



Acta Ortopédica Brasileira

ISSN: 1413-7852

actaortopedicasociedade@uol.com.br

Sociedade Brasileira de Ortopedia e

Traumatologia

Brasil

Siqueira das Neves, Lais Mara; Marcolino, Alexandre Marcio; Prado, Rodrigo Paschoal; Thomazini, José Antônio

LASER 830NM NA VIABILIDADE DO RETALHO CUTÂNEO DE RATOS SUBMETIDOS À NICOTINA

Acta Ortopédica Brasileira, vol. 19, núm. 6, 2011, pp. 342-345

Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia

São Paulo, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=65721411004>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

LASER 830NM NA VIABILIDADE DO RETALHO CUTÂNEO DE RATOS SUBMETIDOS À NICOTINA

LASER 830NM ON THE VIABILITY OF SKIN FLAPS IN RATS SUBMITTED OF NICOTINE

Lais Mara Siqueira das Neves¹, Alexandre Marcolino^{1,3}, Rodrigo Paschoal Prado², José Antônio Thomazini³

RESUMO

Objetivo: Investigar os possíveis efeitos da laserterapia com laser diodo 830nm ao se contrapor a ação da nicotina na viabilidade do retalho cutâneo em ratos. Métodos: Foram utilizados 16 ratos Wistar, distribuídos em 2 grupos de 8: Grupo 1- submetido à técnica cirúrgica, para obtenção dos retalhos cutâneos randômicos de base cranial, com injeção subcutânea de nicotina em uma dose de 2mg/Kg/dia, uma semana antes e uma semana após o procedimento cirúrgico e simulação da radiação laser; Grupo 2- similar ao grupo 1, cujos retalhos cutâneos randômicos de base cranial foram submetidos à irradiação do laser imediatamente após a cirurgia e nos 4 dias subsequentes. Após a eutanásia, as áreas de necrose e de tecido viável foram examinadas através do método de pesagem do Gabarito de Papel e pelo método semi-automático de análise de imagens (Mini-Mop®). Resultados: Os resultados foram analisados estatisticamente através do teste ANOVA. Os valores de porcentagem de área de necrose através do método de análise mostraram uma diminuição da área de necrose no grupo 2 onde foi aplicado laser. Conclusão: O laser 830nm foi eficaz na melhora da viabilidade do retalho cutâneo em ratos submetido à ação da nicotina. Nível de evidência II: Estudos terapêuticos - Investigação dos resultados do tratamento.

Descritores: Terapia a laser de baixa intensidade. Retalho cirúrgico. Nicotina. Necrose. Procedimentos cirúrgicos reconstrutivos.

Citação: Neves LM, Marcolino AM, Prado RP, Thomazini JA. Laser 830nm na viabilidade do retalho cutâneo de ratos submetidos à nicotina. Acta Ortop Bras. [online]. 2011;19(6):342-5. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.

ABSTRACT

Objective: To investigate the possible effects of laser diode 830nm counter to the action of nicotine on the viability of the skin flap in rats. **Methods:** 24 Wistar-albino rats were used, divided into 3 groups of 8: Group 1 - subject to the surgical technique to obtain the random skin flap in cranial base, subcutaneous injection of nicotine of 2mg/Kg/dia a week before and one week after surgery and simulation of laser. Group 2 - similar to group 1, the random skin flap in the cranial base were subjected to laser irradiation immediately after surgery and on the subsequent 4 days. After euthanasia, areas of necrosis and viable tissue were examined by a manual method (weighing the Role of Feedback) and by the semi-automated method of analysis (Mini-Mop®). **Results:** The results were statistically analyzed by ANOVA. The values of the percentage of necrotic area by the method of analysis showed a decreased area of necrosis in group 2 where the laser was applied. **Conclusion:** The 830nm laser was effective in improving the viability of skin flaps in rats subjected to the action of nicotine. **Level of evidence II:** Therapeutic Studies - Investigating the results of treatment.

Keywords: Laser therapy, low-level. Surgical flaps. Nicotine. Necrosis. Reconstructive Surgical Procedures.

INTRODUÇÃO

As lesões traumáticas da mão podem ocasionar extensa perda tecidual do revestimento cutâneo, expondo os tecidos subjacentes, necessitando assim de retalhos cutâneos para proteção desses tecidos.¹ Essas perdas teciduais podem ser corrigidas com procedimentos realizados na área da cirurgia reconstrutiva, na qual, os cirurgiões utilizam como o mais frequente recurso na realização de suas intervenções, os retalhos cutâneos.^{2,3} Contudo, a necrose continua a ser a principal complicação técnica, podendo levar ao insucesso no tratamento.⁴

Na literatura, há pesquisas utilizando recursos terapêuticos não farmacológicos que merecem destaque, tais como a acupuntura e a electroacupuntura⁵ e correntes elétricas de baixa frequência polarizadas⁶ e não polarizadas.⁵ Recentemente têm surgido pesquisas utilizando o laser de baixa intensidade.⁷

Em vários estudos experimentais, diversos autores^{8,9} pesquisaram a causa e o efeito deletério da fumaça do cigarro ou da nicotina isoladamente. Estes estudos, utilizando de diferentes metodologias quanto ao número e espécie de animais, tipo e tempo de exposição (fumaça ou nicotina), dosagem da nicotina ou da fumaça, e tipo de

Todos os autores declaram não haver nenhum potencial conflito de interesses referente a este artigo.

1 - Instituto Municipal de Ensino Superior de Catanduva IMES-FAFICA – Catanduva, São Paulo, Brasil.

2 - Universidade Federal de Goiás - Campus Jataí.

3 - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP – Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

Trabalho realizado no Laboratório de Anatomia e Cirurgia, pelo Departamento de Biomecânica, Medicina e Reabilitação do Aparelho Locomotor – FMRP/USP - Ribeirão Preto.

Correspondência: Av. Bandeirantes, 3900, Monte Alegre – CEP: 14049-900 – Ribeirão Preto, SP, Brasil. Email: ammfisio@usp.br

cirurgia, observaram um efeito deletério sobre os retalhos de pele exercido tanto pela nicotina isoladamente, quanto pela fumaça do cigarro, causando um aumento da área de necrose no retalho.

Atualmente, diversos estudos que utilizam drogas para minimizar os efeitos deletérios da nicotina, diminuindo assim o tamanho da área de necrose do retalho.^{8,9}

Segundo Prado et al.⁷, a laserterapia de baixa intensidade tem sido utilizada para diminuir a área de necrose do retalho cutâneo em ratos, pois causaria um aumento da microcirculação e da neoformação vascular, favorecendo os retalhos isquêmicos.

Devido à escassez de trabalhos utilizando a laserterapia para minimizar os efeitos deletérios da nicotina, realizou-se este trabalho com a terapia a laser de baixa intensidade como tentativa de se bloquear esses efeitos, proporcionando um aumento da viabilidade do retalho cutâneo randômico em ratos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais de Experimentação

Foram utilizados 16 ratos, Wistar, machos, pesando entre 280 a 310 gramas, fornecidos pelo Biotério Central do Campus da Universidade de São Paulo. Os procedimentos experimentais foram realizados no laboratório de morfologia experimental do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-Universidade de São Paulo (FMRP-USP). Os animais foram mantidos sob condições padrão de biotério claro/escurinho de 12hs e controle de temperatura (22-27°C), alojados em caixas individuais de polipropileno, recebendo ração comercial e, água *ad libitum*.

A nicotina usada no experimento [Nicotina Sulfato L-1 Metil-2 (3-Piridil)-Pirrolidina Sulfato; grau II; PM 422-6; SIGMA], diluída com solução salina para a concentração de 1mg/ml⁹ e injetada nos tecidos subcutâneos dos ratos dos grupos 1 e 2, diariamente, uma semana antes e uma semana após o ato cirúrgico, com uma dose de 2mg/Kg.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da FMRP-USP, protocolo nº 048/2006.

Os 16 ratos foram pesados e distribuídos aleatoriamente em dois grupos de oito animais. Todos os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico para obtenção do retalho cutâneo de base cranial, com 10cm de comprimento por 4cm de largura no dorso dos animais.

Grupo 1 - submetido à injeção subcutânea de nicotina, uma vez ao dia, uma semana antes e uma semana após o procedimento cirúrgico, simulação da irradiação laser de diodo.

Grupo 2 - submetido à injeção de nicotina e irradiação do laser de diodo 830nm.

A aplicação do laser de baixa intensidade ocorreu após o procedimento cirúrgico e nos 4 dias subsequentes.

Técnica Operatória

Os animais foram anestesiados, por via intraperitoneal, com uma associação equitativa de ketamina (95mg/Kg) e xilazina (12mg/Kg). Após a anestesia, foi realizada a depilação digital no dorso do animal.

Logo após, foi realizado um retalho de base cranial, com 10cm de comprimento e 4cm de largura no dorso dos animais. O retalho teve como limites uma linha que une os ângulos inferiores das escápulas e as bordas superiores dos ossos da cintura pélvica.¹⁰

Os retalhos foram elevados a partir da fáscia superficial dos músculos esqueléticos e continham a pele e a tela subcutânea. Uma barreira plástica (poliéster/polietileno) com as mesmas dimensões (10x4) foi interposta entre o retalho e o leito doador (Figura 1), impedindo a revascularização do retalho por meio dos vasos do leito.^{11,12}

A seguir, o retalho foi suturado com pontos simples de fio de náilon monofilamentar 4-0 na mesma posição original ("área doadora"), separados com a distância de 1cm entre os pontos.⁵

Equipamento Emissor da Radiação Laser

Foi utilizado laser de diodo AsGaAl (arseneto de gálio e alumínio), comprimento de onda de 830nm, potência de 30mW, área do feixe de 0,07cm² e emissão em modo contínuo da marca Ibramed (Indústria Brasileira de Equipamentos Médicos Ltda[®]).

Os retalhos cutâneos receberam a irradiação do laser diodo em um ponto a 2,5cm sobre a base cranial do retalho, com auxílio de um molde de plástico, para a padronização do local a ser irradiado. (Figura 1) A irradiação foi realizada sempre no mesmo horário, utilizando-se a técnica de aplicação pontual com contato, fluência de 36J/cm², energia de 2,52J, duração de 84 segundos e com o laser posicionado a 90° em relação ao retalho cutâneo.



Figura 1. Local de aplicação do laser (Técnica pontual com contato).

Método de Determinação de Percentagem da Área de Necrose dos Retalhos

Método Manual (Gabarito de Papel)

A porcentagem de área de necrose dos retalhos foi verificada, no sétimo dia pós-cirúrgico, por meio do método do gabarito de papel.¹³ Um molde de todo o retalho foi desenhado, delimitando-se a área necrosada e a área viável em papel transparente vegetal (Figura 2), que em seguida foi recortado e seu peso aferido em balança de precisão (erro de +/- 0,0001g). Foi recortada deste molde também, apenas a área correspondente à necrose do retalho que também foi aferida. Os dados assim obtidos foram aplicados a seguinte fórmula:

$$\text{Porcentagem da área de necrose} = \frac{\text{Peso do gabarito de papel da área de necrose}}{\text{Peso do gabarito de papel da área total do retalho}} \times 100$$

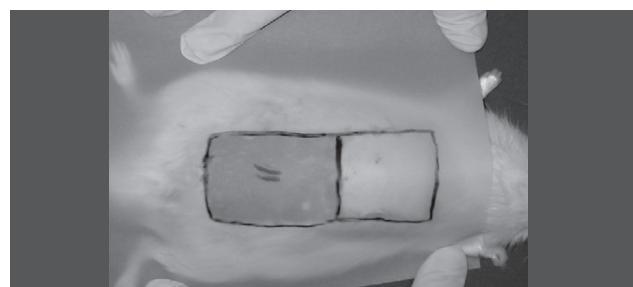


Figura 2. Molde de todo o retalho cutâneo com delimitação entre a área necrosada e a área viável.

Método Semi-automático de Análise de Imagens (Mini-Mop)

A porcentagem de área de necrose dos retalhos também foi verificada, no 7º dia após a operação, por meio de um método semi-automático de análise de imagens da empresa Kontron Biplanalysis®. (Figura 3) O molde de todo o retalho foi desenhado em papel transparente vegetal, onde delimitou a área necrosada da área viável do retalho, e em seguida, foi fixado sobre a mesa digitalizadora do Mini-Mop, e o perímetro da área total e necrosada foi contornado com uma caneta digitalizadora. (Figura 4) Com este procedimento o Mini-Mop automaticamente mensura a área em mm^2 e envia os dados para um microcomputador IBM-PC compatível, onde são armazenados sob forma de arquivos para serem utilizados no programa Excel para análise estatística descritiva.



Figura 3. Moldes de todo o retalho cutâneo demarcado, fixados sobre a mesa digitalizadora do Mini-Mop. (A-mesa digitalizadora; B-moldes demarcados; C-caneta digitalizadora; D-computador IBM PC compatível).

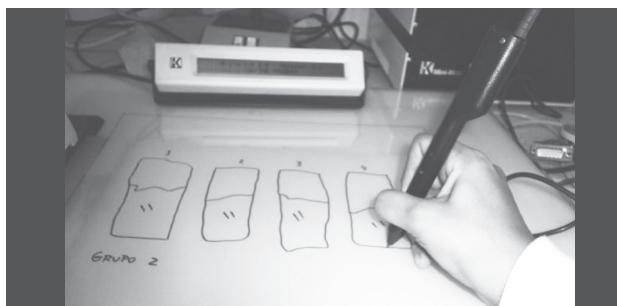


Figura 4. Perímetro da área total e necrosada contornado com a caneta digitalizadora.

Eutanásia dos Animais

Após a delimitação do retalho cutâneo, os animais, ainda anestesiados, foram sacrificados com uma dose excessiva de anestésico.

Análise Estatística

Após as coletas dos dados foi realizada uma análise de variância (ANOVA) e pós-teste de comparação múltipla - Método de Contraste Ortogonais para comparar os grupos em cada variável (Método Manual, Método Semi-automático). Com o intuito de verificar a existência ou não de diferenças, estatisticamente significantes, entre os dois métodos, foi aplicado o Coeficiente de Correlação Intraclass. ¹⁴ Para todos os testes estatísticos realizados foi considerado um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Os dados obtidos por análise estatística descritiva ao se comparar os dois métodos utilizados na aferição das áreas onde se estabeleceu necrose estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Estatística descritiva das percentagens das áreas necróticas.

GRUPO	Método	N	Média	DP
Nicotina	Semi-automático	8	49,54	3,46
	Manual	8	51,07	2,27
Nicotina	Semi-automático	8	39,23	14,46
+ Laser	Manual	8	42,74	13,21

Para verificar a existência ou não de diferenças, estatisticamente significantes, entre os dois métodos pesagem do Gabarito de Papel e semi-automático (Mini-Mop), foi aplicado o coeficiente de correlação intraclass (ICC)¹⁸ considerando-se os dois grupos. O coeficiente de correlação intraclass obtido com um intervalo de confiança de 95% indicou substancial nível de concordância entre os métodos. (Tabela 2)

Tabela 2 - Categorizações para o ICC²⁴.

Coeficiente	Força da concordância
menor que zero	<i>poor</i> (pobre)
0,00 – 0,20	<i>slight</i> (desprezível)
0,21 – 0,40	<i>fair</i> (suave)
0,41 – 0,60	<i>moderate</i> (moderada)
0,61 – 0,80	<i>substantial</i> (substancial, grande)
0,81 – 1,00	<i>almost perfect</i> (quase perfeita)

Os dados obtidos das áreas de necrose entre os grupos experimentais em ambos os métodos foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e pós-teste de comparação múltipla (Método de Contaste Ortogonais) e os resultados desta análise com nível de significância de 5% estão apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3 - Comparações entre os grupos para a variável pesagem do Gabarito de Papel. Grupo 1-Nicotina; Grupo 2-Nicotina + laser.

Comparação	p-valor
Grupo 1 X Grupo 2	0,03

Tabela 4 - Comparações entre os grupos para a variável mensuração do Gabarito de Papel (Mini-Mop). Grupo 1-Nicotina; Grupo 2-Nicotina + laser.

Comparação	p-valor
Grupo 1 X Grupo 2	0,02

Os grupos experimentais um e dois apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre si, em ambos os métodos ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

As perdas teciduais após lesão traumática da mão podem ser corrigidas com procedimentos realizados na área da cirurgia reconstrutiva, por exemplo, o estudo de Gokrem et al.², utilizaram a técnica cross-finger para correção da perda de tecido cutâneo na polpa digital dos dedos da mão.

Estudos experimentais¹⁵ mostram que existe um efeito deletério da nicotina sobre os retalhos de pele, causando aumento da área de necrose.

Diversas hipóteses são descritas sobre a ação deletéria da nicotina. De acordo com Prigol et al.¹⁶, ela provoca a diminuição da prostaciclina (PG-2), que é o maior inibidor da aglomeração das plaquetas, as quais têm a dispersão diminuída, facilitando a

formação de trombos. Simultaneamente, diminui prostaglandinas e eleva tromboxano A2, promovendo a maior aderência das plaquetas e inibindo sua dispersão.

Apoando-se na capacidade da radiação *laser* promover angiogênese e aumento do fluxo sanguíneo local, alguns pesquisadores começaram a investigar a ação desse agente terapêutico na viabilidade de retalhos cutâneos.^{12,17}

No presente estudo, a aplicação da radiação *laser* ocorreu em um ponto localizado a 2,5cm da base do retalho, baseando-se no modelo experimental para *laser* de baixa intensidade em retalho cutâneo randômico isquêmico em ratos, proposto por Prado et al.⁷ Os grupos experimentais deste estudo foram irradiados durante cinco dias consecutivos, ou seja, imediatamente após a operação e nos 4 dias seguintes. Pinfieldi et al.¹², também utilizaram-se desta metodologia ao irradiarem seus grupos experimentais durante cinco dias consecutivos.

Neste estudo, a técnica de aplicação empregada foi a pontual com contato, semelhante ao realizado por Pinfieldi et al.¹² e Amir et al.¹⁷ Há estudos que utilizaram *lasers* com diferentes comprimentos de onda e encontraram resultados significativos no aumento da viabilidade dos retalhos cutâneos.^{12,17-19} Apenas alguns trabalhos que avaliaram a ação do laser 830nm na viabilidade dos retalhos cutâneos randômicos em ratos foram identificados utilizando-se de diferentes variáveis na análise.^{11,19}

Neste estudo, a fluência utilizada foi de 36J/cm², baseada na pesquisa realizada por Prado et al.¹¹, que também utilizaram essa dose, suficiente para se obter diminuição da área de necrose dos retalhos. No presente estudo, com comprimento de onda de 830nm, foi aplicada energia total de 2,52J nos retalhos dos grupos estudados, a mesma energia aplicada no estudo de Prado et al.¹¹, encontrando resultados com importante redução de área de necrose, mesmo em animais submetidos a ação da nicotina.

Neste estudo a avaliação foi realizada no sétimo dia pós-operatório devido aos sinais de necrose do retalho, manifestarem-se entre três a quatro dias, chegando ao seu limiar final de necrose entre sete a 10 dias.¹⁰

A porcentagem da área de necrose dos retalhos cutâneos foi avaliada por meio do método de pesagem do gabarito de papel, proposto inicialmente por Sasaki e Pang.¹³ Além da fácil aplicabilidade, baixo

custo e rapidez no modo de avaliação, este método apresenta pequena margem de erro (<5%),¹³ sendo amplamente utilizado na literatura.^{7,11,12}

Neste estudo também foi utilizado um método semi-automático computadorizado para análise de imagens (Mini-Mop[®]) para a avaliação da porcentagem da área de necrose dos retalhos cutâneos, através da mensuração dos gabaritos de papel. É um método de fácil aplicabilidade, rapidez no modo de avaliação e de grande precisão de medidas, porém é de custo relativamente alto e há apenas um relato até o momento, sobre sua utilização em retalhos cutâneos isquêmicos.²⁰

Após os dados serem submetidos aos testes estatísticos, demonstrou-se que os grupos experimentais um (nicotina) e dois (nicotina+*laser*) apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre si, quanto à porcentagem de necrose, nos métodos de pesagem do Gabarito de Papel e semi-automático (Mini-Mop[®]) ($p<0,05$). O que mostra a grande importância do *laser*, promovendo diminuição da área de necrose.

Com o intuito de verificar a existência ou não de diferenças, estatisticamente significantes, entre os valores obtidos por um método manual (pesagem dos Gabaritos de Papel) e por um semi-automático (Mini-Mop[®]), foi aplicado o coeficiente de correlação intraclass (ICC)¹⁴ considerando-se os dois grupos, sendo obtido o valor de 0,64. O que mostra uma correlação substancial/grande entre os dois métodos de análise, segundo as categorizações para o ICC.¹⁴ Pesquisas com *laser* de baixa intensidade já produziram um grande número de estudos; entretanto não há ainda completa padronização dos parâmetros empregados e o relato de dados conflitantes dificulta a comparação dos resultados obtidos. Assim, estudos como este e outros novos, são necessários para se verificar a importância e a dependência entre cada um dos parâmetros utilizados neste tipo de laserterapia, melhorando sua especificidade e produzindo protocolos com tratamentos cada vez mais seguros e eficazes.

CONCLUSÃO

Nos animais submetidos à injeção controlada de nicotina, a irradiação de *laser* de baixa intensidade efetivamente diminuiu as áreas de necrose nos retalhos cutâneos, quando comparadas às áreas de necrose nos animais não irradiados.

REFERÊNCIAS

1. Carvalho AF, Zumiotti AV. Estudo experimental de retalho fasciocutâneo pré-fabricado em ratos. *Rev Bras Ortop*. 2004;39:175-88.
2. Gokrem S, Tuncali D, Terzioglu A, Toksoy K, Aslan G. The thin cross fingerskin flap. *J Hand Surg Eur Vol*. 2007;32:417-20.
3. Carty MJ, Taghinia A, Upton J. Fascial flap reconstruction of the hand: a single surgeon's 30-year experience. *Plast Reconstr Surg*. 2010; 25:953-62.
4. Freitas AD, Pardini Júnior AG. Retalhos antebraquiais pediculados para cobertura dos defeitos cutâneos da mão. *Rev Bras Ortop*. 1993;28:204-8.
5. Niina Y, Ikeda K, Iwa M, Sakita M. Effects of electroacupuncture and transcutaneous electrical nerve stimulation on survival of musculocutaneous flap in rats. *Am J Chin Med*. 1997;25:273-80.
6. Im MJ, Lee WP, Hoopes JE. Effect of electrical stimulation on survival of skin flaps in pigs. *Phys Ther*. 1990;70:37-40.
7. Prado RP, Pinfieldi CE, Liebano RE, Rochman BS, Ferreira LM. Effect of application site of low-level laser therapy in random cutaneous flap viability in rats. *Photomed Laser Surg*. 2009;27:411-6.
8. Gomes HC. Efeito da nicotina na perfusão de retalhos cutâneos randômicos em ratos [dissertação]. São Paulo: Universidade Federal da São Paulo - Escola Paulista de Medicina; 1993.
9. Gomes HC, Campos JHO, Ferreira LM, Kobayashi LA. Experimental model to study the effect of nicotine in a random skin flap, in the rat. *Acta Cir Bras*. 2004; 19:65-8.
10. McFarlane RM, Deyoung G, Henry RA. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plast Reconstr Surg*. 1965;35:177-82.
11. Prado RP, Liebano RE, Hochman B, Pinfieldi CE, Ferreira LM. Experimental model for low level laser therapy on ischemic random skin flap in rats. *Acta Cir Bras*. 2006;21:258-62.
12. Pinfieldi CE, Liebano RE, Hochman BS, Ferreira LM. Helium-neon laser in viability of random skin flap in rats. *Lasers Surg Med*. 2005;37:74-7.
13. Sasaki GH, Pang CY. Hemodynamics and viability of acute neurovascular island skin flaps in rats. *Plast Reconstr Surg*. 1980;65:152-8.
14. Soares JF, Siqueira AL. Introdução à estatística médica. 2^a ed. Belo Horizonte: Segrac; 2001.
15. van Adrichem LN, Hoogen R, Hovius SE, Kort WJ, van Strik R, Vuzevski VD et al. The effect of cigarette smoking on the survival of free vascularized and pedicled epigastric flaps in the rat. *Plast Reconstr Surg*. 1996;97:86-96.
16. Prigol M, Marmentini F, Grazziotin NA, Macedo MSD. Efeito do tabagismo sobre o perfil lipídico e suas implicações em detentos internos do Presídio Estadual de Erechim-RS. *Rev Bras Anal Clín*. 2007;39:3-8.
17. Amir A, Solomon AS, Giler S, Cordoba M, Hauben DJ. The influence of helium-neon laser irradiation on the viability of skin flaps in the rat. *Br J Plast Surg*. 2000;53:58-62.
18. Costa MS, Pinfieldi CE, Gomes HC, Liebano RE, Arias VE, Silveira TS et al. Effect of low-level laser therapy with output power of 30 mW and 60 mW in the viability of a random skin flap. *Photomed Laser Surg*. 2010;28:57-61.
19. Kubota J. Effects of diode laser therapy on blood flow in axial pattern flaps in the rat model. *Lasers Med Sci*. 2002;17:146-53.
20. Prado RP, Piccinato CE. Efeito do laser de baixa intensidade na viabilidade do retalho cutâneo em ratos [tese]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2009.