

Dose-dependência do laser de baixa intensidade (670 nm) na viabilidade de retalhos cutâneos randômicos em ratos

Dose-dependency of LLLT on the viability of random skin flaps in rats

Cristiano Baldan^{1,2}, Amélia Marques Pasqual³, Alessandra Maria Schiavinato¹, Raquel Aparecida Casarotto³

¹Curso de Fisioterapia da Universidade Paulista, São Paulo-SP, Brasil; ²Faculdade de Fisioterapia da Universidade Metodista de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil; ³Faculdade de Fonoaudiologia, Fisioterapia e Terapia Ocupacional da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil.

Resumo

Objetivo – Este estudo avaliou os efeitos da terapia a laser de baixa intensidade sobre os retalhos cutâneos randômicos em ratos. **Métodos** – Vinte ratos Wistar foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos. O grupo controle (G1) não foi irradiado. O grupo experimental (G2) foi irradiado com laser de diodo (670 nm), 0,06 J/ponto, potência média de 30 mW, feixe circular com área de 0,028 cm², fluência de 2,14 J/cm², irradiância de 1,07 W/cm², durante 2 s/ponto. Os animais do G2 foram irradiados em 12 pontos equidistantes a 1 cm. Todos os pontos localizaram-se na região proximal do retalho. A energia total depositada sobre o retalho foi de 0,72 J. Os animais foram irradiados no pós-operatório imediato, primeiro e segundo dias pós-operatórios. A área de necrose foi avaliada no 7º dia pós-operatório. **Resultados** – Os animais do G1 apresentaram 49,35% de área necrótica, enquanto os animais do G2 apresentaram 39,14%. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as áreas necróticas dos grupos ($p = 0,0558$). **Conclusão** – Terapia a laser de baixa intensidade (670 nm), na dose de 0,06 J/ponto não influenciou a viabilidade de retalhos cutâneos randômicos em ratos.

Descritores: Retalhos cirúrgicos; Terapia a laser de baixa intensidade; Lasers semicondutores

Abstrat

Objective – This study assessed the effects of low-level laser therapy (LLL) on random skin flap rats. **Methods** – Twenty Wistar rats were randomly divided in two groups. The control group (G1) was not irradiated. The experimental group was irradiated with a diode laser 670 nm with 0.06 J/point, power output 30 mW, inner beam area 0.028 cm², fluency 2,14 J/cm², irradiance 1.07 W/cm², 2 sec/point. The group was irradiated in 12 equally distributed points in the cranial skin flap portion. The total energy irradiated on tissue was 0.72 J. They were submitted to the irradiation during the immediate, first and second postoperative days. The necrosis area was evaluated in the seventh postoperative day. **Results** – The G1 shows 49,35% of necrosis area in the skin flap; G2 shows 39,14% of necrosis area in the skin flap. There was a significantly difference when G1 was compared with G1's skin flap necrosis area ($p = 0.0002$). **Conclusion** – LLLT diode 670 nm with 0.06 J energy per point didn't promote change on survival in random skin flap rats.

Descriptors: Surgical flaps; Laser therapy, low-level; Laser, semiconductor

Introdução

O emprego de retalhos cutâneos é muito comum em cirurgias plásticas estéticas e reparadoras¹. Sua utilização é indicada para a cobertura de áreas cruentas e com vascularização deficiente, reconstrução de determinadas regiões da face, como lábios, pálpebras e nariz, para a cobertura de proeminências ósseas, úlceras de pressão, para a proteção de troncos nervosos e grandes vasos sanguíneos.

O retalho cutâneo está sujeito a sofrer complicações que geralmente decorrem de mau planejamento pré-operatório e falta de cuidados no trans e pós-operatório. Infecção, hemostasia inadequada, torção do pedículo, utilização de um retalho menor que a área receptora e insuficiência arterial ou venosa são fatores que podem levar à necrose parcial ou total do retalho cutâneo. A vitalidade dos tecidos se mantém somente quando o fluxo sanguíneo passa através da rede capilar. A extensão da pele viável é diretamente proporcional, provavelmente, ao diâmetro e número de artérias musculocutâneas existentes no pedículo².

A terapia a laser de baixa intensidade (TLBI) tem sido pesquisada por ser uma alternativa não-invasiva e estéril para a melhora da microcirculação e, conseqüentemente, aumento da viabilidade do retalho cutâneo³⁻¹⁵. Ela é denominada uma modalidade de tratamento atômico, pois são utilizadas potências e dosagens relativamente baixas para promover qualquer alteração térmica tecidual.

Diversos estudos têm demonstrado a eficácia da TLBI na aceleração do processo de cicatrização, na promoção de analgesia e no aumento da microcirculação^{8,16-19}.

Tendo visto que os retalhos cutâneos podem evoluir para necrose devido a fatores intrínsecos e extrínsecos que comprometem a mi-

crocirculação local¹⁸; considerando que alguns autores demonstram que TLBI é uma técnica que melhora a capilaridade^{7,13} e a perfusão local⁸ e que a dosimetria utilizada até então é muito variada, julgou-se necessário um estudo da eficácia desta forma de irradiação na viabilidade de retalhos cutâneos, com a liberação de energia inferior à comprovadamente eficaz para protocolos de irradiação em pontos semelhantes.

Portanto o objetivo deste estudo foi investigar o efeito da TLBI (670 nm) na viabilidade de retalho cutâneo randômico em ratos, quando irradiado com energia de 0,06 J em cada ponto.

Métodos

Delineamento do estudo

Este trabalho foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Paulista (UNIP) e aprovado sob o número de protocolo CEP 011/09.

Após a aprovação, desenvolveu-se estudo experimental, intervencional, randomizado e cego. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa Experimental do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Paulista (UNIP), Campus Indianópolis – São Paulo, atendendo às Normas Éticas para Experimentação Animal do Conselho para Organizações Internacionais de Ciências Médicas (CIOMS), as normas da Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL-COBEA) e a legislação nacional atual sobre Procedimentos para o Uso Científico de Animais (Lei Federal 11.794, de 9 de outubro de 2008).

Amostra

Foram utilizados neste estudo vinte ratos machos adultos da linhagem Wistar EPM-1 (*Rattus norvegicus*: var. *Albinus*, *Rodentia*, *Mammalia*), pesando entre 279,4 g e 361,2 g (média 326,3 g).

Equipamentos

Foi utilizado o emissor de laser de baixa potência Physiolum Dual (BIOSET Indústria de Tecnologia Eletrônica Ltda®, Rio Claro, São Paulo, Brasil), que apresenta a emissão de laser de diodo vermelho $\lambda = 670$ nm, potência de saída de 30 mW, feixe circular com a área de 0,028 cm², papel vegetal, filme plástico F1, caneta porosa, material cirúrgico (agulha, fio de náilon 4-0, pinça e tesoura cirúrgica) e um molde confeccionado para padronizar a irradiação laser de baixa potência, anestésico Cloridrato de Tiletamina e Cloridrato de Zolazepan, Butofanol, éter etílico, balança de precisão MARTE AL-500 (Marte Instrumentos de Precisão Ltda – São Paulo).

A potência desse equipamento foi aferida antes e após todas as irradiações com o auxílio do potenciômetro LaserCheck® (Coherent USA).

Grupos de estudo

Os 20 ratos foram mantidos em gaiolas individuais, recebendo ração e água *ad libitum*, em um ambiente controlado cujo ciclo claro-escuro é de 12 horas e a temperatura de 21°C.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos da seguinte maneira:

Grupo 1 – controle (G1) – controle com retalho cutâneo randômico e simulação da emissão da irradiação laser (n = 10);

Grupo 2 (G2) – grupo com retalho cutâneo randômico submetido à irradiação laser $\lambda = 670$ nm, a 2,14 J/cm² de exposição radiante, com irradiância de 1,07 W/cm², durante 2 segundos, fornecendo 0,06 J de energia por ponto (n = 10).

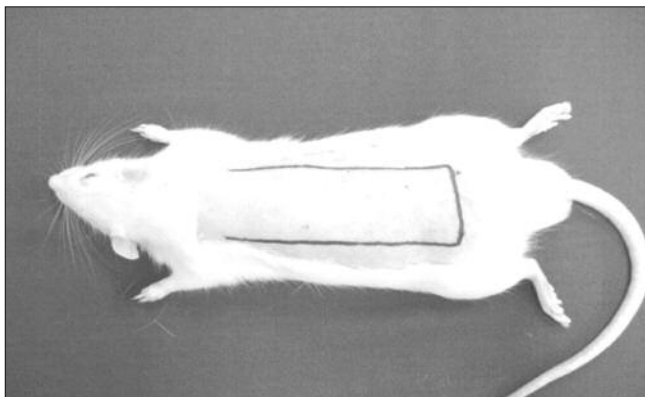


Figura 1. Dorso do animal após a epilação e demarcação da área de elevação do retalho cutâneo

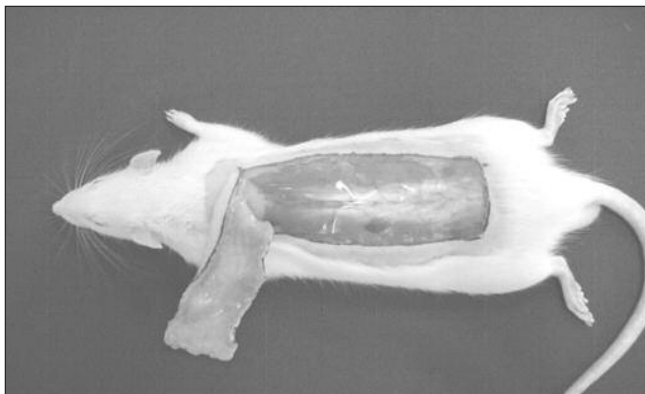


Figura 2. Elevação do retalho e posicionamento da barreira plástica F1

Técnica operatória

Os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de Cloridrato de Tiletamina e Cloridrato de Zolazepan (25 mg/kg) e para controle analgésico, foi utilizado Butofanol (1,0 mg/kg). Subsequentemente, os animais foram posicionados em uma superfície plana com extensão dos membros e submetidos à epilação de seu dorso e demarcação da área do retalho cutâneo randômico de base cranial, respeitando-se como limites anatômicos os ângulos inferiores das escápulas e os ossos superiores da cintura pélvica dos animais (Figura 1).

Então, foi realizado o retalho cutâneo randômico de base cranial, com 10 cm de comprimento e 4 cm de largura, elevados do dorso dos animais de ambos os grupos, seguindo modelo experimental de McFarlane *et al.*¹⁹ (1965) (Figura 2).

O retalho constituído pela fáscia superficial, panículo carnoso, tecido subcutâneo e pele, depois de elevado, foi reposicionado em sua localização original, após a interposição de uma barreira plástica (filme F1) entre a fáscia superficial e a camada muscular superficial, com as mesmas dimensões do retalho, para evitar revascularização do leito. Foi realizada a sutura com pontos simples com fio de náilon monofilamentar 4-0 de um em um centímetro²⁰⁻²² (Figura 3).

Foi confeccionado um molde de cartolina preta, com as mesmas dimensões da área do retalho, que apresentava fenestrações (pontos de emissão de laser) para que se pudesse encaixar a ponteira da *probe* e emitir os feixes de laser para a pele do animal (na porção cranial do retalho) sem nenhuma interferência no transporte do feixe, de forma que, quando a região cranial deste molde estava em contato com o ângulo inferior da escápula do mesmo, suas laterais estavam posicionadas exatamente sobre as margens laterais do retalho. Desta forma a irradiação laser se deu sempre nas mesmas regiões dos retalhos dos animais estudados. Estes pontos de irradiação foram dispostos a 1 cm da margem do retalho e a 1 cm entre si (considerando-se o centro das fenestrações). Desta maneira, foram confeccionados 12 pontos na metade cranial do molde do retalho, sendo estes os pontos que receberam a irradiação laser (Figura 4).

Após este procedimento, os animais do G1 foram anestesiados

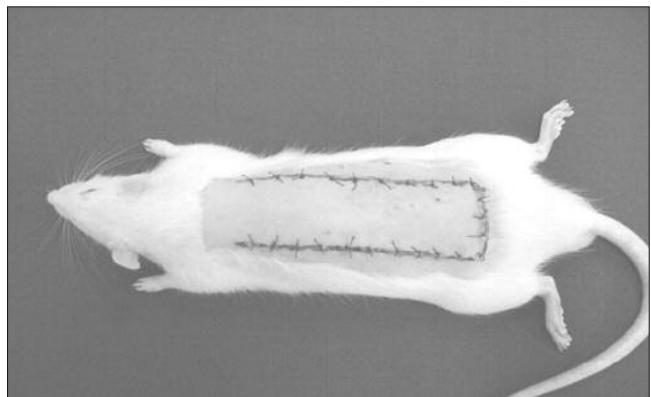


Figura 3. Animal após a sutura do retalho com fio de náilon monofilamentar 4-0

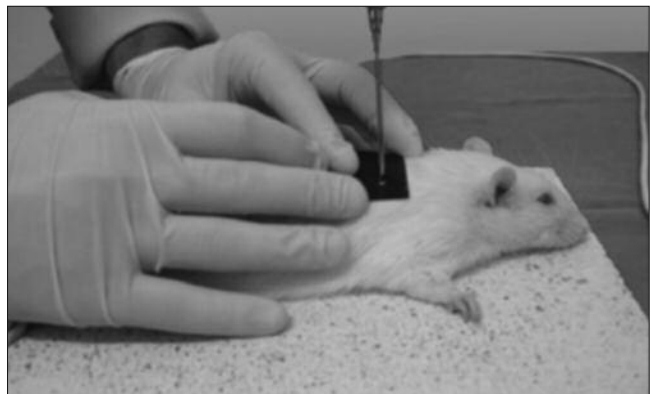


Figura 4. Posicionamento do animal, da *probe* e do molde para a aplicação da irradiação laser

por 20 minutos para que fosse posicionada a *probe* do equipamento de emissão de irradiação laser, por 2 s em cada ponto, mas sem ocorrer a verdadeira emissão. Os animais do G2 também foram submetidos à anestesia por 20 minutos, depois receberam a irradiação laser com $\lambda = 670 \text{ nm}$, $2,14 \text{ J/cm}^2$ de densidade de energia, $0,06 \text{ J}$ de energia por ponto (nos 12 pontos distribuídos na porção cranial do retalho cutâneo, por 2 s em cada ponto, o que promoveu a oferta de $0,72 \text{ J}$ de energia para o animal, em cada dia de irradiação. Sempre a técnica de irradiação (real ou *sham*) contava com o posicionamento da caneta de forma a garantir que os feixes de luz incidissem a 90° com a pele.

Todos os animais submetidos à irradiação laser foram tratados no pós-operatório imediato, no primeiro dia pós-operatório e no segundo dia pós-operatório. Em todas as irradiações, a técnica de contato foi utilizada.

Os animais foram submetidos à eutanásia no sétimo dia pós-operatório, por saturação anestésica.

Método de determinação da porcentagem da área de necrose

A porcentagem da área de necrose dos retalhos foi verificada no sétimo dia após a técnica operatória por meio de gabarito de papel proposta por Sasaki e Pang²³ (1980), sendo que foi considerado como limite de tecido viável aquele caracterizado por pele macia, rósea, quente e com pelos enquanto o tecido necrótico por pele rígida, escurecida, fria e sem pelos. Essas áreas foram demarcadas nos animais e também no papel que foi pesado em balança de precisão (erros de $\pm 0,001 \text{ g}$), oferecendo a possibilidade de se verificar qual a porcentagem de tecido necrótico obtida em ambos os grupos, utilizando a seguinte fórmula:

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

Os papéis transparentes (papel vegetal) utilizados para a demarcação foram todos produzidos pela mesma empresa e todos os demarcados foram pesados pela mesma balança de precisão.

Avaliação estatística dos resultados

Inicialmente os dados foram submetidos ao Teste de Kolmogorov-Smirnov, para determinar-se o comportamento dos dados.

Para se avaliar as possíveis diferenças quanto à porcentagem de necrose e a homogeneidade dos grupos, utilizou-se Teste t não pareado.

O nível de rejeição para a hipótese nula foi fixado em um valor menor ou igual a 0,05 (5%).

Todos os testes foram realizados através do Software GraphPad InStat 3.

Resultados

A distribuição da porcentagem da área necrótica dos retalhos cutâneos randômicos em ratos pode ser visualizada na Tabela 1.

Tabela 1. Porcentagem da área de necrose em ambos os grupos

Animal	G1	G2
1	45,01	32,82
2	50,8	21,17
3	46,93	32,29
4	58,54	62,95
5	55,8	37,5
6	55,29	58,26
7	39,43	54,32
8	45,6	27,95
9	45,07	24,22
10	51,06	39,92
Média	49,35	39,14
Mediana	48,86	35,16
Desvio-padrão	5,98	14,62

Os dados apresentaram $p > 0,10$ ao serem submetidos ao Teste de Kolmogorov e Smirnov, demonstrando comportamento gaussiano.

Então, os mesmos foram submetidos ao Teste t não-pareado e não apresentaram diferença estatisticamente significativa para os valores percentuais da área de necrose entre os animais dos Grupos 1 e 2 ($p = 0,058$), cujas médias de percentual de área necrótica foi de 49,35% e 39,14%, respectivamente.

No Gráfico 1 pode-se observar o comportamento da média das áreas necróticas nos Grupos 1 e 2.

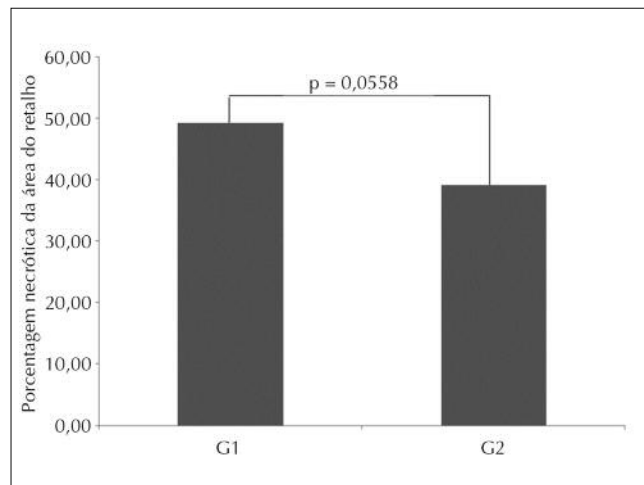


Gráfico 1. Porcentagem média das áreas necróticas para os animais dos Grupos 1 e 2

Discussão

O presente estudo investigou os efeitos da terapia a laser de baixa intensidade na viabilidade de retalhos cutâneos, quando oferecidos $0,06 \text{ J}$ de energia em cada ponto irradiado e os resultados revelaram que a TLBI não influenciou a viabilidade da área necrótica em retalhos.

Estudos recentes têm demonstrado que a TLBI promove aumento da viabilidade dos retalhos cutâneos randômicos em ratos^{3-4,6-7,10-13,15,14}.

Muitas têm sido as explicações dadas para os resultados encontrados. Alguns autores^{9,13} sugeriram que a diminuição da área necrótica dos retalhos cutâneos ocorre em decorrência da melhora do fluxo sanguíneo e da promoção da neoangiogênese. Estes efeitos têm sido atribuídos à TLBI por alguns autores^{7-8,13,15}. Amir *et al.*⁷ (2000) encontraram importante proliferação capilar nos animais submetidos à TLBI.

Prado *et al.*²⁵ (2010) encontraram em seu estudo a diminuição da concentração do malondialdeído em retalhos cutâneos, o que pode ser uma explicação para a melhora do fluxo sanguíneo local.

Há estudos que sugerem possíveis envolvimento de alterações do sistema nervoso autônomo relacionado à TLBI na melhora da perfusão sanguínea em regiões irradiadas⁸.

Alguns autores sugerem que a TLBI modula o recrutamento e a ação dos fibroblastos, aumenta a concentração de colágeno em processos cicatriciais²⁶⁻²⁷, controla a ação de alguns agentes inflamatórios²⁸, diminui o número de células inflamatórias²⁹ e diminui os efeitos de agentes oxidativos³⁰. Todos estes fatores poderiam estar associados ao aumento da viabilidade dos retalhos cutâneos, uma vez que podem ser responsabilizados pela falha dos mesmos¹⁸.

No entanto, alguns estudos demonstraram que a TLBI não foi eficaz para a melhora da viabilidade de retalhos cutâneos randômicos em ratos^{5,14}, como mostram os resultados deste estudo.

Quando são comparadas as doses utilizadas por aqueles autores que apresentaram efeitos de aumento da viabilidade dos retalhos cutâneos com as doses utilizadas por Smith *et al.*⁵ (1992), nota-se que há grande variação nos comprimentos de onda utilizados, potências médias, forma de emissão do laser (contínua ou pulsada), tempo e técnica de aplicação, áreas de feixe luminoso, fluência, exposição diante e irradiância. No entanto, parece possível estabelecer uma cor-

relação qualitativa com a energia depositada em cada ponto irradiado. Estudos que apresentaram energia aplicada em cada ponto superior a 0,18 J apresentaram resultados positivos acerca do aumento da viabilidade dos retalhos cutâneos. No entanto, este estudo valeu-se de parâmetros já estabelecidos por outros pesquisadores no que concerne o comprimento de onda, a potência média, a forma de emissão da onda, a técnica de aplicação, mas irradiou com dose de 0,06 J por ponto, em 12 pontos equidistantes 1 cm entre si, perfazendo-se uma energia depositada sobre o animal de 0,72 J. Talvez, esta magnitude energética não tenha atingido índices de energia favoráveis ao tecido biológico, de acordo com o apresentado pela Lei de Arndt-Schulz.

Considerando-se os resultados apresentados por Cury *et al.*¹⁴ (2009), é possível sugerir que a ausência de influência da irradiação laser sobre a viabilidade dos retalhos cutâneos no protocolo utilizado por eles ocorreu devido à correlação da distância entre os pontos irradiados e a magnitude energética depositada em cada ponto. Além disso, nota-se que os autores em questão se valeram de um número de pontos de sutura muito superior ao utilizado na técnica operatória realizada em outros estudos, o que poderia ter gerado mais tensão sobre o retalho e possíveis complicações à microcirculação local. Talvez este motivo esclareça a diferença de aproximadamente 20% entre os valores proporcionais referentes à média da porcentagem de necrose encontrados nos grupos controle desta e das demais investigações^{12,15,24}.

A energia aplicada por ponto necessária para aumentar a viabilidade dos retalhos cutâneos em ratos parece estar entre 0,18 J¹³ e 2,16 J¹². Diversos autores^{3-4,6-14,24-25} que utilizaram valores dentro desta “janela terapêutica” obtiveram resultados significativos para o aumento da viabilidade tecidual. Doses abaixo de 0,18 J, conforme utilizado por Smith *et al.*⁵ (1992) e em nosso protocolo de pesquisa, não apresentaram alterações significativas teciduais.

Nos últimos anos, há grande esforço da Associação Mundial de Laserterapia (WALT) em padronizarem-se os estudos sobre laser, no sentido de que todos os parâmetros da irradiação sejam apresentados pelos autores, a fim de se facilitar a comparação dos dados.

Sendo assim, mais estudos relacionados a este tema devem ser realizados para se entender os possíveis mecanismos que explicam os efeitos observados por diferentes doses da irradiação laser sobre os retalhos cutâneos, além de uma padronização por parte dos pesquisadores no sentido de se informar todos os parâmetros da irradiação e do equipamento utilizado, já que grande parte dos estudos encontrados na literatura não apresenta todos os dados sobre o tipo de laser, comprimento de onda, exposição radiante, irradiância, frequência de emissão, área e formato do feixe, dificultando a comparação dos resultados obtidos.

Conclusão

Concluiu-se neste estudo que a laserterapia de baixa intensidade ($\lambda = 670$ nm) não influenciou a viabilidade do retalho cutâneo randômico em ratos, quando se irradiou com energia de 0,06 J (2,14 J/cm²) em 12 pontos distribuídos de forma equidistante na metade cranial do retalho.

Referências

1. Esteves Júnior I, Tacani PM, Liggieri VC, Ruggi BG, Ferreira LM, Liebano RE. Histamine iontophoresis on the viability of random skin flap in rats. *Acta Cir Bras.* 2009;24(1):48-51.
2. Prado RP, Liebano RE, Hochman B, Pinfildi CE, Ferreira LM. Experimental model for low level laser therapy on ischemic random skin flap in rats. *Acta Cir Bras.* 2006; 21(4):258-62.
3. Kami R, Yoshimura Y, Nakajima T, Oshiro T, Fujino T. Effects of low powered diode lasers in flap survival. *Ann Plastic Surg.* 1985;14:278-83.
4. Kubota J, Oshiro T. The effects of diode lasers low reactive-level laser therapy (LLLT) on flap survival in a rat model. *Laser Ther.* 1989;1(3):127-35.
5. Smith RJ, Birndorf M, Gluck G, Hammond D, Moore WD. The effect of low-energy laser on skin-flap survival in the rat and porcine animal models. *Plast Reconstr Surg.* 1992;89(2):306-10.
6. Kubota J, Oshiro T. Effects of diode laser therapy LLLT on flap survival: measurement of flap microcirculation with laser speckle flowmetry. *Laser Ther.* 1996;8(4):241-6.

7. 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(1):58-62.
8. Kubota J. Effects of diode laser therapy on blood flow in axial pattern flaps in the rat model. *Lasers Med Sci.* 2002;17(3):146-53.
9. Reddy GK. Comparison of the photostimulatory effects of visible He-Ne and infrared Ga-As lasers on healing impaired diabetic rat wounds. *Lasers Surg Med.* 2003;33(5):344-51.
10. Assis LR, Marcolino A, Pinfildi CE, Prado RP. Comparison of the 904 nm and 670 nm diode laser in the viability of random skin flap in rats. *Photomed Laser Surg.* 2005;23(1):118.
11. Pinfildi CE, Liebano RE, Hochman BS, Ferreira LM. Helium-neon laser in viability of random skin flap in rats. *Lasers Surg Med.* 2005;37(1):74-7.
12. Prado RP, Pinfildi CE, Liebano RE, Hochman B, Ferreira LM. Diode laser in viability of random skin flap in rats. *Photomed Laser Surg.* 2005;23(1):115.
13. Bossini PS, Fangel R, Habenschus RM, Renno AC, Benze B, Zuanon JA et al. Low-level laser therapy (670 nm) on viability of random skin flap in rats. *Lasers Med Sci.* 2009;24(2):209-13.
14. Cury V, Bossini PS, Fangel R, Crusca JS, Rennó ACM, Parizotto NA. The effects of the 660nm and 780 nm laser irradiation on viability of random skin flap in rats. *Photomed Laser Surg.* 2009;27:721-4.
15. Prado RP, Pinfildi CE, Liebano RE, Hochman BS, Ferreira LM. Effect of application site of low-level laser therapy in random cutaneous flap viability in rats. *Photomed Laser Surg.* 2009;27(3):411-6.
16. Bjordal JM, Couppe C, Chow RT, Tuner J, Ljunggren EA. A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from chronic joint disorders. *Aust J Physiother.* 2003;49(2):107-16.
17. Gavish L, Asher Y, Becker Y, Kleinman Y. Low level laser irradiation stimulates mitochondrial membrane potential and disperses subnuclear promyelocytic leukemia protein. *Lasers Surg Med.* 2004;35:369-76.
18. Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. *Plast Reconstr Surg.* 1983;72(6):766-77.
19. 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.
20. Asai S, Fukuta K, Torii S. Topical administration of prostaglandin E1 with iontophoresis for skin flap viability. *Ann Plast Surg.* 1997;38(5):514-7.
21. Esteves Junior I, Ferreira LM, Liebano RE. Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina por iontoforese na viabilidade de retalho cutâneo randômico em ratos. *Acta Cir Bras.* 2004;19(6):626-9.
22. Esteves Junior I, Masson IB, Ferreira LM, Liebano RE, Baldan C, Gomes AC. Administração tópica de cloridrato de hidralazina na viabilidade de retalho cutâneo randômico em ratos. *Acta Cir Bras.* 2005;20(2):164-7.
23. Sasaki GH, Pang CY. Hemodynamics and viability of acute neurovascular island skin flaps in rats. *Plast Reconstr Surg.* 1980;65(2):152-8.
24. Costa MS, Pinfildi CE, Gomes HC, Liebano RE, Arias VE, Silveira TS et al. Effect of low-level laser therapy with output power of 30mw and 60mw in the viability of a random skin flap. *Photomed Laser Surg.* 2010;28(1):57-61.
25. Prado R, Neves L, Marcolino A, Ribeiro T, Pinfildi C, Ferreira L *et al.* Effect of low-level laser therapy on malondialdehyde concentration in random cutaneous flap viability. *Photomed Laser Surg.* 2010;28(3):379-84.
26. Pugliese LS, Medrado AP, Reis SRA, Andrade ZA. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. *Pesqui Odontol Bras.* 2003;17(4):307-13.
27. Carvalho PTC, Mazzer N, Reis FA, Belchior ACG, Silva IS. Analysis of the influence of low-power HeNe laser on the healing of skin wounds in diabetic and non-diabetic rats. *Acta Cir Bras.* 2006;21(3):177-83.
28. Lopes-Martins RAB, Albertini R, Martins PSL, Bjordal JM, Faria Neto HCC. Spontaneous effects of low-level laser therapy (650 nm) in acute inflammatory mouse pleurisy induced by carrageenan. *Photomed Laser Surg.* 2005;23(4):377-81.
29. Busnardo VL, Biondo-Simões MLP. Effects of low-level helium-neon laser on induced wound healing in rats. *Rev Bras Fisioter.* 2010;14(1):45-51.
30. Manteifel VM, Karu TI. Structure of mitochondria and activity of their respiratory chain in successive generations of yeast cells exposed to He-Ne laser light. *Biol Bull.* 2005;32(6):556-66.

Endereço para correspondência:

Cristiano Baldan
Av. Yojiro Takaoka, 3500
Santana de Parnaíba-SP, CEP 06500-000
Brasil

E-mail: cristianobaldan@yahoo.com.br

Recebido em 19 de julho de 2010
Aceito em 13 de setembro de 2010