma^{TM}20 Er:YAG, application notes,** v.4, n.2, p.1-4, 1997

DOVER, J. S. Roundtable discussion on laser skin resurfacing. **Dermatol. Surg.,** New York, v.25, , n.8, p.639-653, Aug. 1999.

DRNOVSEK-OLUP, B.; VEDLIN, B. Use of Er: YAG laser for benign skin disorders. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.21, p. 13-19, 1997.

FELSHER, Z. Observations on senile elastosis. **J. Invest. Dermatol.,** New York, v.37, p. 163-165, 1961.

FRANÇA, A. L. F. **Estudo histopatológico das lesões causadas por duas e quatro passadas de *laser* de *Erbium: YAG* com 0% de sobreposição de *spots*, em dorso de ratos.** Curitiba, 1999. Dissertação (Mestrado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

FULTON, J.E. Simultaneous face lifting and skin resurfacing. **Plast. Reconstr. Surg.**, v.102, n.7, p.2480-2489, Dec. 1998.

GARNER, W. L. Epidermal regulation of dermal fibroblast. **Plast. Reconstr. Surg.,** Baltimore, v.102, n.1, p.135-139, Jul. 1998.

GILLMAN, T.; PENN, J.; BRONKS, D.; ROUX, M. Abnormal elastic fibers. **Arch. Pathol.,** Northfield, Il., v.59, p. 733-749, 1955.

GOLDBERG, D. J. Erbium: YAG laser resurfacing: what is its role? **Aesthetic Surg. J.,** v. 18, n.4, p. 255-260, Jul./Aug. 1998.

GOLDBERG, D. J.; MEINE, J.G. Treatment of photoaged neck skin with the pulsed Erbium: YAG laser. **Dermatol. Surg.,** New York, v.24, p. 619-621, 1998.

GOLDBERG, D. J.; METZLER, C. Skin resurfacing utilizing a low-fluence Nd: YAG laser. **J. Cutan. Laser Ther.,** v.1, p. 23-27, 1999.

GOLDMAN, M. P.; FITZPATRICK, R. E.; MANUSKIATTI, W. Laser resurfacing of the neck with the Erbium : YAG laser. **Dermatol. Surg.,** New York, v.25, n.3, p.164-168,Mar.1999.

GOLDMAN, M. P.; MANUSKIATTI, W. Combined laser resurfacing with the 950--μsec pulsed CO_2 + Er: YAG lasers. **Dermatol. Surg.,** New York, v.25, n.3, p.160-163,Mar.1999.

GRAF, R.M.; BERNARDES, A.; AUERSVALD, A; NORONHA, L. Full face resurfacing and rhytidectomy. **Aesth. Plast. Surg**., v.23, p.101-106, 1999 a.

GRAF, R. M.; RIBAS, J. M.; MALAFAIA, O.; GRAF, C. M.; RIBEIRO, L. L.; DAMASIO, R. C. C. Estudo comparativo da influência da aplicação de laser de Er:YAG na sobrevivência de retalho cutâneo dorsal em ratos. **Acta Cir. Bras.,** São Paulo, v.4, supl.2, p.40, 1999 b.

GRAF, R. M. **Estudo da contração cutânea após o uso do laser de Erbium:YAG em dorso de ratos.** Curitiba, 2000. Dissertação (Mestrado em Princípios da Cirurgia). Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná. Hospital Universitário Evangélico de Curitiba.

GREEN, H. A.; DRAKE, L. Aging, sun damage, and sunscreens. **Clin. Plast. Surg.,** Philadelphia, v.20, n.1, p.1-8, Jan. 1993.

GREGORY, R. O. Laser physics and physiology. **Clin. Plast. Surg.,** Philadelphia, v.25, n.1, p. 89-93, Jan. 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**, v. 103, n. 2, p. 185-188, Feb. 1993.

HIBST, R. ; KAUFMANN, R. Effects of laser parameters on pulsed Er:YAG laser skin ablation. **Lasers Med. Sci.,** v.6, p.391-397, 1991.

HIBST, R. ; STOCK, K.; KAUFMANN, R. Ablation and controlled heating of skin with the Er:YAG laser. In: AMERICAN SOCIETY OF LASER MEDICINE AND SURGERY SEVENTEENTH ANNUAL MEETING (17 : 1997 : Phoenix, Arizona). **American Society of Laser Medicine and Surgery Abstracts.** Phoenix, Arizona : 1997. Ref. 180 Resumo.

HOHENLEUTNER, U.; HOHENLEUTNER, S.; ELÄUMLER, W.; LANDTHALER, M. Fast and effective skin ablation with an Er:YAG laser : determination of ablation rates and thermal damage zones. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.20, p.242-247, 1997.

HRUZA, G. J. Skin resurfacing with lasers. **J. Clin. Dermatol.,** v.3, n.4, p. 38-41, Jul./Aug. 1995.

HRUZA, G. J.; DOVER, J. S. Laser skin resurfacing. **Arch. Dermatol.,** Chicagov.132, p.451-455, Apr. 1996

HUGHES, P.S.H. Skin contraction following Erbium:YAG laser resurfacing. **Dermatol. Surg.,** New York, v.24, p.109-111, 1998.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY CROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. **Nomina anatomica veterinaria.** Ithaca : World Association of Veterinary Anatomists, 1983. 216p.

JIMENEZ, G.; SPENCER, J. Erbium: YAG laser resurfacing of hands, arms, and neck. **Dermatol. Surg.,** New York, v.25, p. 831-835, 1999.

KAUFMANN, R.; BEIER, Ch.; OCHSENDORF, F.; HIBST, R. Erbium:YAG ablation of pigmented skin lesions. In: AMERICAN SOCIETY OF LASER MEDICINE AND SURGERY SEVENTEENTH ANNUAL MEETING (17 : 1997 : Phoenix, Arizona). **American Society of Laser Medicine and Surgery Abstracts.** Phoenix, Arizona : 1997. Ref. 171 Resumo.

KAUFMANN, R.; HARTMANN, A.; HIBST, R. Cutting and skin-ablative properties of pulsed mid-infrared laser surgery. J. **Dermatol. Surg. Oncol.,** v.20, p. 112-118, 1994.

KAUFMANN, R.; HIBST, R. Pulsed Erbium:YAG laser ablation in cutaneous surgery. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.19, p. 324-330, 1996.

KAUFMANN, R.K.; HIBST, R. Pulsed 2.94-µm erbium-YAG laser skin ablation – experimental results and first clinical application. **Clin.Exp. Dermatol.,** Oxford, v.15, p. 389-393, 1990.

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.

KHATRI, K.; GOLDBERG, D. J.; McDANIEL, D. **The Erbium YAG laser system.** s.l.; s.ed., 1996.

KHATRI, K. ; ROSS, V.; GREVELINK, J. ; ANDERNSON, R. Comparison of Erbium:YAG and CO_2 lasers in wrinkle removal. In: AMERICAN SOCIETY OF LASER MEDICINE AND SURGERY SEVENTEENTH ANNUAL MEETING (17 : 1997 : Phoenix, Arizona). **American Society of Laser Medicine and Surgery Abstracts.** Phoenix, Arizona: 1997. Ref. 169 Resumo.

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

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

KIRSCH, K. M. Ultrastructure of collagen thermally denatured by microsecond domain pulsed carbon dioxide laser. **Arch. Dermatol.,** v. 134, p.1255-1259, Oct. 1998.

KLIGMAN, A.M. Early destructive effect of sunlight on human skin. **JAMA,** Chicago, v.210, n.13, p.2377-2380, Dec.29, 1969.

KRYGER, Z.; ZHANG, F.; DOGEN, T.; LINEAWEAVER, W.C.; BINCKE, H.J. The effects of VEGF on survival of a random flap in the rat: examination of various routes of administration. **Br.J.Plast.Surg**., v.53, n.3, p.234-239, 2000.

KYE, Y. C. Resurfacing of pitted facial scars with a pulsed ER:YAG laser. **Dermatol. Surg.,** New York, v.23, p. 880-883, 1997.

LANDECKER, A.; KATAYAMA, M.L.S.; MAMMANA, A.K.; LEITÃO, R.M.C.; SACHETTA, T.; GEMPERLI, R.; NEVES, R.I. Effects of Retinoic and Glycolic Acids on Neoangiogenesis and Necrosis of Axial Dorsal Skin Flaps in Rats. **Aesth. Plast. Surg.,** v.25, p.134-139, 2001.

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.

MACKEE, G.M.; KARP, F.L. The treatment of post acne scars with phenol. **Br. J. Dermatol.,** Oxford, v.64, p. 456-459, 1952.

MAIMON, T. H. Stimulated optical radiation in ruby. **Nature,** London, v.187, p.493-494, 1960.

MATSUMURA, H.; YOSHIZAWA, N.; VEDDER, N.B.; WATANABE, K. Preconditioning of the distal portion of a rat random-pattern skin flap. **Br.J.Plast.Surg**., v.54, n.1, p.58-61, 2001.

McDANIEL, D.H.; ASH, K.; LORD, J.; NEWMANN, J.; ZUKOWSKI, M. The Erbium:YAG laser: a review and preliminary report on resurfacing of the face, neck, and hands. **Aesthetic Surg. J.,** v.17, n.3, p. 157-164, May/Jun.1997

McDANIEL, D.H.; LORD, J.; ASH, K.; NEWMAN, J. Combined CO_2/ Erbium: YAG laser resurfacing of peri-oral rhytides and side-by-side comparison with carbon dioxide laser alone. **Dermatol. Surg.,** New York, v.25, n.4, p.285-293, Apr. 1999.

McFARLANE, R.M.; DeYOUNG, G.; HENRY, R.A. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. **Plast. Reconst. 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. Reconst. 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. Reconst. Surg**., v. 37, n. 5, p.422-430, May. 1966.

MILLER, I.D. The Erbium laser gains a role in cosmetic surgery. **Biophotonics Intern.,** p.38-42, May/Jun. 1997.

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

MITZ, V. e PEYRONIE, M. The superficial musculo aponeurotic system (SMAS) in the parotid and cheek area. **Plast.Reconstr.Surg**., v.58, p.80, 1976.

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

MONTAGNA, W.; KIRSCHNER, S.; CARLISLE, K. Histology of sun-damaged human skin. **J. Am. Acad. Dermatol.,** St. Louis, v.21, n.5, part 1, p. 907-918, Nov.1989.

MONTEIRO, D.T.; SANTAMORE, W.P.; NEMIR, P. The influence of pentoxifylline on skin-flap survival. . **Plast. Reconst. 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. Reconst. 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.,** New York, v.24, n.2, p. 209-219, Feb. 1998.

NEMETH, A. J.; MILLER, I. ; GLASS, L. F.; MESSINA, J. L. ; REHNKE, R.D. Erbium:YAG laser for acne scarring/resurfacing: a clinical and histologic study. In: AMERICAN SOCIETY OF LASER MEDICINE AND SURGERY SEVENTEENTH ANNUAL MEETING (17 : 1997 : Phoenix, Arizona). **American Society of Laser Medicine and Surgery Abstracts.** Phoenix, Arizona : 1997. Ref. 149 Resumo.

NOLAN, J. JENKINS, R.A.; KURHARA, K.; SCHULTZ, R.C. The acute efects of cigarette smoke exposure on experimental skin flaps. **Plast. Reconst. 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.,** New York, v.76, n.5,p.356-358,1981.

PEREZ, M. ; BANK, D. E.; SILVERS, D. Skin resurfacing of the face with the Erbium:YAG laser. **Dermatol. Surg.,** New York, v.24, p. 653-659, 1998.

POLNIKORN, N.; GOLDBERG, D.J.; SUWANCHINDA, A.; NG, S.W. Erbium:YAG laser resurfacing in asians. **Dermatol. Surg.,** v.24, p. 1303-1307, 1998.

REINISCH, J.F. The pathophysiology of skin flap circulation. The delay phenomenon. **Plast. Reconst. 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.; RIBAS, J. M.; MALAFAIA, O.; NIGRO, C. C.; ARAÚJO, L. R. R. Estudo comparativo da influência da aplicação de laser CO_2 ultrapulsado na sobrevivência de retalho cutâneo dorsal em ratos. **Acta Cir. Bras.,** São Paulo, v.4, supl.2, p.39-40, 1999.

RODRIGUES, R. G. **Efeitos de contração cutânea e fibroplasia causados pelo laser CO_2 ultrapulsado em pele de ratos.** Curitiba, 2000. Dissertação (Mestrado em Princípios da Cirurgia). Faculdade Evangélica de Medicina do Paraná. Hospital Universitário Evangélico de Curitiba.

RODRIGUES, R.G., GRAF, R.M., RIBAS Fo., J.M., MALAFAIA, O., CZECZKO, N.G., MESQUITA, L.F., NIGRO, C.C.A.S.: Efeitos de Contração Cutânea e Fibroplasia Causados Pelo Laser de CO_2 Ultrapulsado em Pele de Ratos. **Rev. Med. Pr.**, v.58, n.2, p.33-36, jul/dez,2000.

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

ROSS, V.E. ; DOMANKEVITZ, Y.; SKROBAL, M. Effects of CO_2 laser pulse duration in ablation and residual thermal damage: implications for skin resurfacing. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.19, p. 123-126, 1996.

ROSS, E.V.; BARNETTE, D.J.; SKROBAL,M.; GREVENLINK, J.; ANDERSON, R.; NASEEF, G. Effects of overlap and pass number in CO_2 laser skin resurfacing: a study of residual thermal damage, cell death, and wound healing. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.24,p. 103-112. 1999.

ROSS, E.V.; YASHAR, S.S.; NASEEF, G.; BARNETTE, D.J.; SKROBAL,M.; GREVENLINK, J.; ANDERSON, R. A pilot study of in vivo immediate tissue contraction with CO_2 skin laser resurfacing in a livre farm pig. **Dermatol. Surg.,** New York, v.25, n. 11, p. 851-856, Nov.1999.

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

SAMS, W.M.; SMITH JR, J. G. The histochemistry of chronically sun-damaged skin: an investigation of mucopolysaccharides and basophilia in actinically damage skin using alcian blue, Moury's, and Hicks-Matthei stains, methylation and saponifiction. **J. Invest. Dermatol.,** New York, v.37, p. 447-453, 1961.

SCHWARTZ, R.J.; BURNS, A.J.; ROHRICH, R.J.; BARTON, F.E.; BYRD, H.S. Long-term assessment of CO_2 facial laser resurfacing: aesthetic results and complications. **Plast. Reconstr. Surg.,** Baltimore, v.103, n.2, p. 592-601,Feb.1999.

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.; YOUMAI, S.; WANG, K. Skin tightening effects of the ultrapulse CO_2 laser. **Plast. Reconstr. Surg.,** Baltimore, v.102, n.3, p. 872-877, Sep. 1998.

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

SIEGEL, S. **Nonparametric statistics.** New York : McGraw-Hill, 1956.

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

SMITH, L. Histopathologic characteristics and ultrastructure of aging skin. **Cutis,** Belle Mead, NJ, v.43, p.414-424, May 1989.

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

STUZIN, J.M.; BAKER, T.J.; BAKER, T.M. CO_2 and Erbium:YAG laser resurfacing: current status and personal perspective. **Plast. Reconstr. Surg.,** Baltimore, v.103, n.2, p. 588-591, Feb.1999.

TANG, J. et al. Morphologic changes in collagen fibers after 830nm diode laser welding. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.21, p. 438-443, 1997.

TEIKEMEIER,G.; GOLDBERG, D. J. Skin resurfacing with the Erbium: YAG laser. **Dermatol. Surg.,** New York, v.23, p. 685-687, 1997.

UITTO, J. ; FAZIO, M.J.; OLSEN, D.R. Molecular mechanisms of cutaneous aging. **J. Am. Acad. Dermatol.,** St. Louis, v.21, n.3, part 2, p. 614-622, Sep. 1989.

UITTO, J.; PAUL, J.L.; BROCKLEY, K.; PEARCE, R.H.; CLARK, J.G. Elastic fibers in human skin: analyses and determination of elastin by radioimmunoassay of desmosine. **Lab. Invest.,** Baltimore, v.49, n.4, p.499-505, 1983.

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

UTLEY, D. S.; KOCH, R.J.; EGBERT, B. M. Histologic analysis of the thermal effect on epidermal and dermal structures following treatment with the superpulsed CO_2 laser and the Erbium: Yag laser : an in vivo study. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.24, p.93-102, 1999.

VEDLIN, B. The Erbium laser's: bright future in medicine. **Biophotonics Intern.,** p.42-46, Jul./Aug.1995.

VOGLER, K.; REINDL,M. Improved Erbium laser parameters for new medical applications. **Biophotonics Intern.,** p.40-47, Nov./Dec. 1996.

WALSH JR., J.; DEUTSCH, T. Er: YAG laser ablation of tissue: measurement of ablation rates. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.9, p. 327-337, 1989.

WALSH JR., J.; FLOTTE, T.J.; DEUTSCH, T.F. Er: YAG laser ablation of tissue: effect of pulse duration and tissue type on thermal damage. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.9, p. 314-326, 1989.

WALSH, J.,T.; CUMMINGS, J.P. Effect of the dynamic optical properties of water on midinfrared laser ablation. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.15, p. 295-305, 1994.

WEINSTEIN, C. Computerized scanning Erbium:YAG laser for skin resurfacing. **Dermatol. Surg.,** New York, v.24, p.83-89, 1998.

WEINSTEIN, C. Erbium laser resurfacing: current concepts. **Plast. Reconstr.Surg.** Baltimore, v.103, n.2, p. 603-618, Feb.1999a.

WEINSTEIN, C. Why I abandoned CO_2 laser resurfacing: the dilemma of evolving technologies. **Aesthetic Surg. J.,** v.19, n.1, p. 67-69, Jan./Feb.1999b.

WEINSTEIN, C., POZNER, J. E SCHEFLAND, M.: Combined erbium:YAG laser resurfacing and face lifting. **Plast. Reconstr.Surg.**, v.107,n.2, p. 586-594, Feb.2001.

WEISS, R.A.; HARRINGTON, A. C.; PFAU, R.C.; WEISS, M.A. ; MARWAHA, S. Periorbital skin resurfacing using high energy Erbium:YAG laser: results in 50 patients. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.24, p.81-86, 1999.

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

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.

WHETZEL, T.P.; MATHES, S.J. The arterial supply of the face lift flap. **Plast. Reconstr.Surg.**, v. 100,n. 4, 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.

YANG, C.; CHAI, C. Animal study of skin resurfacing using the ultrapulse carbon dioxide laser. **Ann. Plast. Surg.,** Boston, v.35, n.2, p. 154-158, 1995.

ZWEIG, A.D.; FRENZ, M.; ROMANO, V.; WEBER, H.P. Lateral thermal damage along pulsed laser incisions. **Lasers Surg. Med.,** New York, v.10, p. 262-274, 1990.

ANEXOS

TABELAS

TABELA 2 – 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	277	271	289	311	336	
2	254	255	271	293	318	
3	266	265	283	299	324	
4	274	276	289	300	319	
5	281	284	302	318	337	
5						
1	288	292	307	322	341	359
2	269	270	291	315	337	358
3	260	258	279	298	322	343
4	257	259	277	298	319	339
5	285	284	303	321	344	365
Peso Mínimo	250	250	271	293	318	339
Peso Máximo	299	308	319	347	344	365
Desvio Padrão	14,8831	16,14693	13,14084	13,9523	10,19858	11,18928
Média	271,56	272,16	289,45	310,6667	329,7	352,8

TABELA 3 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO O PESO, EM GRAMAS, DO DIA 01 A0 DIA 112

GRUPO / ANIMAL	DIA 01	DIA 14	DIA 28	DIA 56	DIA 84	DIA 112
1						
1	253	251				
2	278	270				
3	259	256				
4	278	279				
5	280	275				
2						
1	295	297	320			
2	257	249	264			
3	260	262	278			
4	265	257	271			
5	270	264	284			
3						
1	265	267	284	299		
2	290	285	307	322		
3	289	280	301	328		
4	256	248	266	293		
5	275	272	288	301		
4						
1	259	255	273	294	315	
2	267	265	280	305	328	
3	278	269	296	316	335	
4	294	283	303	322	345	
5	272	264	284	310	328	
5						
1	268	254	286	303	329	351
2	264	260	279	301	319	344
3	279	277	291	311	336	349
4	283	275	287	298	322	348
5	273	268	280	294	317	336
Peso Mínimo	253	248	264	293	315	336
Peso Máximo	295	297	320	328	345	351
Desvio Padrão	12,08829	12,29675	13,98458	11,22412	9,465728	5,94138
Média	272,28	267,28	286,1	306,4667	327,4	345,6

TABELA 4 – 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	67,64642	9,5984	32,35358
2	27,7292	100,00	21,3917	77,14503	6,3375	22,85497
3	29,4233	100,00	22,4861	76,42277	6,9372	23,57723
4	30,3094	100,00	21,6324	71,37192	8,677	28,62808
5	31,454	100,00	21,3344	67,8273	10,1196	32,1727
2						
1	28,4216	100,00	23,2260	81,71954	5,1956	18,28046
2	30,7997	100,00	21,6146	70,17796	9,1851	29,82204
3	30,3444	100,00	22,7133	74,8517	7,6311	25,1483
4	30,0982	100,00	22,9692	76,3142	7,129	23,6858
5	27,6961	100,00	20,0130	72,25927	7,6831	27,74073
3						
1	30,3302	100,00	24,4199	80,51348	5,9103	19,48652
2	27,9898	100,00	27,5652	98,48318	8,822	31,51862
3	25,595	100,00	19,4693	76,06681	6,1257	23,93319
4	26,4035	100,00	18,1353	68,68521	8,2682	31,31479
5	30,8042	100,00	21,7364	70,56311	9,0678	29,43689
4						
1	29,43726	100,00	20,4705	69,53956	8,96672	30,46044
2	30,12827	100,00	23,19,3	76,9817	6,935015	23,0183
3	31,53933	100,00	21,7264	68,88683	9,812884	31,11317
4	30,99016	100,00	22,4353	72,39504	8,554822	27,60496
5	29,63233	100,00	22,0391	74,37536	7,593178	25,62464
5						
1	28,79605	100,00	18,7162	64,99558	10,07989	35,00442
2	31,66166	100,00	20,8871	65,9698	10,77453	34,0302
3	26,41968	100,00	18,5538	70,22715	7,865892	29,77285
4	29,2293	100,00	21,8732	74,8331	7,356108	25,1669
5	30,28189	100,00	21,4829	70,94315	8,798964	29,05685
Área Mínima	25,595	100,00	18,1353	64,99558	5,1956	18,28046
Área Máxima	31,66166	100,00	27,56525	98,48318	10,77453	35,00442
Desvio Padrão	1,66145086	-	1,563387	3,99215	1,44404	3,99215
Área Média	29,4072696	100,00	21,60614	73,56781	8,137024	27,63227

TABELA 5 – 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	26,08118	100,00	17,48653	67,04655	8,594649	32,95345
2	27,99314	100,00	16,95251	60,55954	11,04062	39,44046
3	27,20044	100,00	18,71328	68,79772	8,487156	31,20228
4	24,18044	100,00	16,75876	69,30711	7,421673	30,69289
5	24,27874	100,00	17,07528	70,33016	7,203462	29,66984
2						
1	22,71327	100,00	16,18223	71,24569	6,531046	28,75431
2	29,43288	100,00	17,03848	57,88926	12,3944	42,11074
3	22,01831	100,00	14,26879	64,80422	7,749515	35,19578
4	26,2626	100,00	17,19873	65,48754	9,063871	34,51246
5	27,20806	100,00	18,2975	67,25029	8,910561	32,74971
3						
1	24,13944	100,00	16,86452	69,86294	7,274916	30,13706
2	30,71266	100,00	20,03147	65,22219	10,68119	34,77781
3	25,85725	100,00	19,22794	74,36189	6,629309	25,63811
4	24,51827	100,00	16,95055	69,13434	7,567727	30,86566
5						
4						
1	27,85412	100,00	19,06659	68,45159	8,787533	31,54841
2	27,6462	100,00	19,75567	71,45891	7,890525	28,54109
3	25,12512	100,00	15,80359	62,89958	9,321525	37,10042
4	27,26921	100,00	18,69357	68,55192	8,575642	31,44808
5						
5						
1	21,96623	100,00	14,48009	65,91977	7,486139	34,08023
2	23,45887	100,00	16,04985	68,41698	7,409017	31,58302
3	23,21702	100,00	16,11509	69,41067	7,101931	30,58933
4	26,06242	100,00	18,76663	72,00648	7,295789	27,99352
5	21,87026	100,00	16,30616	74,55859	5,564104	25,44141
Área Mínima	5,564104	100,00	14,26879	57,88926	5,564104	25,44141
Área Máxima	12,3944	100,00	20,03147	74,55859	12,3944	42,11074
Desvio Padrão	1,560271	-	2,121998	5,83483	2,296555	5,83483
Área Média	8,216622	100,00	17,30799	67,95539	8,216622	32,04461

TABELA 6 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO A ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO, EM CM^2, DO DIA 01 AO DIA 112

GRUPO / ANIMAL	DIA 01	DIA 14	DIA 28	DIA 56	DIA 84	DIA 112
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	4,451	4,1887	4,4812			
3						
1	4,6536	4,4866	4,05	5,789959		
2	3,7198	3,8911	4,0889	5,087904		
3	4,3376	4,5606	4,5107	4,662151		
4	4,524	3,7734	4,1403	5,1377		
5	4,0168	4,1226	4,92	5,592045		
4						
1	5,2992003	4,078816	3,903302	4,253494	5,335982	
2	5,62375926	4,665552	4,272308	4,645918	6,139388	
3	4,4165574	4,198605	4,058607	4,720928	4,892406	
4	4,8642933	3,769284	3,783054	4,905328	5,18999	
5	4,50541395	3,769878	3,482815	4,168553	5,710554	
5						
1	4,3223542	3,221053	3,938498	3,4963	4,530975	5,385184
2	4,54150476	3,798695	3,914823	4,113784	5,14903	5,84644
3	3,68739594	2,851607	3,087012	4,088289	5,048945	5,561747
4	4,01517739	3,362687	3,374459	3,420199	4,533433	5,789434
5	3,2950962	3,683438	3,867667	4,200982	4,6454	4,498056
Peso Mínimo	3,2950962	2,851607	3,087012	3,420199	4,530975	4,498056
Peso Máximo	5,7813	5,0747	5,6338	5,789959	6,139388	5,84644
Desvio Padrão	0,644481242	0,573347	0,641334	0,685602	0,517831	0,545331
Média	4,688790108	4,169609	4,217017	4,552236	5,11761	5,416172

TABELA 7 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ÁREA DA FIGURA TATUADA NO RETALHO, EM CM^2, DO DIA 01 AO DIA 112

GRUPO / ANIMAL	DIA 1	DIA 14	DIA 28	DIA 56	DIA 84	DIA 112
1						
1	3,4343909	3,298259				
2	3,22214288	3,426905				
3	3,73101207	3,144459				
4	3,99794848	3,817245				
5	3,86769467	3,774832				
2						
1	3,71415564	3,711184	3,55981			
2	3,71968434	3,494719	3,710089			
3	3,8491075	4,004467	4,423308			
4	4,11519624	3,53308	3,270147			
5	4,59565756	4,315865	4,19304			
3						
1	3,51054288	3,15849	3,658327	4,151739		
2	3,64382304	3,509751	4,366139	4,470611		
3	4,17222432	3,206468	3,614101	4,068989		
4	3,52865172	3,36034	4,059259	3,84972		
5						
4						
1	3,21546888	3,271932	3,73626	3,658057	4,079514	3,793761
2	4,11939359	3,716122	4,317786	4,210045	5,510651	3,467458
3	3,75382392	3,744926	4,173342	3,454618	3,602766	3,671428
4	4,39086784	4,226387	3,589592	3,597222	4,34548	4,014989
5						
5						
1	3,2080646	3,128475	3,513325	3,578339	3,812531	3,793761
2	2,66724971	3,05658	3,086551	2,683484	3,638391	3,467458
3	3,3238879	2,991903	2,829368	2,956713	3,547138	3,671428
4	3,22026026	3,28986	3,438058	3,27033	3,801809	4,014989
5	2,72669508	3,064976	2,948121	2,621642	2,81778	3,41724
Área Mínimo	2,66724971	2,991903	2,829368	2,621642	2,81778	3,41724
Área Máximo	4,59565756	4,315865	4,423308	4,470611	5,510651	4,014989
Desvio Padrão	0,4834574	0,372135	0,483512	0,581485	0,732659	0,244542
Média	3,640345392	3,48901	3,693701	3,582424	3,906229	3,672975

TABELA 8 – DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL ÁREA DA FIGURA TATUADA

GRUPO	ANIMAIS	MÉDIA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
CONTROLE 1	25	4,6888	3,2951	5,7813	0,6445
CONTROLE 14	25	4,1696	2,8516	5,0747	0,5733
CONTROLE 28	20	4,2170	3,0870	5,6338	0,6413
CONTROLE 56	15	4,5522	3,4202	5,7900	0,6856
CONTROLE 84	10	5,1176	4,5376	6,1394	0,5178
CONTROLE 112	5	5,4162	4,4981	5,8464	0,5453
ERBIUM 1	25	3,6403	2,6672	4,5957	0,4835
ERBIUM 14	25	3,4890	2,9919	4,3159	0,3721
ERBIUM 28	20	3,6937	2,8294	4,4233	0,4835
ERBIUM 56	15	3,5824	2,6216	4,4706	0,5815
ERBIUM 84	10	3,9062	2,8178	5,5107	0,7327
ERBIUM 112	5	3,6730	3,4172	4,0150	0,2445

FONTE: Tabelas 6 e 7 do Anexo

TABELA 9 – NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA (p) PARA AS DIFERENÇAS DAS ÁREAS DA FIGURA TATUADA

MOMENTO	VALOR DE P
DIA 1	< 0,0001
DIA 14	< 0,0001
DIA 28	0,0152
DIA 56	0,0014
DIA 84	0,0025
DIA 112	0,0090

FONTE: Tabelas 6 e 7 do Anexo

TABELA 10 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 14

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP. FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (kgf)
1	10	14,34	43,4	5,78
2	10	14,86	48,6	5,83
3	10	14,87	32,8	5,13
4	10	13,88	52,3	5,17
5	10	15,23	48,7	6,02
Máximo	10	15,23	52,3	6,02
Mínimo	10	13,88	32,8	5,13
D. Padrão	0	0,5284222	7,602828	0,4082034
Média	10	14,636	45,16	5,586

TABELA 11 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 28

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP. FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (kgf)
1	10	13,99	39,9	6,07
2	10	14,93	43,9	6,64
3	10	14,35	43,5	6,98
4	10	14,66	46,6	7,04
5	10	14,42	44,2	6,63
Máximo	10	14,93	46,6	7,04
Mínimo	10	13,99	39,9	6,07
D. Padrão	0	0,351781182	2,4056184	0,385837
Média	10	14,47	43,62	6,672

TABELA 12 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (C) SEGUNDO TENSIOMETRIA DO RETALHO, NO DIA 56

ANIMAL	COMP.INICIAL (mm)	COMP. FINAL (mm)	ALONG. DE RUPTURA (%)	CARGA DE RUPTURA (kgf)
1	10	13,94	39,4	7,25
2	10	13,67	36,7	7,88
3	10	14,05	40,5	8,64
4	10	14,49	44,9	8,11
5	10	13,53	35,3	7,01
Máximo	10	14,49	44,9	8,64
Mínimo	10	13,53	35,3	7,01
D. Padrão	0	0,37266607	3,7266607	0,65808054
Média	10	13,936	39,36	7,778

TABELA 13 – 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	13,86	38,6	8,06
2	10	14,13	41,3	8,52
3	10	14,74	47,4	7,96
4	10	19,59	45,9	7,34
5	10	13,45	34,5	7,51
Máximo	10	19,59	47,4	8,52
Mínimo	10	13,45	34,5	7,34
D. Padrão	0	2,52369372	5,282329	0,4682094
Média	10	15,154	41,54	7,878

TABELA 14 – 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	14,91	49,1	8,31
2	10	13,85	38,5	7,48
3	10	14,68	46,8	7,95
4	10	14,14	41,4	7,36
5	10	13,94	39,4	7,42
Máximo	10	14,91	49,1	8,31
Mínimo	10	13,85	38,5	7,36
D. Padrão	0	0,467471924	4,67471924	0,41137574
Média	10	14,304	43,04	7,704

TABELA 15 – 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	10,91	9,1	1,96
2	10	12,03	20,3	2,05
3	10	11,82	18,2	2,57
4	10	11,85	18,5	2,27
5	10	11,31	13,1	2,34
Máximo	10	12,03	20,3	2,57
Mínimo	10	10,91	9,1	1,96
D. Padrão	0	0,462255	4,622553	0,242012
Média	10	11,584	15,84	2,238

TABELA 16 – 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	12,59	25,9	5,43
2	10	12,62	26,2	5,26
3	10	12,81	28,1	6,03
4	10	13,39	33,9	5,57
5	10	13,2	32	6,48
Máximo	10	13,39	33,9	6,48
Mínimo	10	12,59	25,9	5,26
D. Padrão	0	0,357169	3,571694	0,496518
Média	10	12,922	29,22	5,754

TABELA 17 – 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	13,29	32,9	10,79
2	10	12,37	23,7	9,81
3	10	13,33	33,3	10,54
4	10	12,48	24,8	10,71
5	10	12,22	22,2	10,01
Máximo	10	13,33	33,3	10,79
Mínimo	10	12,22	22,2	9,81
D. Padrão	0	0,53044321	5,30443211	0,43705835
Média	10	12,738	27,38	10,372

TABELA 18 – 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	12,49	24,9	9,23
2	10	11,97	19,7	8,79
3	10	12,83	28,3	9,87
4	10	13,03	30,3	9,55
5	10	12,71	27,1	10,12
Máximo	10	13,03	30,3	10,12
Mínimo	10	11,97	19,7	8,79
D. Padrão	0	0,40580784	4,0580784	0,5244235
Média	10	12,606	26,06	9,512

TABELA 19 – 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	13,21	32,1	9,16
2	10	12,73	27,3	8,25
3	10	12,92	29,2	8,09
4	10	12,12	21,2	8,43
5	10	13,19	31,9	8,72
Máximo	10	13,21	32,1	9,16
Mínimo	10	12,12	21,2	8,09
D. Padrão	0	0,44612778	4,4612778	0,4227884
Média	10	12,834	28,34	8,53

TABELA 20 – DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL CARGA DE RUPTURA

GRUPO	ANIMAIS	MÉDIA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
CONTROLE 14	5	5,59	5,13	6,02	0,4082
CONTROLE 28	5	6,67	6,07	7,04	0,3858
CONTROLE 56	5	7,78	7,01	8,64	0,6581
CONTROLE 84	5	7,88	7,34	8,52	0,4682
CONTROLE 112	5	7,70	7,36	8,31	0,4114
ERBIUM 14	5	2,24	1,96	2,57	0,2420
ERBIUM 28	5	5,75	5,26	6,48	0,4965
ERBIUM 56	5	10,37	9,81	10,79	0,4370
ERBIUM 84	5	9,51	8,79	10,12	0,5244
ERBIUM 112	5	8,53	8,09	9,16	0,4228

FONTE: Tabelas 10, 11, 12, 13 e 14 do Anexo para retalho do grupo controle
Tabelas 15, 16, 17, 18 e19 do Anexo para retalho do grupo Erbium

TABELA 21 – NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA (p) PARA AS DIFERENÇAS DAS CARGAS DE RUPTURA

MOMENTO	VALOR DE P
DIA 14	0,0090
DIA 28	0,0163
DIA 56	0,0090
DIA 84	0,0090
DIA 112	0,0283

FONTE: : Tabelas 10, 11, 12, 13 e 14 do Anexo para retalho do grupo controle
Tabelas 15, 16, 17, 18 e19 do Anexo para retalho do grupo Erbium

TABELA 22 – DISTRIBUIÇÃO ESTATÍSTICA DA VARIÁVEL ALONGAMENTO DE RUPTURA

GRUPO	ANIMAIS	MÉDIA	MÍNIMO	MÁXIMO	DESVIO PADRÃO
CONTROLE 14	5	46,36	38,80	52,30	5,2842
CONTROLE 28	5	44,70	39,90	49,30	3,5178
CONTROLE 56	5	39,36	35,30	44,90	3,7267
CONTROLE 84	5	41,54	34,50	47,40	5,2823
CONTROLE 112	5	43,04	38,50	49,10	4,6747
ERBIUM 14	5	15,84	9,10	20,30	4,6226
ERBIUM 28	5	29,22	25,90	33,90	3,5717
ERBIUM 56	5	27,38	22,20	33,30	5,3044
ERBIUM 84	5	26,06	19,70	30,30	4,0581
ERBIUM 112	5	28,34	21,20	32,10	4,4613

FONTE: Tabelas 10, 11, 12, 13 e 14 do Anexo para retalho do grupo controle
Tabelas 15, 16, 17, 18 e19 do Anexo para retalho do grupo Erbium

TABELA 23 – 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	0,0090
DIA 84	0,0090
DIA 112	0,0090

FONTE: Tabelas 10, 11, 12, 13 e 14 do Anexo para retalho do grupo controle
Tabelas 15, 16, 17, 18 e19 do Anexo para retalho do grupo Erbium

TABELA 24 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA DA FIBROPLASIA, EM µM, NO DIA 14

MEDIDA	RATO 1	RATO 2	RATO 3	RATO 4	RATO 5
1	99,164	84	67,736	120,229	287,238
2	93,68	92,039	63,739	106,954	215,936
3	99,243	98,08	91,047	176,264	199,215
4	147,261	51,398	215,438	148,647	208,968
5	146,263	70,172	169,035	124,196	197,71
6	75,34	62,29	99,934	170,167	199,384
7	92,894	64,266	85,012	138,202	190,217
8	84	82,024	80,102	150,693	209,325
9	92,894	95	108,706	163	243,109
10	78,071	82,03	106,748	136,377	204,109
11	85,012	104,772	150,216	137,379	200,639
12	77,089	96,271	146,259	145,274	198,055
13	99,832	116,612	119,577	114,636	239,186
14	70,172	114,636	118,626	145,274	244,694
15	82,024	119,581	124,522	143,298	193,546
16	111,898	91,052	67,316	161,192	247,622
17	129,505	52,386	89,935	136,606	218,385
18	126,498	77,31	107,759	101,789	174,921
19	96,893	67,229	183,812	132,483	245,481
20	90,195	85,04	153,333	137,365	228,234
21	88,947	78,096	91,912	131,807	226,572
22	83,012	69,184	94,917	155,204	185,318
23	83,065	114,636	76,101	124,534	192,838
24	71,153	98,844	118,589	164,048	237,105
25	79,059	88,887	110,683	164,048	214,894
26	66,212	71,277	116,612	170,023	207,111
27	58,381	105,742	146,273	172,093	244,886
28	87,953	88,042	115,628	168,073	219,311
29	92,942	76,408	118,589	134,433	212,508
30	77,089	71,215	120,602	153,19	248,292
Espessura Mínima	58,381	51,398	18,53578	101,789	174,921
Espessura Máxima	147,261	119,581	215,438	176,264	287,238
Desvio Padrão	21,47666	18,53578	35,18399	19,88758	24,67218
Média	92,19137	85,6173	115,2919	144,2493	217,827

TABELA 25 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA DA FIBROPLASIA, EM μM, NO DIA 28

MEDIDA	RATO 1	RATO 2	RATO 3	RATO 4	RATO 5
1	151,832	119,942	209,565	138,48	209,565
2	162,098	118,692	162,074	138,385	162,074
3	133,591	115,628	124,534	192,709	124,534
4	112,936	111,671	142,337	127,945	142,337
5	151,201	123,534	111,71	127,865	111,71
6	112,664	116,612	250,024	96,852	250,024
7	159,106	110,753	314,316	96,847	314,316
8	119,577	141,322	78,227	99,832	280,667
9	139,342	134,404	85,982	91,111	303,55
10	101,908	130,463	97,029	102,82	152,192
11	117,704	128,475	123,925	140,128	169,977
12	126,633	141,318	129,493	94,953	261,975
13	80,053	120,569	100,975	134,491	94,917
14	116,629	141,322	135,421	135,392	103,934
15	138,357	144,286	131,736	118,605	94,215
16	162,279	102,82	102,82	131,736	105,742
17	151,213	86,987	86,987	120,581	112,659
18	164,051	154,178	154,178	128,532	95,287
19	143,298	186,78	186,78	145,271	134,404
20	125,697	148,265	148,265	123,546	115,729
21	187,768	105,742	105,742	110,687	82,03
22	124,71	117,667	117,667	114,64	167,015
23	123,53	141,332	141,332	93,883	142,32
24	127,517	156,145	162,279	78,227	142,361
25	143,308	123,213	151,213	85,982	150,212
26	90,918	132,457	164,051	97,029	148,354
27	107,759	124,518	143,298	123,925	115,624
28	147,261	121,557	125,697	129,493	107,759
29	135,389	199,627	187,768	100,975	152,304
30	133,416	170,977	124,71	135,421	93,888
Espessura Mínima	80,053	86,987	24,10984	78,227	82,03
Espessura Máxima	187,768	199,627	314,316	192,709	314,316
Desvio Padrão	23,35354	24,10984	49,60052	23,42416	65,12013
Média	133,0582	132,3752	143,3378	118,5448	154,7225

TABELA 26 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA DA FIBROPLASIA, EM μM, NO DIA 56

MEDIDA	RATO 1	RATO 2	RATO 3	RATO 4	RATO 5
1	124,581	197,67	99,817	220,464	144,286
2	140,069	204,568	121,654	227,99	216,427
3	214,775	251,015	130,582	219,409	92,894
4	203,58	270,958	153,19	223,635	115,662
5	158,229	83,018	127,498	203,109	145,274
6	149,342	164,122	134,433	144,286	150,225
7	182,867	231,301	148,265	216,427	146,912
8	140,417	154,279	103,883	92,894	163,107
9	174,941	183,982	134,404	115,662	152,269
10	132,439	185,563	138,442	145,274	165,461
11	138,368	145,607	145,607	150,225	197,217
12	228,644	128,532	128,532	146,912	82,048
13	160,454	147,251	147,251	163,107	162,315
14	137,369	160,143	160,143	152,269	115,061
15	126,51	103,765	103,765	165,461	133,416
16	144,286	197,217	144,286	138,368	144,286
17	216,427	82,048	216,427	228,644	216,427
18	92,894	162,315	92,894	160,454	92,894
19	115,662	115,061	115,662	137,369	115,662
20	145,274	133,416	145,274	126,51	145,274
21	197,217	214,775	216,427	99,817	92,894
22	82,048	203,58	92,894	121,654	115,662
23	162,315	158,229	115,662	130,582	145,274
24	115,061	149,342	145,274	153,19	150,225
25	99,817	182,867	197,217	127,498	146,912
26	121,654	140,417	82,048	134,433	163,107
27	130,582	174,941	162,315	148,265	152,269
28	153,19	132,439	115,061	103,883	165,461
29	163,107	140,069	99,817	134,404	99,817
30	152,269	124,581	121,654	138,442	121,654
Espessura Mínima	82,048	82,048	45,12703	92,894	82,048
Espessura Máxima	228,644	270,958	216,427	228,644	216,427
Desvio Padrão	36,26304	45,12703	33,20512	40,07569	33,66595
Média	150,1463	164,1024	134,6793	155,6879	141,6797

TABELA 27 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS (E) SEGUNDO A ESPESSURA DA DA FIBROPLASIA, EM μM, NO DIA 84

MEDIDA	RATO 1	RATO 2	RATO 3	RATO 4	RATO 5
1	229,348	232,782	61,271	129,459	72,728
2	182,92	267,104	56,33	135,389	56,641
3	164,692	324,463	58,44	150,212	135,013
4	171,182	328,846	62,267	228,317	137,568
5	178,587	364,708	75,113	211,483	131,729
6	170,897	245,091	65,224	200,634	81,827
7	153,816	384,944	69,24	131,451	238,518
8	106,57	350,617	77,14	226,307	252,069
9	123,688	355,835	73,156	182,439	282,809
10	82,965	267,097	71,153	177,883	226,309
11	98,952	179,468	73,136	190,794	210,504
12	103,317	309,526	52,386	199,624	216,016
13	248,449	354,305	70,339	183,04	224,339
14	189,343	318,828	78,47	154,32	139,429
15	126,649	300,181	62,267	179,005	161,095
16	127,36	195,111	114,704	185,831	180,033
17	80,746	191,632	119,581	175,918	269,796
18	128,505	189,126	120,763	242,151	287,578
19	205,349	186,777	119,577	153,177	293,534
20	98,115	152,189	106,73	173,043	257,341
21	111,255	150,212	110,334	149,276	248,286
22	171,042	159,106	128,475	122,542	248,331
23	169,574	163,206	83,012	184,801	262,872
24	125,335	197,65	85,355	180,188	257,945
25	146,062	368,646	90,939	198,697	262,879
26	141,856	207,551	119,838	206,563	163,086
27	161,298	281,65	130,481	201,688	262,628
28	165,956	247,091	123,783	88,931	194,706
29	177,413	185,918	107,84	163,421	111,671
30	96,651	249,054	94,675	173,494	137,379
Espessura Mínima	80,746	150,212	56,33	88,931	56,641
Espessura Máxima	248,449	384,944	256,9571	242,151	293,534
Desvio Padrão	42,07971	75,1411	25,11804	33,97417	69,31358
Média	147,9297	256,9571	88,73397	176,0026	200,1553

TABELA 28 - 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	177,927	241,786	89,951	128,186	128,186
2	181,847	190,986	120,581	120,937	181,847
3	141,349	223,482	97,881	147,277	141,349
4	168,992	246,073	97,17	139,342	168,992
5	194,686	248,05	174,303	140,417	194,686
6	192,747	249,068	206,544	133,416	241,786
7	210,532	287,578	221,385	171,979	190,986
8	171,956	248,079	233,478	193,695	223,482
9	181,839	268,846	139,398	230,26	246,073
10	214,484	272,761	176,131	164,716	248,05
11	195,711	230,294	155,166	177,883	89,951
12	176,743	199,634	117,638	186,819	120,581
13	186,777	154,178	177,03	169,13	97,881
14	179,884	103,765	110,899	178,059	97,17
15	232,236	234,215	206,627	205,425	174,303
16	274,732	259,039	95,558	191,652	128,186
17	219,425	248,048	119,445	189,744	120,937
18	181,847	252,032	100,663	224,93	147,277
19	151,201	240,175	115,12	165,895	139,342
20	149,224	249,038	100,456	181,967	140,417
21	236,197	212,474	198,326	207,615	191,652
22	146,663	249,038	200,258	166,52	189,744
23	177,171	205,556	266,489	156,457	224,93
24	207,681	172,025	140,256	199,822	179,349
25	148,236	126,495	175,141	152,025	92,307
26	153,18	98,829	147,236	111,316	156,291
27	160,098	201,601	110,258	100,208	160,098
28	293,708	238,184	179,349	154,343	293,708
29	241,132	249,036	92,307	147,526	241,132
30	226,309	129,595	156,291	178,059	226,309
Espessura Mínima	141,349	98,829	50,40369	100,208	89,951
Espessura Máxima	293,708	287,578	266,489	230,26	293,708
Desvio Padrão	37,52455	50,40369	48,46917	31,87639	52,88651
Média	192,4838	217,6653	150,7112	167,1873	174,2248