



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

TÉCNICA CIRÚRGICA INCISIONAL COM BISTURI *VERSUS* LASER DE CO₂: ESTUDO
PRELIMINAR COMPARATIVO DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO

MARCELO DOS SANTOS ROCHA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Esmeralda Sofia da Costa Delgado
Doutor José Manuel Antunes Ferreira da Silva
Dr. Carlo Giovanni Vaudano

ORIENTADOR

Dr. Carlo Giovanni Vaudano

CO-ORIENTADOR

Doutor Luis Miguel Alves Carreira

2013

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

TÉCNICA CIRÚRGICA INCISIONAL COM BISTURI *VERSUS* LASER DE CO₂: ESTUDO
PRELIMINAR COMPARATIVO DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO

MARCELO DOS SANTOS ROCHA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Esmeralda Sofia da Costa Delgado
Doutor José Manuel Antunes Ferreira da Silva
Dr. Carlo Giovanni Vaudano

ORIENTADOR

Dr. Carlo Giovanni Vaudano

CO-ORIENTADOR

Doutor Luis Miguel Alves Carreira

2013

LISBOA

“Jamais creia que os animais sofrem menos do que os humanos. A dor é a mesma para eles e para nós. Talvez pior, pois eles não podem ajudar a si mesmos.”

Dr. Louis J. Camuti

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Carlo Vaudano por ter aceito a realização deste experimento no Hospital Veterinário de Oeiras e por todo apoio técnico e financeiro dispendido.

A Dr^a. Inês Tavares pela ajuda estatística e a toda equipa do HVO que colaborou cada um de uma forma muito especial na realização deste estudo e também pela amizade cultivada.

A Prof^a da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás/Brasil Doutora Neusa Margarida Paulo por todo conhecimento transmitido e por ter me ensinado à dar os primeiros passos na cirurgia veterinária.

Aos meus amigos Miguel Garcia e Nuno Neto pelo apoio e incentivo e por acreditarem em mim e no meu trabalho.

Ao Prof^o Dr. Miguel Carreira pela co-orientação e pelo apoio e disponibilidade dispensada e pela paciência.

E enfim não poderia deixar de fora a pessoa mais importante da minha vida sem a qual não estaria aqui agora, minha mãe Dalvani dos Santos.

TÉCNICA CIRÚRGICA INCISIONAL COM BISTURI *VERSUS* LASER DE CO₂: ESTUDO PRELIMINAR COMPARATIVO DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO

RESUMO:

A cirurgia com laser de CO₂ tem como principais benefícios menor grau de dor, menos hemorragia, menos infecções, menos edema, rubor e desconforto pós-cirúrgico, proporciona ao paciente a capacidade de retomar as suas atividades normais mais cedo com um menor tempo cirúrgico e um campo cirúrgico mais limpo. Inicialmente utilizado na Medicina Humana foi adaptado para a Medicina Veterinária mas ainda em processo de expansão. O presente estudo foi desenvolvido numa amostra de 14 animais (n = 14) pertencentes à espécie *Canis familiaris* sendo 10 fêmeas (71,5%) e 4 machos (28,5%) com média de idade de 3,8 anos, com mínimo de 6 meses e máximo de 9 anos e com peso médio de 13,06 kg, com mínimo de 3 kg e máximo de 35 kg, sujeitos a ovariectomia (OVH) e castração respectivamente. Foram divididos em 2 grupos N1 = incisão com lâmina de bisturi e N2 = incisão com laser de CO₂, sendo 7 animais em cada grupo. Todos os animais receberam o mesmo protocolo pré-cirúrgico constituído por amoxicilina e meloxicam, acepromazina e tramadol. A indução anestésica foi realizada com propofol, sendo a manutenção realizada com isoflurano. O objetivo do estudo foi comparar o uso do laser de CO₂ com o uso do bisturi em incisões cirúrgicas. Os parâmetros utilizados foram 1) Exames auxiliares : medidas do número dos leucócitos (WBC) em T0, T1 e T2, albumina e proteínas totais (PTT) em T1 e T2, 2) avaliação da região incidida quanto a presença de reação inflamatória como rubor, edema, formação de exsudado em T1 e T2, espessura da região incidida em T1 e T2 e cicatrização estética T3, sendo T0 = antes da incisão, T1 = 24h após incisão, T2 = 8 dias após incisão e T3 = 30 dias após incisão. Os resultados puderam sugerir que não houve diferenças estatísticas entre os grupos em N1 e N2 quanto a albumina (p = 0,87), quanto a PTT (p = 0,53) e espessura em T1 (p = 0,87) e em T2 (p = 0,73). Em relação a dor notamos que houve diferença entre os grupos N1 e N2 em T1 (p = 0,001) com aumento da dor em N1. Em T2 não houve presença de dor nos 2 grupos. Em relação a WBC não notou-se diferença entre N1 e N2 em T1 (p = 0,90) mas em T2 houve diferença (p = 0,001) com aumento de WBC em N2.

Palavras-chaves: cirurgia com laser CO₂, cicatrização, cirurgia com bisturi, canídeo.

SURGICAL INCISIONAL WITH SCALPEL TECHNIQUE VERSUS CO2 LASER: COMPARATIVE STUDY OF THE DEVELOPMENT OF THE HEALING PROCESS

ABSTRACT:

The main advantages of the CO2 laser surgery are lesser pain, lesser bleeding, lesser probability of infections, lesser post-surgical swelling and discomfort, giving the patient the ability to restart his normal activities earlier with lesser surgical time and a cleaner surgical field. It was first used in Human Medicine and then adapted to Veterinary Medicine, but it's still in the developmental process. The current study has been developed on a sample of 14 animals (n = 14) of the canine species, with 10 females (71,5%) and 4 males (28,65%), medium age of 3,8 years old, with a minimum of 6 months and maximum of 9 which were subjected to ovariohysterectomy (OVH) and neutering. They were split in 2 groups: N1= use of a scalpel and N2 = use of CO2 laser, with 7 animals on each group. All the animals received the same pre-surgical protocol form of amoxicillin and meloxicam, acepromazine and tramadol. Anesthesia was induced with propofol and maintained with isoflurane. The aim of this study is to analyze the advantages of using CO2 laser instead of the scalpel in a surgical section. The evaluated parameters were 1) Complementary exams: measures of the number of white blood cells (WBC) (T0, T1 and T2), albumin and total protein (T1 and T2); 2) evaluation on the incised region, regarding inflammation like redness, edema, exudate (T1 and T2), thickness of the sectioned region (T1 and T2) and cosmetic scarring (T3), with T0 = before section, T1 = 24h after section, T2 = 8 days after the cut and T3 = 30 days after section. The results suggested that there wasn't any statistic difference between groups in N1 and N2 regarding albumin (p = 0,87), concerning PTT (p = 0,53) and thickness (p = 0,87) and in T2 (p = 0,73). Concerning pain, we see there was a difference between groups N1 and N2 in T1 (p = 0,001) with augmented pain in N1. There wasn't presence of pain in T2 on both groups. Regarding the WBC no difference was noted between N1 and N2 in T1 (p = 0,90) but it was registered a difference in T2 (p = 0,001) with augmented WBC in N2.

Keywords: laser CO2 surgery, scarring, scalpel surgery, canine.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	i
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
ÍNDICE GERAL.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABELAS E GRÁFICOS.....	vii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
I – INTRODUÇÃO.....	1
II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	1
1. A HISTÓRIA DO LASER MÉDICO E CIRÚRGICO.....	1
2. O LASER DE CO ₂	2
3. A PELE E A SUA ANATOMIA.....	5
3.1 Epiderme.....	6
3.2 Derme.....	8
3.3 Hipoderme.....	9
3.4 Folículos pilosos.....	9
3.5 Pelos táteis.....	10
3.6 Ciclo do pelo.....	10
3.7 Glândulas sebáceas.....	11
3.8 Glândulas sudoríparas.....	11
3.9 Glândulas especializadas.....	12
3.10 Músculos eretores do pelo.....	13
3.11 Vasos sanguíneos, linfáticos e nervos.....	13
3.12 Melanócitos.....	14
4. CICATRIZAÇÃO.....	15
4.1 Fase inflamatória.....	15
4.2 Fase proliferativa ou de reparação.....	19
4.2.1 Angiogênese.....	20
4.2.2 Fibroplasia.....	21
4.2.3 Epitelização.....	22
4.2.4 Retração da ferida.....	23
4.3 Fase de maturação e remodelamento.....	24
5. O FENÓMENO DA DOR E A SUA AVALIAÇÃO.....	25

6. PROTEÍNAS TOTAIS PLASMÁTICAS E ALBUMINA.....	26
III – ESTUDO EXPERIMENTAL.....	27
7. OBJETIVOS.....	27
8. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
8.1 Desenho experimental.....	27
8.2 Materiais utilizados.....	28
8.3 Variáveis analisadas.....	29
8.4 Protocolo anestésico.....	29
8.5 Protocolo cirúrgico.....	29
8.6 Terapêutica pós-cirúrgica.....	29
8.7 Análise estatística.....	30
9. RESULTADOS ESTATÍSTICOS.....	30
9.1 Albumina.....	30
9.1.1 Lâmina de bisturi (N1).....	30
9.1.2 Laser de CO ₂ (N2).....	30
9.1.3 Comparação entre N1 e N2.....	30
9.2 Proteínas Totais.....	30
9.2.1 Lâmina de bisturi (N1).....	30
9.2.2 Laser de CO ₂ (N2).....	31
9.2.3 Comparação entre N1 e N2.....	31
9.3 Espessura da região incidida.....	31
9.3.1 Lâmina de bisturi (N1).....	31
9.3.2 Laser de CO ₂ (N2).....	31
9.3.3 Comparação entre N1 e N2.....	31
9.4 Dor.....	32
9.4.1 Lâmina de bisturi (N1).....	32
9.4.2 Laser de CO ₂ (N2).....	32
9.4.3 Comparação entre N1 e N2.....	32
9.5 Leucócitos (WBC).....	32
9.5.1 Lâmina de bisturi (N1).....	32
9.5.2 Laser de CO ₂ (N2).....	32
9.5.3 Comparação entre N1 e N2.....	33
10. DISCUSSÃO.....	36
10.1 Leucócitos (WBC).....	36
10.2 Dor.....	36
10.3 Albumina e Proteínas Totais (PTT).....	37
10.4 Espessura da região incidida.....	37

10.5 Estética da cicatriz.....	37
10.6 Desvantagem do uso do laser de CO ₂	37
11. CONCLUSÃO.....	37
12. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	38
IV. BIBLIOGRAFIA.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Fonte e braço de transmissão do raio laser e fonte de sucção de gases (Fotografia original).....	4
Figura 2 – Ponta de aplicação do raio laser (Fotografia original).....	5
Figura 3 – Desenho esquemático da pele e seus anexos.....	6
Figura 4 – Desenho esquemático de uma lesão durante a fase inflamatória, demonstrando a vasodilatação que permite a passagem dos leucócitos para combater bactérias contaminantes da ferida.....	19
Figura 5 – Desenho esquemático de uma lesão durante a fase proliferativa quando ocorre a formação do tecido de granulação.....	20
Figura 6 – Maturação da cicatriz, na qual ocorre o remodelamento do tecido conjuntivo pela substituição do colagénio de tipo III pelo colagénio de tipo I.....	23
Figura 7 – Paquímetro digital (Fotografia original).....	28

ÍNDICE DE TABELAS E GRÁFICOS

Gráfico 1 – Percentagem de machos e fêmeas da amostra e número de animais em cada grupo.....	27
Tabela 1 – Tabela de indentificação dos pacientes.....	28
Tabela 2 – Classificação macroscópica da cicatriz.....	29
Tabela 3 – Dados relativos aos doentes onde foi realizada a incisão com lâmina de bisturi. Avaliação dos diferentes parâmetros considerados nos 4 tempos de estudo, T0, T1, T2 e T3.....	34
Tabela 4 – Dados relativos aos doentes onde foi realizada a incisão com laser de CO ₂ . Avaliação dos diferentes parâmetros considerados nos 4 tempos de estudo, T0, T1, T2 e T3.....	35

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo I – Escala de dor da Universidade de Melbourne.....	48
Anexo II – Folha de registro dos dados para o estudo de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária.....	50
Anexo III – Fotografias.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS

AC: antes de Cristo
HVO: Hospital Veterinário de Oerias
CO₂: dióxido de carbono
Nd:YAG: neodymium: yttrium aluminum garnet
nm: nanómetros
°C: graus Celsius
µs: microsegundos
%: por cento
cm: centímetros
GP IIb/IIa: glicoproteína IIb/IIa
ADP: adenosina difosfato
TxA₂: tromboxano A₂
PDGF: fator de crescimento derivado de plaquetas
TGF-α: fator de crescimento transformador α
TGF-β: fator de crescimento transformador β
MMPs: metaloproteinases da matriz
Serpinas: inibidores de proteases de serina
TIMPs: inibidores teciduais da metaloproteinase da matriz
IL-1: interleucina 1
FGF: fator de crescimento fibroblástico
EGF: fator de crescimento epidérmico
TNF: fator de necrose tumoral
pH: potencial hidrogeniônico
DNA: ácido desoxirribonucléico
VEGF: fator de crescimento endotelial vascular
KGF: fator de crescimento do queratinócito
T₀: tempo 0
T₁: tempo 1
T₂: tempo 2
T₃: tempo 3
ALB: albumina.
PTT: proteínas totais
P: peso
KG: quilograma
mg: miligrama
bid: 2 vezes por dia
NaCl: cloreto de sódio
mm: milímetro
W: watts
n°: número
N1: grupo 1
N2: grupo 2
WBC: glóbulos brancos
Lymph: linfócito
Gran: granulócito
Plaq: plaqueta
Eos: eosinófilo
AIED: Associação Internacional para o Estudo da Dor
EDS: Escala Descritiva Simples
EDUM: Escala de Dor da Universidade de Melbourne
FC: frequência cardíaca
FR: frequência respiratória

I. INTRODUÇÃO

O presente estágio curricular em Medicina Veterinária foi realizado no Hospital Veterinário de Oeiras (HVO) com a duração de 4 meses e estendeu-se desde junho a setembro de 2013, sob a orientação do Dr. Carlo Giovanni Vaudano e co-orientação do Professor Dr. Miguel Carreira. O estágio abrangeu as áreas de Medicina Cirúrgica, Medicina Preventiva, Exames Complementares e foi ao mesmo tempo desenvolvido um estudo sob o título “Técnica cirúrgica incisional com bisturi *versus* laser de CO₂: estudo preliminar comparativo do processo de cicatrização”.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. A HISTÓRIA DO LASER MÉDICO E CIRÚRGICO

Um dos marcos históricos na área médica moderna, do século passado, foi o desenvolvimento dos lasers médicos e cirúrgicos. A aplicação dos diferentes tipos de lasers possibilitou uma grande alteração nos protocolos clássicos dos procedimentos médicos e cirúrgicos, proporcionando uma redução do tempo cirúrgico, uma redução do tempo de recuperação do paciente, diminuição nas complicações pós-operatórias, como edemas, assim como a um maior controlo e domínio das dores crónicas. Na Medicina Veterinária o laser apresenta a viabilidade de melhoria substancial das aplicações tanto no campo cirúrgico como médico. Embora exista uma grande variedade de tipos de laser, o laser de CO₂, foi um dos primeiros a ser utilizado encontrando-se moderadamente implantado na Medicina Veterinária. Miserandino & Pick (1995) e Brugnera Júnior & Pinheiro (1998) relataram, nas suas pesquisas que a luz solar já era utilizada, desde os primórdios da civilização, com finalidades terapêuticas. Citando que os Indianos em 1400 AC preconizavam uma substância fotossensibilizadora obtida de plantas, que aplicada sobre a pele dos doentes promovia a absorção da luz solar para curar a discromia causada pelo vitiligo. Diversas formas de terapêutica com luz solar foram difundidas pelos Árabes, Gregos e Romanos para tratamento de doenças de pele. O estudo e o desenvolvimento dos conhecimentos sobre as radiações eletromagnéticas apresentaram seu apogeu no final do século passado com as descobertas dos raios catódicos, radiação x, radioisótopos, ondas de rádio e ainda com a luz incandescente. A teoria de Einstein em 1915 sobre a emissão estimulada de luz, teve como base a teoria quântica proposta por Planck em 1900, baseada na utilização do conceito de unidade quântica para descrever as propriedades dinâmicas das partículas subatómicas e as interações entre matéria e radiação. Assim, Einstein ao discorrer sobre a interação de átomos, iões e moléculas com a radiação eletromagnética em termos de absorção e emissão espontânea de radiação, concluiu que o terceiro processo de interação, a emissão estimulada, deveria existir e nela, a radiação eletromagnética deveria ser produzida por um processo atómico. O primeiro laser de aplicação médica data da década de 60, quando Mainan conseguiu pela primeira vez, a emissão estimulada de radiação pela excitação de uma roda de rubi, por pulsos luminosos intensos, passando-se a pesquisar sobre a aplicação desta tecnologia no campo de Odontologia. Inicialmente foi utilizado apenas em tecidos moles e

posteriormente nos tecidos mineralizados (Wigdor et al., 1995; Brugnera Júnior & Pinheiro, 1998; Brugnera Júnior, 2001).

2. O LASER DE CO₂

O termo laser faz referência à sua definição como amplificação da luz por uma emissão estimulada de átomos, “*light amplification by stimulated emission of radiation*”, que provoca o movimento dos elétrons a um nível energético superior. Quando a estimulação pára, esses elétrons tendem a voltar ao nível energético em que estavam estáveis, libertando energia na forma de fótons. O feixe de laser é formado numa câmara que contém um material específico como meio, o qual dá o respectivo nome ao laser: CO₂, rubi, Neodymium:Yttrium Aluminum Garnet (Nd:YAG), etc. As moléculas desse material são excitadas por meio de energia elétrica ou luminosa, tornando-o instável, de forma a que tende a voltar a um estado mais estável, emitindo assim fótons neste processo. Esses fótons são refletidos pelos espelhos situados nos extremos da câmara, organizando-se sob a forma de um feixe e ao mesmo tempo excitando novas moléculas, aumentando assim o nível energético. Os fótons libertados movem-se com o mesmo comprimento de onda, dependendo do material que lhes deu origem. O feixe de laser é libertado numa extremidade da câmara, transportado e modificado através de um sistema de espelhos e de fibra ótica, dependendo do tipo de laser, até ao seu sistema de aplicação. Quando o raio laser interage com os tecidos ele pode ser absorvido, refletido, transmitido ou dispersado. O processo de absorção do feixe de luz pelo tecido é a chave para obter uma interação efetiva e o efeito desejado. De acordo com o seu comprimento de onda, o laser terá o máximo efeito nos tecidos segundo o seu teor de água, hemoglobina ou melanina. Raios com comprimentos de onda na ordem dos infravermelhos, entre 1000 e 12000 nm (ex.: CO₂) são absorvidos pela água, de forma que terão o seu efeito máximo sobre os tecidos com alto teor de água, como a pele ou os tecidos moles. Raios com comprimento de onda no espectro da luz visível, 400-750 nm (ex.: ND-YAG) são absorvidos por tecidos ricos em melanina ou hemoglobina, por isso são usados para tratamento de sinais, tatuagens ou depilação. Raios com comprimento de onda no espectro da luz ultravioleta, menos de 400 nm, (ex.: Excimer laser) são adequados para uso na córnea e ossos. O mecanismo e o efeito que o raio laser produz no tecido pode ser fototermal, fotoablativo, fotomecânico ou fotoquímico, dependendo do tipo de energia no qual o feixe de fótons é transformado ao entrar em contato com o tecido. Os tipos mais comuns de laser atuam transformando a energia luminosa em térmica, produzindo a evaporação da água intracelular. Durante a aplicação do feixe de fótons sobre o tecido forma-se uma zona central em que a temperatura supera os 100°C e onde se produz a evaporação da água. Periféricamente, a temperatura atingida é menor podendo formar uma zona de necrose (60 – 100°C) e uma zona de dano térmico (< 60°C). Quando a absorção do laser é ótima (laser adequado para um determinado tipo de tecido) os fótons atuam numa zona contida com um grau aumentado de temperatura, minimizando a lesão térmica periférica. Se pelo contrário, o laser não é bem absorvido, os fótons dispersam-se numa área maior dando lugar a uma zona de evaporação menor, mas com uma maior área de lesão térmica periférica (Peavy, 2002; Berger, 2006). À medida que o raio laser viaja através do tecido e este absorve a

energia, produz-se uma diminuição exponencial da energia a que se denomina de atenuação. Um dos conceitos mais importantes, para obter uma aplicação adequada do laser é o tempo de “relaxamento térmico” o qual se define como o tempo que o tecido ao qual foi aplicado o laser necessita para diminuir a sua temperatura máxima (durante irradiação) em 50% por meio da transferência de energia térmica aos tecidos que o rodeiam. Este tempo é muito curto quando se utiliza o laser de CO₂, sendo de aproximadamente 325 μs, e é crítica para evitar os efeitos indesejados nos tecidos circundantes (Berger, 2006). Desta forma, se se utilizar o laser de uma forma superpulsada, com o tempo entre os pulsos de relaxamento térmico baixo, pode-se obter uma evaporação máxima com uma mínima condução térmica aos tecidos circundantes. A aplicação do raio laser em modo “superpulsado”, caracterizado por aplicação repetida de altos níveis de energia laser com tempos de repouso entre eles, é o modo ideal de aplicação do laser. Outros modos de aplicação do raio laser são o modo contínuo e o modo pulsado (Peavy, 2002; Berger, 2006). Um aspeto essencial durante o uso do raio laser é a segurança. O laser apresenta numerosas aplicações mas ao mesmo tempo, é fonte de possíveis efeitos indesejados tanto para o cirurgião como para o paciente. É necessário seguir determinadas medidas de segurança para garantir um uso adequado e seguro do laser. Estão descritas lesões oculares, tais como formação de cataratas e lesões da retina, alterações cutâneas como queimaduras e alterações respiratórias por inalação de fumo derivado da interação do raio laser com os tecidos. O modo mais simples de evitar estes perigos é prevenir o contato do feixe de fótons com os olhos ou a pele do cirurgião e do paciente. O uso de óculos protetores de um comprimento de onda específico, ou a cobertura dos olhos do paciente, são importantes medidas a se tomar para evitar a aplicação acidental do laser. Com o objetivo de evitar efeitos respiratórios tóxicos por inalação de fumos, é imprescindível usar sistema de extração de fumos e máscara. Visto que o contato do raio laser com o oxigénio pode resultar em combustão, é essencial tomar precauções quando o laser for utilizado na cavidade oral. O uso de gazes humedecidas ao redor do tubo endotraqueal específicas para laser e a aplicação cuidadosa do raio, são medidas importantes para evitar situações perigosas na cirurgia (Fry, 2002). Os diferentes tipos de raios possuem diferentes aplicações como o diagnóstico e tratamento de processos neoplásicos, litotripsia, cirurgia ocular e bioestimulação (Moll, 2006; Ross, 2006). Em Medicina Veterinária, a litotripsia e a cirurgia cutânea são os campos mais comuns em que se utiliza a tecnologia a laser (Davidson et al., 2004; Holt & Mann, 2002; Dye et al., 2002). De igual modo à cirurgia humana, o uso do laser em cirurgia veterinária apresenta vantagens e desvantagens para o cirurgião e para o paciente. Diminuição do tempo cirúrgico, hemostase adequada, redução da dor ou inflamação dos tecidos intervencionados são importantes vantagens oferecidas pela técnica a laser (Berger, 2006; Mison et al., 2002; Holmberg & Brisson, 2006). Sem dúvida, o uso do laser requer um certo investimento económico em equipamento, formação técnica do pessoal assim como de uma curva de aprendizagem (Berger, 2006; Mison et al., 2002; Holmeberg & Brisson, 2006; Irwin, 2002). Devido às vantagens que oferece, a aplicação do laser na cirurgia veterinária encontra-se num momento de expansão. Entre todos os tipos de laser que existem no mercado, o de CO₂ é o mais utilizado. A diferença do laser ND:YAG, cujo feixe de fótons pode ser transportado através de um cabo de fibra

ótica e portanto ser utilizado em cistoscopia e laparotomia (Elwick et al., 2002; Van, 2005). O laser de CO₂ transmite-se através de um cabo com sistema de espelhos e portanto o seu uso está limitado à cirurgia aberta (Moll, 2006; Dye et al., 2002). Sem dúvida, na atualidade estudos estão a ser feitos para desenvolvimento de novos sistemas de transporte flexível que permita aplicar o laser de CO₂ através de endoscópios rígidos e flexíveis. Portanto o uso do laser de CO₂ requer uma aprendizagem prévia, que seja rápida e fácil, permitindo ao cirurgião sentir-se confortável na sua aplicação depois de apenas um ou dois usos. Os principais pontos a serem considerados durante a aplicação do laser de CO₂ são a segurança e minimização da lesão térmica periférica. Tal como mencionado anteriormente, a proteção do cirurgião e do paciente, assim como o uso do laser em modo superpulsado e ablação frequente das escaras são fatores decisivos para obter o resultado desejado.

Figura 1: Fonte e braço de transmissão do raio laser e fonte de sucção de gases (Fotografia original)



AE-10, Aesculight, Servive Portugal

Figura 2: Ponta de aplicação do raio laser. (Fotografia original)



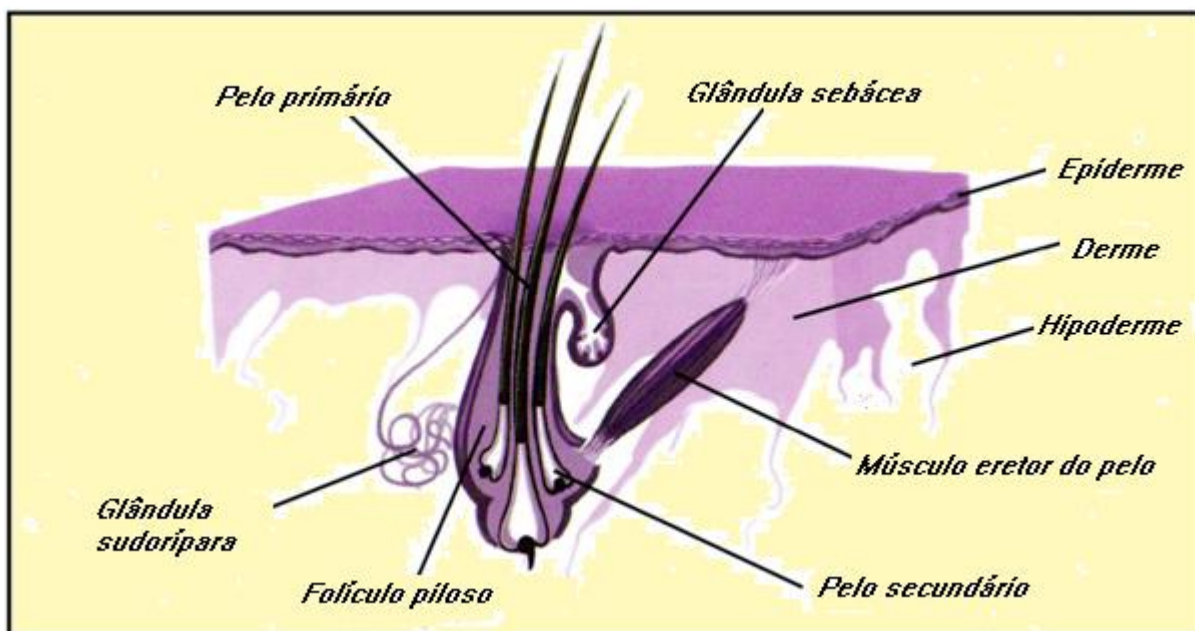
AE-10, Aesculight, Servive Portugal

3. A PELE E A SUA ANATOMIA

A pele é dividida em 3 camadas: Epiderme, Derme e Hipoderme (Bragulla, 2004; Jones, 2000; Sisson, 1977). Alguns autores como Banks (1992) e Junqueira & Carneiro (2010) não consideram a hipoderme como fazendo parte da pele. A epiderme, desenvolve-se a partir da ectoderme, enquanto que a derme e a hipoderme são derivadas da mesoderme. É importante salientar que a derme da face deriva da crista neural, logo, da epiderme. Não deriva portanto, da mesoderme. Inicialmente, a epiderme é formada por uma camada de células epiteliais cúbicas, mas com a proliferação celular ocorre a estratificação. Essa proliferação é oriunda do estrato basal, também denominado germinativo (Banks, 1992). Outras células que formam a epiderme, como os melanócitos e as células de Langerhans, originam-se da crista neural e da medula óssea, respetivamente (Banks, 1992; Hargis, 1998; Harrist, 2002). A proliferação das células basais e sua invaginação para a derme adjacente forma os folículos pilosos e as glândulas anexas, cujas células são contínuas com os estratos da epiderme. A derme e a hipoderme desenvolvem-se a partir de células mesenquimatosas primitivas (Banks, 1992). Essa maturação ocorre pelo aumento da espessura e do número de fibras colagénias, pela diminuição da substância fundamental amorfa e pela diferenciação de células mesenquimatosas precursoras em fibroblastos, um processo conhecido como amadurecimento da derme. Após algum tempo, os histiócitos, as células de Schwann e os melanócitos podem ser identificáveis. As fibras de elastina, aparecem logo depois das fibras de colagénio, as quais, nesta fase, são principalmente do tipo III. Na derme dos animais adultos predominam as fibras colagénicas do tipo I. Os adipócitos do tecido subcutâneo desenvolvem-se a partir dos pré-lipoblastos durante a segunda metade da gestação. O estrato basal dá origem ao folículo piloso ou germe epitelial primário, uma área focal onde se agrupam células basais que irão formar uma protusão para dentro da derme. Esse germe do pelo dará origem aos folículos pilosos e às glândulas sebáceas e sudoríparas apócrinas. À medida que o folículo piloso amadurece, aparecem 3 saliências. A inferior e mais profunda, desenvolve-se na ligação do músculo eretor do pelo, a média diferencia-se na glândula sebácea e a superior evolui para glândula sudorípara

apócrina. Esses apêndices crescem no lado interno dos folículos pilosos primários, enquanto que os folículos pilosos secundários surgem do lado externo. Os germes das glândulas sudoríparas écrinas também se iniciam a partir dos aglomerados celulares do estrato basal, mas são um pouco mais estreitos e possuem menos células mesenquimatosas em sua base. Os primeiros pelos a aparecerem no feto dos animais domésticos são as vibrissas e os pelos táteis. Os pelos corporais ocorrem primeiro na cabeça e progridem no sentido caudal (Scott, 1996).

Figura 3: Desenho esquemático da pele e seus anexos.



Fonte: Adaptado de Dethioux (2006).

3.1. Epiderme

A epiderme é a camada mais externa da pele sendo subdividida em 5 estratos: 1) basal, 2) espinhoso, 3) granuloso, 4) lúcido e 5) córneo (Bal, 1996; Banks, 1992; Bragulla, 2004; Scott, 1996). Estes estratos são também chamados de camadas, principalmente quando classificados por exame citológico. As camadas são denominadas de basal, parabasal, intermediária, clara e superficial, respectivamente (Raskin, 2003). A epiderme é constituída por 4 tipos celulares básicos, sendo eles: queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel (Bragulla, 2004; Hargis, 1998; Jones, 2000; Scott, 1996). A quantidade de cada uma dessas células é variável mas aproximadamente 85% delas são queratinócitos (Jones, 2000; Scott, 1996), 5% são melanócitos e 3% a 8% são células de Langerhans. No cão e no gato, a epiderme é fina com apenas duas ou três camadas de células nucleadas dependendo da localização (Scott, 1996). As células do estrato basal dispõem-se numa única fileira e possuem uma forma cúbica ou colunar (Bal, 1996; Banks, 1992; Jones, 2000, Scott, 1996). Essa camada repousa sobre uma membrana basal e é considerada um ponto de separação entre a epiderme e a derme (Scott, 1996). A grande maioria das suas células é constituída por queratinócitos, os quais migram constantemente para as camadas superiores, ou seja, o estrato basal é o berço das

células da epiderme (Bragulla, 2004; Scott, 1996). Existem duas populações de queratinócitos na camada basal, um tipo que tem função proliferativa e reparadora, chamado de células indiferenciadas, e outro tipo que serve para fixar a epiderme à derme. Por esta ser uma camada de intensa proliferação é normal que nela se observem figuras de mitose e células em apoptose. O estrato basal é o local onde estão os melanócitos, e dessa forma, esses também podem ser vistos na bainha externa da raiz do pelo e nos ductos das glândulas sebáceas e sudoríparas. De acordo com a localização, pode diferenciar-se os melanócitos em epidérmicos e foliculares (Scott, 1996). As células de Merkel estão confinadas ao estrato basal (Bal, 1996; Bragulla, 2004; Scott, 1996) e ocorrem apenas nos tilotríquios das almofadas. Essas células contêm um grande vacúolo citoplasmático que desloca dorsalmente o núcleo e possuem características imunohistoquímicas que sugerem uma dupla diferenciação (epitelial e neural) (Scott, 1996). O estrato espinhoso está logo acima do estrato basal e consiste de num número variável de camadas de acordo com a região do corpo. As suas células passam de poliédricas a pavimentosas e estão ligadas entre si por pontes intercelulares (Banks, 1992; Scott, 1996). O fato dessas células se contraírem durante o processamento histológico, ocasiona que as pontes intercelulares adquiram um aspecto de espinho o que lhes confere a denominação de células espinhosas. Vale ressaltar que isso é apenas um artefato (Bal, 1996; Hargis, 1998) e assim, não ocorre no animal vivo (Bal, 1996). Nessa camada estão localizadas as células de *Langerhans*, que em muitas espécies, com exceção do cão, possuem grânulos de Birbeck (Bal, 1996; Scott, 1996). Essas células originam-se da linhagem monocítica e funcionam como células apresentadoras de antigénio na pele (Banks, 1992; Hargis, 1998; Harrist, 2002). Em conjunto com os linfócitos T epidermotrópicos, as células de Langerhans formam o tecido linfóide associado à pele (Hargis, 1998; Harrist, 2002; Scott, 1996). O estrato granuloso é formado por uma ou várias camadas de células rombóides ou pavimentosas que possuem grânulos de querato-hialina. Estes grânulos são ricos em filagrina, que é a substância interfibrilar da queratina mole (Banks, 1992; Harrist, 2002; Scott, 1996). O estrato lúcido é constituído por várias camadas de células pavimentosas, translúcidas e anucleadas, que já não apresentam grânulos de querato-hialina mas apenas uma substância chamada eleidina (Banks, 1992; Scott, 1996). Esse estrato ocorre somente nas regiões mais espessas da pele, como almofadas plantares, face e mamilos (Bal, 1996; Banks, 1992; Bragulla, 2004). Para alguns autores, o estrato lúcido é apenas um artefato de refração de células córneas jovens (Bragulla, 2004). O estrato córneo ou disjunto é formado por várias camadas de células queratinizadas e anucleadas (corneócitos) (Banks, 1992; Hargis, 1998, Scott, 1996). A descamação gradual desse estrato é equilibrada pela proliferação de células basais. O corneócito possui uma estrutura especializada que é o invólucro celular, o qual se desenvolve por baixo da membrana plasmática das células epidérmicas estratificadas, da bainha interna da raiz do pelo, da cutícula do pelo e da unha (Scott, 1996). A queratina é uma proteína composta por microfibrilas com baixo teor de enxofre, imersas em uma matriz amorfa rica em enxofre (Banks, 1992). Segundo Bragulla (2004) existem 2 tipos de queratina: a mole, presente na epiderme e em algumas mucosas; e a dura, típica dos anexos cutâneos (pelo, casco e unha). Quatro são os eventos celulares relacionados com a queratinização: 1) queratinização propriamente dita, ou seja, síntese das principais proteínas fibrosas

dos queratinócitos; 2) síntese de querato-hialina; 3) formação do invólucro periférico do estrato córneo e 4) geração de domínios intercelulares enriquecidos por lípidos resultantes da secreção de grânulos lamelares (Scott, 1996). A queratina é o produto da diferenciação das células basais (Bal, 1996, Banks, 1992, Jones, 2000; Scott, 1996). A membrana basal é responsável pela separação dermo-epidérmica e fixa a epiderme na derme, mantendo a arquitetura do tecido (Harrist, 2002; Scott, 1996). Ultraestruturalmente, a membrana basal pode ser dividida em 3 zonas de diferente densidade eletrônica: a lâmina lúcida, adjacente à membrana das células basais da epiderme, a lâmina densa, de maior densidade e a lâmina fibrorreticular. Os principais constituintes químicos da lâmina basal são o colagénio do tipo IV, a laminina e proteoglicanos. Os queratinócitos e os fibroblastos da derme contribuem para a formação de grande parte dos componentes da membrana basal. Na face dérmica da membrana basal existe fibronectina (glicoproteína), que pode ter um papel importante na sua adesão ao estroma subjacente. Do mesmo modo, fibrilas de ancoragem de colagénio do tipo VII unem a membrana basal à matriz extracelular do tecido conjuntivo da derme. Suas principais funções são: proporcionar um suporte físico à epiderme, contribuir para a adesão entre a epiderme e a derme e atuar como uma barreira que regula a permeabilidade aos diferentes nutrientes entre ambas as camadas (Arribas e Landeras, 1997).

3.2. Derme

A derme tem origem mesodérmica, exceto a derme da face, e está separada da epiderme pela membrana basal (Banks, 1992; Bragulla, 2004). Essa camada da pele é dividida em derme superficial ou papilar (estrato papilar) e derme profunda ou reticular (estrato reticular) (Bal, 1996; Banks, 1992; Bragulla, 2004; Harrist, 2002; Jones, 2000). A derme superficial interdigita-se com a epiderme através das papilas dérmicas e epidérmicas (Banks, 1992; Bragulla, 2004; Jones, 2000). Essas papilas ocorrem principalmente em áreas com sobrecarga mecânica e assim não aparecem em regiões de muito pelo (Bragulla, 2004). A derme é formada por tecido conjuntivo, principalmente na forma de fibras entrelaçadas, pelos elementos celulares dérmicos e pelos folículos pilosos e glândulas anexas (Banks, 1992; Bragulla, 2004; Hargis, 1998). Na derme ainda podemos encontrar músculos lisos (músculos eretores do pelo), vasos sanguíneos, vasos linfáticos (Bank, 1992; Bragulla, 2004; Hargis, 1998, Jones, 2000, Scott, 1996) e nervos. Os elementos celulares da derme são os fibroblastos, os macrófagos e os mastócitos (Bal, 1996; Hargis, 1998; Jones, 2000; Scott, 1996). Os dois últimos são vistos principalmente ao redor de vasos sanguíneos (Jones, 2000; Scott, 1996). As fibras dérmicas são produzidas pelos fibroblastos e podem ser fibras 1) colagénicas, 2) elásticas ou 3) reticulares (Scott, 1996). As fibras colagénicas perfazem 80% do total das fibras, enquanto que as fibras reticulares, correspondem a apenas uma pequena parte das fibras dérmicas (Jones, 2000; Scott, 1996). Dentre as fibras colagénicas destacam-se as do tipo I (87%), III (10%) e V (3%). As fibras elásticas, principalmente as elaunínicas, ocorrem mais na derme profunda (Scott, 1996). A substância fundamental amorfa é um gel composto de glicosaminoglicanos (mucopolissacarídeos),

principalmente ácido hialurônico, dermatan-sulfato, sulfato-6-condroitina e sulfato-4-condroitina (Cotran, 2000). Outras substâncias intersticiais são a fibronectina e a mucina (Scott, 1996).

3.3. Hipoderme

A hipoderme ou tecido subcutâneo une a pele às estruturas corporais mais profundas, principalmente os músculos, permitindo uma melhor mobilidade tegumentar (Bal, 1996; Hargis, 1998). A quem não a considera como parte da pele. Quando essa camada está infiltrada por numerosas células adiposas é chamada pânículo adiposo (Bal, 1996; Banks, 1992; Sisson, 1977). A hipoderme mistura-se ao tecido conjuntivo denso subjacente da fáscia profunda, do periósteo e do pericôndrio. A infiltração por tecido adiposo é típica nas almofadinhas digitais dos Carnívoros (Banks, 1992).

3.4. Folículos pilosos

Os folículos pilosos formam-se a partir de invaginações da epiderme para a derme subjacente. Inicialmente, ocorre um espessamento focal da epiderme imatura (germe de pelo) que protrui como um cordão celular proeminente. Esse cordão penetra na derme na forma de um canal, o que permite que o restante da epiderme se continue até formar a bainha externa da raiz. Essa bainha dá origem à matriz germinativa na base do folículo e assim forma a bainha interna da raiz e o pelo. Embora o folículo piloso esteja localizado na derme, ele está separado desta pela membrana basal, pelo que a bainha externa da raiz é contínua com o estrato basal, espinhoso e granuloso (Banks, 1992). A bainha interna da raiz está subdividida em camada de Henle, camada de Huxley e cutícula da bainha da raiz (Banks, 1992; Scott, 1996). A camada de Henle ou camada periférica consiste em apenas uma camada de células achatadas. A camada de Huxley ou camada intermediária possui várias camadas de células com grânulos de trico-hialina, que são o equivalente dos querato-hialina no pelo. A cutícula da bainha interna da raiz é uma monocamada de células queratinizadas que se apoia sobre a cutícula do pelo. Todas as 3 camadas que formam a bainha interna da raiz não são contínuas com a superfície. Essas camadas não se estendem além da abertura das glândulas sebáceas nos folículos (Banks, 1992).

O pelo possui 3 regiões distintas: a cutícula, o córtex e a medula (Banks, 1992; Bragulla, 2004; Scott, 1996). A cutícula é uma monocamada de células queratinizadas e anucleadas que se interdigita com a cutícula da bainha interna da raiz (Scott, 1996). O córtex é formado por várias camadas de células achatadas e queratinizadas que contêm queratina dura (Banks, 1992 & Scott, 1996). Entre as células pode haver ar (Banks, 1992). A medula, que pode estar ausente em alguns pelos, é formada por células queratinizadas e cúbicas também separadas por ar (Banks, 1992; Scott, 1996). O folículo piloso termina numa dilatação epidérmica em forma de cone (bulbo piloso) que define os limites da papila dérmica (Banks, 1992; Bragulla, 2004). As células epidérmicas do ápice da papila originam as células medulares, já as células epidérmicas laterais do ápice originam as células corticais e as células cuticulares. As células da camada cortical possuem um pigmento que confere a cor do pelo (Banks, 1992). Cada aglomerado de pelos possui 2 a 5 hastes, dessas, o pelo central maior é primário e os pelos laterais menores são secundários, rodeando o primário. Além disso, pelos primários emergem

em poros separados (ao contrário dos pelos secundários que emergem em poros comuns). Em média, existem 5 a 20 pelos secundários para cada pelo primário no cão e no gato. Cada pelo primário possui uma glândula sudorípara apócrina, uma glândula sebácea e um músculo eretor do pelo, os pelos secundários podem possuir somente a glândula sebácea. Os folículos pilosos são divididos longitudinalmente em 3 segmentos anatómicos: o infundíbulo ou porção pilossebácea, o istmo ou porção média e o segmento inferior ou porção mais baixa (Scott, 1996). O primeiro localiza-se da entrada do ducto da glândula sebácea até o óstio folicular, o segundo estende-se da inserção do músculo eretor do pelo até a entrada do ducto da glândula sebácea e o último localiza-se desde a papila folicular até à inserção do músculo eretor do pelo (Gross, 1992; Scott, 1996). O segmento infundibular é constituído por um estrato idêntico à epiderme, já o epitélio do istmo folicular é composto por pequenos queratinócitos que se queratinizam sem demonstrar a camada de células granulares (queratinização tricolemal ou triquilémica) (Gross, 1992). O segmento inferior contém, durante a fase anagénica, o bulbo piloso, a bainha interna da raiz e a bainha externa da raiz (porção inferior) (Gross, 1992; Scott, 1996). O bulbo piloso é formado por células basalóides que originam outros componentes epiteliais do folículo, essas células são denominadas como células matriciais (Scott, 1996). Os queratinócitos da bainha externa da raiz (porção inferior) têm citoplasma claro, já aqueles que formam a bainha interna da raiz são pequenos, apresentando um citoplasma claro e que ao queratinizarem formam os grânulos de trico-hialina (Gross, 1992). A queratina sintetizada pelas células epiteliais destas 3 porções do folículo é distinta, pois os queratinócitos infundibulares formam queratina lamelar e os pequenos queratinócitos da região do istmo sintetizam queratina amorfa (Gross, 1992; Scott, 1996).

3.5. Pelos táteis

São encontrados 2 tipos especializados de pelos táteis na pele dos Mamíferos: os pelos sinusais e os pelos tilotríquios (Scott, 1996). Os pêlos sinusais ou vibríssas possuem um seio venoso entre a bainha da raiz externa e a cápsula externa do tecido conjuntivo (Bal, 1996; Hargis, 1998; Scott, 1996). Esse seio divide-se em seio superior (não trabeculado ou anular) e seio inferior (cavernoso ou trabecular) (Scott, 1996). Os seios cavernosos são atravessados por fibras nervosas e existem corpúsculos de Vater-Pacini próximos a eles (Bragulla, 2004). Os pelos tilotríquios estão espalhados pelo corpo e seus folículos estão rodeados por um tecido neurovascular (Hargis, 1998). Cada folículo está associado a um tilotríquio da almofada (corpúsculo de toque ou de Pinkus) (Scott, 1996). As fibras nervosas que rodeiam esses folículos interagem com as células de Merkel (Banks, 1992).

3.6. Ciclo do pelo

A atividade cíclica dos folículos pilosos e consequentemente a troca periódica de pelos é um mecanismo pelo qual a pelagem se pode adaptar às diferentes épocas do ano (Bragulla, 2004; Hargis, 1998). Esse mecanismo é regulado pelo fotoperíodo através do eixo pineal-hipotálamo-hipofisário (Bragulla, 2004). Os pelos não crescem continuamente, mas sim em ciclos sendo que cada ciclo é

dividido em 3 períodos: anagénico, catagénico e telogénico (Banks, 1992). O período anagénico, é a fase em que o folículo está a produzir pelo ativamente, o período telogénico é aquele em que o pelo morto fica retido no folículo e depois é destacado (Hargis, 1998). O período de transição que está entre estes 2 estágios é chamado catagénico (Banks, 1992). A duração das fases de crescimento do pelo varia com a idade, raça, sexo e região corporal de localização. A substituição do pelo no cão e no gato segue um padrão, caracterizado por apresentar uma taxa de crescimento máxima no verão e mínima no inverno, com exceção dos animais expostos à luz artificial (Scott, 1996). Acredita-se que algumas raças de cães de pelo longo tenham os seus folículos sempre em período anagénico (Gross, 1992). O pelo cresce até atingir o comprimento pré-determinado geneticamente; a partir daí entra na fase de repouso, a qual pode durar tempo indeterminado. Durante a fase anagénica, a atividade do bulbo piloso é acentuada. As novas células produzidas por mitose são incorporadas ao pelo tornando-o mais longo. No momento em que ocorrer a constrição do bulbo do pelo e o pelo fica “aglomerado” dá-se o início da fase catagénica. A partir do momento em que o folículo distal fica espesso o pelo é empurrado para fora. Essa porção mais dilatada é chamada bulbo claviforme e está fundida ao cilindro do pelo. Toda essa estrutura migra para o nível das glândulas sebáceas. Na fase telogénica, a papila dérmica separa-se e um filamento epitelial encurta-se para formar o germe secundário. Após o final desse estágio de descanso, o germe secundário cresce para baixo, envolve a papila e forma um novo bulbo piloso, sendo este fenómeno chamado de erupção (Banks, 1992).

3.7. Glândulas sebáceas

As glândulas sebáceas são holócrinas (Banks, 1992; Hargis, 1998; Scott, 1996), ou seja, as células que as compõem morrem para poder eliminar o produto de sua secreção armazenado dentro do citoplasma (Scott, 1996). Essas glândulas são alveolares, simples ou ramificadas, abrindo-se num ducto para dentro do folículo piloso na altura do infundíbulo (Bal, 1992; Banks, 1992; Bragulla, 2004; Hargi, 1998; Sisson, 1977). As glândulas sebáceas estão distribuídas por toda a pele com pelos, mas são maiores e mais numerosas nas junções mucocutâneas, nos espaços interdigitais, na face dorsal do pescoço, na região mentoniana (órgão submentoniano) e na face dorsal da cauda (glândulas da cauda) (Scott; 1996). Os lóbulos sebáceos são envolvidos externamente pela membrana basal e por uma única camada de células basais, chamadas células de reserva (Gross, 1992).

3.8. Glândulas sudoríparas

Existem 2 tipos de glândulas sudoríparas: as apócrinas ou epitriquiaias e as écrinas ou atriquiaias (Bal, 1996; Banks, 1992; Scott, 1996). O termo apócrino, refere-se ao fato de que a célula segrega parte do seu citoplasma por um processo denominado de decapitação apical; o termo écrino, significa que a célula não segrega parte de seu citoplasma junto com o produto de sua secreção. Como o próprio nome diz, as glândulas epitriquiaias distribuem-se por toda a pele com pelos, já as glândulas atriquiaias são encontradas apenas nas almofadas (Bal, 1996). As glândulas apócrinas localizam-se abaixo das glândulas sebáceas e abrem-se para dentro do folículo piloso ao nível do infundíbulo (Bal, 1996;

Banks, 1992; Bragulla, 2004; Sisson, 1977). Elas são maiores e mais numerosas perto das junções mucocutâneas, nos espaços interdigitais e na superfície dorsal do pescoço e da coxa (Scott, 1996). Essas glândulas consistem de uma única fileira de células epiteliais colunares circundadas por uma única camada de células mioepiteliais fusiformes (Bal, 1996; Banks, 1992; Hargis, 1998). O seu ducto excretor possui duas camadas de células cuboides (Bal, 1996; Banks, 1992) e tem a função odorífera. As glândulas écrinas são pequenas e localizadas na derme profunda, são constituídas por camadas de células mioepiteliais fusiformes e células glandulares (Scott, 1996) e o seu ducto excretor é composto de uma dupla camada de células epiteliais cuboides, abrindo-se diretamente na superfície das almofadas (Bal, 1996; Bragulla, 2004). Tem a função de secreção de suor e participam da termorregulação corporal.

3.9. Glândulas especializadas

As glândulas especializadas que ocorrem na pele dos cães são originárias das glândulas sudoríparas apócrinas ou das glândulas sebáceas (Bragulla, 2004). Histologicamente, estas glândulas são muito semelhantes às glândulas de onde derivam, diferindo em alguns casos, apenas ultraestruturalmente ou pelo produto de sua secreção (Banks, 1992). Dentre essas glândulas, destacam-se: as glândulas hepatóides, as dos sacos anais, as anais, as ceruminosas, as de *Meibom* e as da cauda (Banks, 1992; Scott, 1996). Com exceção das glândulas hepatóides, todas as outras também são descritas em gatos (Gross, 1992; Wilkinson, 1996). Além disso, os gatos possuem um acúmulo de glândulas modificadas na região mentoniana que constituem o chamado órgão submentoniano (Banks, 1992). As glândulas hepatóides, também chamadas circum-anais ou perianais, são glândulas sebáceas modificadas encontradas apenas em cães (Bragulla, 2004; Hargis, 1998). Estas glândulas estão localizadas principalmente ao redor do ânus (Banks, 1992). A expressão glândula hepatóide, advém do fato das células sebáceas modificadas presentes nesta glândula serem muito semelhantes aos hepatócitos ao microscópio de luz (Hargis, 1998; Banks, 1992). Embora a localização circum-anal seja a prevalente, as glândulas hepatóides também ocorrem na base da cauda, no flanco, no prepúcio, nas coxas, na região lombossagrada dorsal, no tórax e na virilha (Burrows & Ellison, 1992; Hargis, 1998, Jones, 2000; Wilkinson, 1996). Ocasionalmente, estas glândulas podem ser encontradas em outras localizações (Goldschmidt, 2002), como a cabeça e as extremidades (Gross, 1992). Os sacos anais, também denominados de seios perianais ou seios paranais, são invaginações cutâneas localizadas bilateralmente à porção final do reto (Banks, 1992; Bragulla, 2004; Mackeever, 1993), entre os esfíncteres interno e externo do ânus (Hargis, 1998). Esses divertículos são vistos no cão, no gato e em muitos roedores (Banks, 1992). Os sacos anais são revestidos por epitélio pavimentoso estratificado queratinizado e possuem glândulas que se abrem em seu interior, denominadas glândulas dos sacos anais ou glândulas dos seios paranais (Bragulla, 2004). Nos cães, essas glândulas são sudoríparas apócrinas, já nos gatos são sudoríparas apócrinas e sebáceas (Banks, 1992; Hargis, 1998). Os sacos anais possuem um ducto excretor em cada um do lado do ânus (Banks, 1992), sendo que o produto de secreção dessas glândulas em conjunto com células descamadas fica armazenado dentro dos sacos e é

libertado inteiramente durante a defecação ou voluntariamente através da contração do músculo esfíncter externo do ânus (Bragulla, 2004). As glândulas anais, que estão presentes no cão, no gato e no suíno, são glândulas sudoríparas apócrinas modificadas que se abrem no ânus. Segregam um material lipídico nos carnívoros e mucóide no porco (Banks, 1992). As glândulas ceruminosas ou do conduto auditivo externo, são glândulas sudoríparas apócrinas modificadas (Hargis, 1998) que ocorrem em toda a extensão do conduto auditivo e são responsáveis pela produção do cerúmen (Bragulla, 2004). As glândulas de *Meibom* também chamadas de tarsais, são glândulas sebáceas modificadas e localizadas na superfície interna das pálpebras. São holócrinas e produzem uma secreção viscosa e oleosa que é transportada por um ducto para a margem da pálpebra. Histologicamente, as glândulas de *Meibom* são indênticas às sebáceas localizadas em outras regiões da pele. Outras glândulas especializadas vistas nas pálpebras, mais especificamente ao nível dos cílios são as glândulas de *Zeiss* e as de *Moll*. As primeiras são glândulas sebáceas modificadas e as segundas glândulas sudoríparas apócrinas com configuração anatômica distinta (Banks, 1992). A glândula da cauda, também denominada supracaudal ou uropígia, é uma glândula sebácea especializada presente na cauda do cão e do gato (Banks, 1992; Bragulla, 2004). No cão, essa glândula é pequena, bem circunscrita e ocorre apenas na base da cauda, aproximadamente 2,5 a 5,0 cm distalmente ao ânus (Banks, 1992). Nessa área são vistos folículos pilosos simples e numerosas glândulas sebáceas e hepatóides. No gato, a glândula da cauda estende-se por toda a superfície dorsal da cauda, sendo também denominada de órgão supracaudal ou órgão dorsal da cauda (Banks, 1992; Bragulla, 2004).

3.10. Músculos eretores do pelo

Os músculos eretores do pelo são músculos lisos que se originam na derme superficial e se ligam no folículo piloso primário (Scott, 2002). Esses músculos respondem à liberação de adrenalina, contraindo-se e causando piloereção e esvaziamento das glândulas sebáceas (Banks, 1992; Scott, 2002). Acredita-se que a função principal do músculo eretor do pelo seja contribuir para os mecanismos de defesa dos carnívoros, já que ao elevarem os pelos tornam o animal com um maior volume frente ao seu adversário (Klemm, 1996). Além disso, sabe-se que a piloereção auxilia na termo-regulação. Estes músculos estão presentes em toda a pele com pelos e são maiores na face dorsal do pescoço e da coxa (Scott, 2002).

3.11. Vasos sanguíneos, linfáticos e nervos

Existem 3 plexos intercomunicantes de artérias e veias na pele dos cães (Banks, 1992; Bragulla, 2004; Hargis, 1998; Jones, 2000; Scott, 2002). São eles: plexo venoso profundo da derme (encontrado na interface entre a derme e a hipoderme), plexo venoso subpapilar profundo (encontrado entre a derme superficial e profunda) e o plexo venoso subpapilar superficial (encontrado entre a derme superficial e a epiderme) (Bragulla, 2004). A microcirculação da pele é composta por 3 segmentos: arteríolas, capilares arteriais e venosos e vénulas. As arteríolas consistem em células endoteliais rodeadas por duas camadas de músculo liso e o mais provável é que funcionem como parte dos vasos de resistência

da pele. Os capilares arteriais e venosos carecem de células circundantes de músculo liso. A maior parte dos vasos da derme superficial são vénulas pós-capilares, que representam o segmento mais reativo, do ponto de vista fisiológico, da microcirculação, e também são os sítios através dos quais as células inflamatórias migram do espaço vascular para os tecidos. As células endoteliais dos vasos sanguíneos são de origem mesenquimatosa e caracterizam-se: 1) ultraestruturalmente por uma membrana basal periférica e pelos corpos intracitoplasmáticos de Weibel-Palade (estruturas tubulares em forma de bastão envolvidas em uma membrana única contínua); 2) por possuir antígenos do fator VIII, ativadores do plasminogénio e prostaglandinas; 3) por possuir CD31 (molécula de aderência de plaquetas às células endoteliais) e por algumas delas serem fagocíticas. As células endoteliais encontram-se localizadas estrategicamente entre os compartimentos intravascular e tecidual, e funcionam como reguladores do trânsito de leucócitos. As selectinas e os membros do grupo das imunoglobulinas são reguladas positivamente nas células endoteliais diante a um estímulo inflamatório e são mediadores da aderência e migração dos leucócitos da corrente circulatória para os tecidos. Os vasos linfáticos da pele drenam para o plexo linfático subcutâneo (Bragulla, 2004; Hargis, 1998; Scot, 1996) e diferenciam-se dos vasos sanguíneos por terem a luz mais ampla e angular. Possuem, assim como os vasos sanguíneos, células endoteliais achatadas mas estas são mais delgadas nos vasos linfáticos e estes não contêm sangue (Gross, 1992). As fibras nervosas sensoriais estão associadas aos vasos sanguíneos, tilotríquios das almofadas, corpúsculos de Vater-Pacini e corpúsculos de Meissner), às glândulas sebáceas, aos folículos pilosos e aos músculos eretores do pelo (Scott, 1996). As áreas da pele supridas pelos ramos de um nervo espinhal são conhecidas como dermatomo (Hargis, 1998).

3.12. Melanócitos

Os melanoblastos têm origem na crista neural (Bal, 1996, & Hargis, 1998) e durante o desenvolvimento embrionário e fetal migram para a epiderme e bulbo piloso (Gordschmidt, 2002; Jones, 2000; Pulley, 1990). As células maduras que produzem pigmento são chamadas de melanócitos (Gordschmidt, 2002; Pulley, 1990). Essas células que possuem prolongamentos são encontradas entre os queratinócitos basais da epiderme e do bulbo piloso (Bal, 1996, Gordschmidt, 2002; Pulley 1990). Em média há um melanócito para cada 10 a 20 células basais (Pulley, 1990; Scott, 1996). Em humanos, cada melanócito corresponde a 36 queratinócitos (Bal, 1996; Hargis, 2002). A melanina produzida pelos melanócitos é armazenada dentro de pequenos grânulos (melanosomas) (Bal, 1996; Gordschmidt, 2002; Hargis, 2002; Scott, 1996) e transferida para os queratinócitos, por meio de um processo conhecido como citocrinia (Gordschmidt, 2002). Os melanosomas acumulam-se dentro do citoplasma dos queratinócitos, principalmente ao redor do núcleo onde protegem a pele dos efeitos nocivos da radiação ultravioleta (Bal, 1996; Banks, 1992; Bragulla, 2004; Gordschmidt, 2002; Hargis, 1998). Na derme, uma segunda população de células contendo melanina, os melanófagos, pode ser encontrada. Estas células fagocitam a melanina que chegou à derme secundariamente à destruição dos melanócitos epidérmicos ou foliculares (Gordschmidt, 2002; Pulley, 1990). A melanina é um

pigmento castanho escuro ou preto, produzido pelos melanócitos a partir do aminoácido tirosina (Harrist, 2002; Scott, 1996). O termo melanina vem do grego *melas*, que significa preto (Jones, 2000). O mecanismo bioquímico exato pelo qual a melanina é produzida foi descrito, sabendo-se que há a necessidade da ação da enzima tirosinase (Pulley, 1990; Scott, 1996), que utiliza o cobre como coenzima nas suas reações (Scott, 1996). O pigmento melanina é particularmente importante na pele, pois protege as células, mais propriamente os núcleos, impedindo a entrada dos raios ultravioletas do sol (Bal, 1996; Banks, 1992; Bragulla, 2004; Gordschimdt, 2002; Hargis, 1998; Harrist, 2002; Murphy, 2000; Pulley, 1990).

4. CICATRIZAÇÃO

A cicatrização cutânea envolve a interação controlada via fatores de crescimento ou citocinas e de uma variedade de elementos sanguíneos, incluindo plaquetas, neutrófilos, monócitos, linfócitos e de células locais da derme (incluindo mastócitos, macrófagos, fibroblastos, perícitos e células endoteliais) (Dyson, 1997). As plaquetas iniciam a cicatrização através da libertação de citocinas e alguns fatores de crescimento essenciais. De seguida, os eventos de cicatrização são sustentados e modificados pelos macrófagos, células endoteliais e fibroblastos da região da ferida (Hosgood, 2006). A cicatrização é dividida em fases baseadas nas características macroscópicas apresentadas, sendo estas iniciadas, mediadas e sustentadas por um conjunto de eventos bioquímicos complexos que tem como mediadores citocinas e fatores de crescimento. O reconhecimento destas fases com base nas características microscópicas permite ao clínico fazer uma associação entre os eventos microscópicos e bioquímicos, e o conhecimento destes eventos direciona o maneio apropriado da ferida (Hosgood, 2006). As fases da cicatrização são processos interligados, sendo possível haver um agente terapêutico que acelere uma fase, contudo causa a inibição de outra (Fahie & Shettko, 2007). Segundo Liptak (1997), Dyson (1997), Pavletic (2010) e Schremi et al. (2010), a cicatrização pode ser dividida em 3 fases que se sobrepõem: fase inflamatória; fase proliferativa ou de reparação; e fase de maturação ou de remodelamento. A fase inflamatória é iniciada pelo ferimento e as fases subsequentes são dependentes de cada fase anterior.

4.1. Fase inflamatória

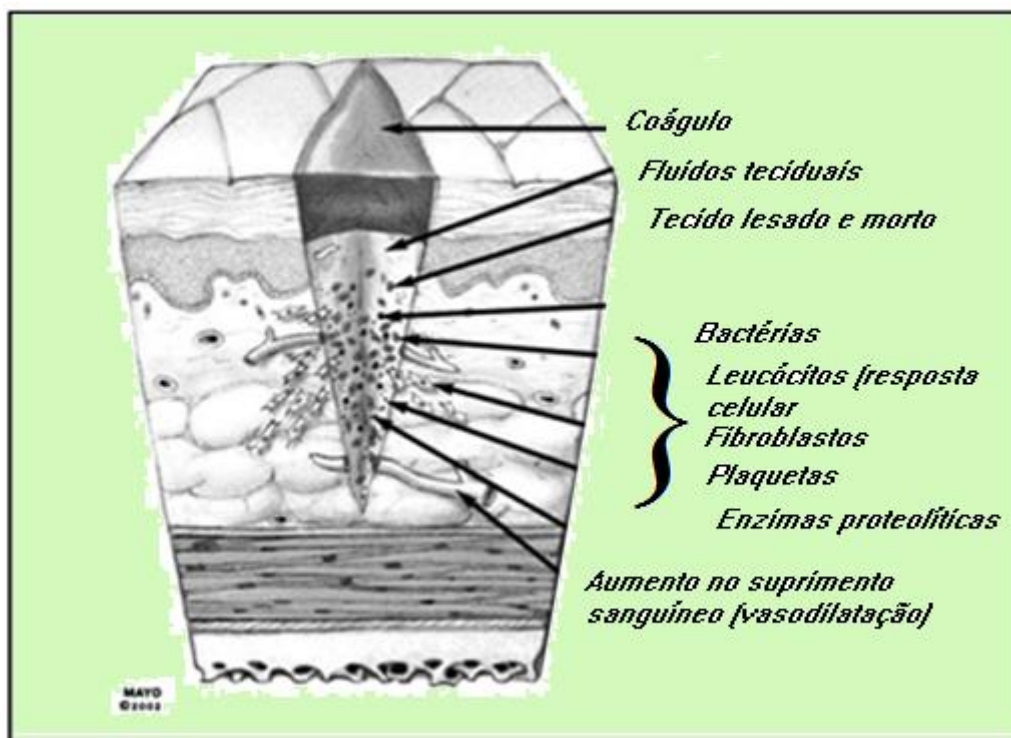
De um modo geral, as lesões cutâneas que se estendem desde a epiderme até à derme causam rutura nos vasos e extravasamento de sangue e linfa (Dyson, 1997). Em seguida surgem componentes vasoativos como as catecolaminas, serotonina, bradicinina e histamina que medeiam a vasoconstrição dos vasos sanguíneos lesionados com o objetivo de minimizar a hemorragia (Hosgood, 2006). Esta vasoconstrição tem a duração de 5 a 10 minutos, e é seguida por uma vasodilatação que permite a passagem de células e fluído através das paredes dos capilares sanguíneos para o espaço extravascular, diluindo as substâncias tóxicas e favorecendo a diapedese leucocitária (Slatter, 1998; Hosgood, 2006; Hedlund, 2007; Beheregaray, 2009; Pavletic, 2010). O aumento da permeabilidade vascular é causado pela histamina, contudo, a serotonina e outras cininas também estão envolvidas. A principal fonte de

histamina são os mastócitos, no entanto, ela também é encontrada nas plaquetas. De igual modo a serotonina é libertada pelos mastócitos, e as restantes cininas são libertadas a partir da proteína α -globulina do plasma. A ação destas aminas resulta numa tumefação de curta duração do endotélio vascular, o que cria intervalos entre estas células. O plasma que extravasa das vénulas veicula o fibrinogénio e outros elementos coagulantes para a formação de um coágulo de fibrina (Slatter, 1998). A agregação plaquetária e a coagulação sanguínea produzem um coágulo que sela os vasos seccionados, impedindo o extravasamento sanguíneo adicional (Dyson, 1997). O coágulo, formado por plaquetas, fibrina, eritrócitos e leucócitos (Beheregaray, 2009), também é responsável por estabilizar as margens da ferida e fornecer-lhe uma resistência mínima (Hosgood, 2006). A adesão inicial das plaquetas na superfície lesionada dos capilares ocorre pela ação das proteínas de adesão presentes nas suas membranas. As principais são os recetores da glicoproteína IIb/IIIa (GP IIb/IIIa), os quais possuem locais de ligação para o fibrinogénio, fator de Von Willebrand, vitronectina, fibronectina e trombospondina. O colagénio subendotelial exposto pela rutura do vaso, e a trombina gerada pelos processos de coagulação, são fortes agonistas da ativação e agregação plaquetárias. Além disso, a plaqueta ativada aumenta a ação da protrombinase, que promove maior produção da trombina a partir da protrombina, criando assim, condições para a amplificação da adesão plaquetária. O ADP libertado das plaquetas e os grânulos densos das próprias plaquetas é outro elemento amplificador da agregação das plaquetas, induzindo nelas a exposição do recetor GP IIb/IIIa ao fibrinogénio e fator de Von Willebrand. Também contribuindo para a agregação plaquetária, surge o ácido araquidónico da membrana das plaquetas em processo de agregação, que é convertido em tromboxano A₂ (TxA₂) pelas enzimas cicloxigenase e tromboxano-sintetase. O TxA₂, além de forte agonista da agregação plaquetária, é um potente vasoconstritor e assim como o ADP, também induz a exposição dos locais de ligação da GP IIb/IIIa ao fibrinogénio e fator de Von Willebrand. Outro importante derivado do ácido araquidónico, que é libertado por macrófagos e mastócitos, plaquetas e outras células ativadas, é o fator ativador plaquetário. Este é um ativador importante de plaquetas e indutor da sua agregação. Como agonistas da agregação plaquetária, podem também ser citadas a noradrenalina e a serotonina. Esses mediadores estimulam diferentes cascatas de ativação plaquetária, porém, a via final comum a todos é a ativação do recetor da GP IIb/IIIa que pela interação com o fator de Von Willebrand e o fibrinogénio é o efetor final da agregação e ativação plaquetárias (Balbino et al., 2005). As plaquetas, além de participarem na formação do coágulo, também segregam citocinas como o fator de crescimento derivado de plaquetas (*platelet derived growth factor* – PDGF), fator de crescimento transformador α (*transforming growth factor- α* – TGF- α) e o fator de crescimento transformador β (*transforming growth factor- β* – TGF- β), os quais promovem a formação tecidual. As plaquetas também segregam mediadores vasoativos e fatores quimiotáticos para o recrutamento de mais leucócitos. Além disso, a cascata de coagulação gera agentes pró-inflamatórios incluindo as anafilotoxinas C3a e C5a, as quais aumentam a permeabilidade vascular atraindo mais neutrófilos e monócitos para o sítio da ferida (Dyson, 1997; Pavletic, 2010). A fibronectina no interior do coágulo, na presença do fator de ativação XIII, liga-se covalentemente entre si e com a fibrina, formando uma

matriz extracelular provisória que possui muitos locais de ligação para moléculas adesivas presentes nas membranas das células que estão em migração (Hosgood, 2006). As células migratórias incluem neutrófilos, linfócitos, monócitos, fibroblastos, células endoteliais e pericitos, sendo que as células de origem sanguínea utilizam moléculas adesivas para interagir com o endotélio adjacente à ferida, para passar entre as células endoteliais por diapedese e migrar para a matriz provisória fornecida pelo coágulo ao longo dos gradientes quimiotáticos (Dyson, 1997). A migração das células é dependente da formação dos recetores de integrina na superfície de cada célula. Os recetores de integrina reconhecem e ligam-se à estrutura molecular da fibrina, fibronectina e vitronectina, sendo que mais tarde, enzimas proteolíticas (proteases) atuam na remoção destas proteínas na preparação para a fase proliferativa. As duas maiores classes de proteases da matriz extracelular incluem proteases de serina e metaloproteinases da matriz (*matix metalloproteinases* – MMPs, que requerem cálcio e zinco para sua ativação) e os seus inibidores (antiproteases) incluem, inibidores de proteases de serina (serpinas) e inibidores teciduais da metaloproteinase da matriz (*tissue inhibitor of matrix metalloproteinase* – TIMP). Os inibidores de proteases ligam-se diretamente à enzima proteolítica para bloquear a sua atividade. Portanto, a cicatrização normal de feridas envolve o balanço adequado entre enzimas proteolíticas e os seus inibidores (Pavletic, 2010). Dentro de 30 a 60 minutos após o ferimento, os leucócitos aderem ao endotélio dos vasos na área da lesão (marginação). Fendas entre as células endoteliais permitem a fuga de macromoléculas, incluindo proteínas plasmáticas, complemento, anticorpos, água, eletrólitos e substâncias humorais circulantes. Histamina, serotonina e cininas liberadas primeiramente pelos mastócitos atuam no lado venoso de ansas capilares de 20 a 30 micra de diâmetro, resultando na separação dos contatos entre as células endoteliais e permitindo a passagem de componentes sanguíneos do lúmen vascular (Pavletic, 2010). Os leucócitos passam através da membrana basal dos vasos sanguíneos por um fenómeno de diapedese. As células endoteliais apresentam sua superfície recetores (selectinas) que auxiliam na aderência dos neutrófilos ao endotélio, enquanto que os recetores de integrina na superfície dos neutrófilos auxiliam na ligação destes com a matriz extracelular. Neutrófilos e monócitos migram para a lesão na mesma proporção em que são encontrados no sangue, portanto os neutrófilos estão sempre em maior número devido à sua abundância na circulação (Hosgood, 2006; Pavletic, 2010). A interleucina-1 (IL-1), fatores do complemento, fator de necrose tumoral (*tumor necrosis factor* – TNF), PDGF, TGF- β , fator plaquetário IV, fibrinopeptídeos, produtos da degradação da fibrina e produtos bacterianos, atuam sempre como substâncias quimiotáticas para atração de mais neutrófilos à lesão, os quais libertam proteinases para degradar o tecido necrótico e atrair mais neutrófilos ao local para destruir as bactérias contaminantes, por fagocitose seguida por um ataque de radicais livres de oxigénio e enzimas lisossomais. Entretanto, os neutrófilos não são essenciais para o processo de cicatrização e na ausência de uma nova invasão bacteriana, há a redução do número destas células na ferida. O principal fator da diminuição do número de neutrófilos é que estas células não podem renovar o seu “stock” enzimático, morrendo após a fagocitose e destruição das bactérias (Dyson, 1997; Hosgood, 2006; Pavletic, 2010). Os monócitos são essenciais para a cicatrização do ferimento e têm sua migração estimulada por

PDGF, fragmentos de colagénio, elastina, fibronectina, trombina enzimaticamente ativa e TGF- β , tornando-se em macrófagos após a penetração na lesão e ativação. São importantes fontes de fatores de crescimento e responsáveis por fagocitar os neutrófilos que entram em morte celular programada (apoptose) durante a cicatrização. Os monócitos podem unir-se e formar células gigantes multinucleadas, que também tem funções fagocíticas, ou também podem evoluir para células epitelióides e histiócitos. Os macrófagos são capazes de sobreviver num meio anaeróbio, removendo bactérias e restos de tecido por fagocitose. Estas células são responsáveis pela produção de muitos mediadores que regulam a cicatrização, como fator de crescimento fibroblástico (*fibroblast growth factor* – FGF), fator de crescimento epidérmico (*epidermal growth factor* – EGF), TGF- α , TGF- β , TNF, interleucinas e MMPs e seus inibidores teciduais (TIMPs). Também libertam proteases (colagenase, elastase e ativador de plasminogénio), que facilitam a limpeza da lesão, e ainda lactato, que estimula a fibroplasia. Os fatores de crescimento derivados de macrófagos são essenciais para o início da formação e crescimento do novo tecido, incluindo a fibroplasia e a angiogénese. A presença dos macrófagos no início da cicatrização é importante para a limpeza da ferida devido à sua capacidade fagocítica e sua presença no final da cicatrização juntamente com os neutrófilos, é importante para a modificação da matriz extracelular provisória no tecido de granulação (Hosgood, 2006; Pavletic, 2010). Portanto, o término dos macrófagos na ferida é seguido não somente por um bloqueio na limpeza da ferida, mas também um retardamento no recrutamento e proliferação dos fibroblastos e produção da matriz por essas e outras células (Dyson, 1997). Os sinais da inflamação são rubor, edema, aumento de temperatura e dor no local da lesão e resultam da vasodilatação, saída de fluido e obstrução dos vasos linfáticos. A fibrina formada na área da ferida pode bloquear estes vasos e elevar a retenção de fluídos neste local. A dor no local da inflamação é o resultado da ação da pressão e da estimulação química das terminações nervosas. O pH do meio baixa devido ao comprometimento circulatório, devido a um acúmulo de ácido láctico no local. Durante a inflamação é produzida uma combinação de fluído tecidual, neutrófilos degenerados e mortos e substâncias albuminosas que constituem um exsudato (Pavletic, 2010). A inflamação pode tornar-se crónica caso o agente causador do ferimento persista ou apresente recorrência, e neste caso o ferimento original aumenta em extensão, sendo a sua cicatrização impedida ou pode ser potenciada com a ocorrência de fibrose excessiva (Dyson, 1997). Nesta fase inflamatória é ideal que se realize a redução da contaminação da ferida através da limpeza e desbridamento adequados, visando favorecer as defesas do paciente e a prevenir o desenvolvimento de uma infeção. Também é necessária a proteção da ferida para prevenir possíveis novas contaminações, assim como a aplicação de antimicrobianos de ação sistémica. A aplicação local de pensos apropriados, possibilita a elevação do desbridamento natural e facilita a cicatrização, pois mantém o exsudato rico em mediadores na superfície da ferida (Hosgood, 2006). A fase inflamatória (Figura 4) tem início logo após a lesão e dura cerca de 5 dias (Hedlund, 2007; Pavletic, 2010).

Figura 4: Desenho esquemático de uma lesão durante a fase inflamatória, demonstrando a vasodilatação que permite a passagem dos leucócitos para combater as bactérias contaminantes da ferida.



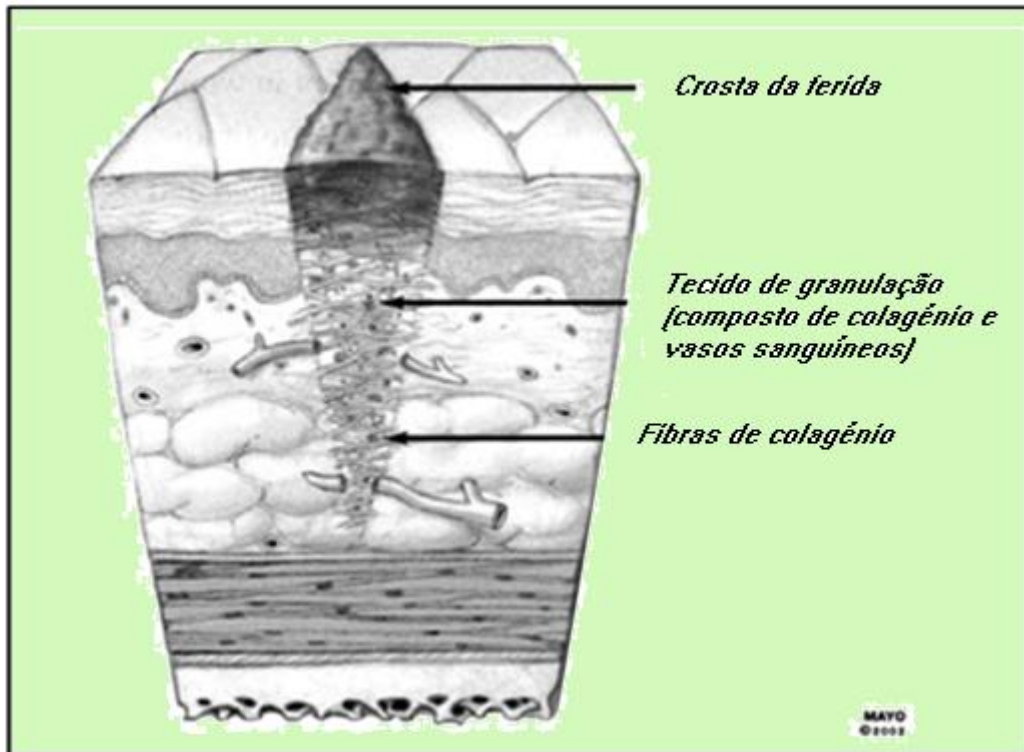
Fonte: Adaptado de Fahie & Shettko (2007)

4.2. Fase proliferativa ou de reparação

A transição da fase inflamatória para a fase proliferativa é caracterizada pela invasão de fibroblastos, pela acumulação progressiva de colagénio e pela migração de células mesenquimatosas que formam estruturas endoteliais novas no interior da ferida. Durante a fase proliferativa (Figura 5) ocorrem os processos de angiogénese, fibroplasia, epitelização e retração da ferida, correspondendo a um período de tempo entre 5 e 20 dias após a lesão (Hosgood, 2006; Pavletic, 2010). O tecido de granulação é um tecido conjuntivo laxo e bem vascularizado (Dyson, 1997) que preenche a lesão abaixo da crosta ou do penso, e é formado pela combinação de novos capilares, fibroblastos e fibras de colagénio (Hosgood, 2006). O termo “tecido de granulação” deve-se à aparência granular que apresenta (Pavletic, 2010), sendo edematoso e caracterizado pela presença de muitos espaços vazios, devido à imaturidade de seus vasos, os quais são extremamente transudativos e sangram com facilidade (Balbino et al., 2005). Este tecido protege a ferida, fornecendo uma barreira contra infeções, uma superfície para a epitelização e ainda contém os miofibroblastos, que são fibroblastos especializados importantes para a contração ou retração da ferida (Hosgood, 2006). O tecido de granulação também apresenta macrófagos que debridam a ferida e fornecem citocinas necessárias para estimular a atividade dos fibroblastos e a angiogénese. Os macrófagos estimulam o ácido desoxirribonucléico (DNA) e a proliferação dos fibroblastos (Hedlund, 2007), os quais segregam citocinas e produzem a nova matriz extracelular necessária para sustentar a migração celular posterior, que provocará a substituição da matriz provisória formada pelo coágulo. Outras células presentes no tecido de granulação são as

células endoteliais que, juntamente com os pericitos, formam os capilares responsáveis por transportar os metabólitos necessários para sustentar a atividade dos macrófagos, fibroblastos e outras células presentes na ferida (Dyson, 1997). A utilização dos pensos corretamente realizados durante esta fase mantém a superfície da ferida húmida e facilita a formação do tecido de granulação e a epitelização (Hosgood, 2006).

Figura 5: Desenho esquemático de uma lesão durante a fase proliferativa quando ocorre a formação do tecido de granulação.



Fonte: Adaptado de Fahie & Shettko (2007)

4.2.1. Angiogénese

A angiogénese é o crescimento de novos capilares na área da ferida (Dyson, 1997; Hosgood, 2006; Pavletic, 2010). A fase inicial desse processo envolve a libertação de colagenase pelas células endoteliais dos capilares intactos ou recentemente lesados. Esta enzima é libertada em resposta aos fatores angiogénicos e degrada o colagénio da membrana basal dos capilares. Após a fragmentação da membrana basal, as células endoteliais migram para o espaço perivascular da derme adjacente à ferida, formando brotamentos que crescem rapidamente em direção à superfície livre do tecido de granulação, onde eles se ramificam, se unem e formam canais que correspondem ao plexo capilar superficial (Dyson, 1997). As células endoteliais destes novos capilares contêm um ativador do plasminogénio. Assim, à medida que os novos capilares vão crescendo num ferimento imediatamente atrás dos fibroblastos em migração, ocorre a fibrinólise e a rede de fibrina rompe-se e é removida. Os estímulos mais prováveis para a angiogénese são os fatores mitogénicos e quimiotáticos produzidos pelos macrófagos, como FGF, fator de crescimento endotelial vascular (*vascular endothelial growth factor* –

VEGF), TGF- β , angiogenina, angiotropina, angiopectina 1 e trombospondina. A baixa tensão de oxigénio e o aumento de ácido láctico na ferida, também são estímulos para a angiogénese através dos efeitos causados na produção dos mediadores. Os novos capilares aumentam a tensão de oxigénio na ferida, o que aumenta a fibroplasia e a atividade mitótica das células mesenquimatosas adjacentes à medida que o sangue começa a fluir. Conforme a cicatrização da ferida progride, os novos capilares entram em apoptose e a coloração da ferida, anteriormente caracterizada pelo vermelho-vivo do tecido de granulação torna-se mais pálida (Hosgood, 2006; Hedlund, 2007).

4.2.2. Fibroplasia

Fibroplasia é a síntese de fibras colagénicas a partir dos fibroblastos. Ela ocorre nos tecidos de granulação e é observada também em alguns tumores malignos epiteliais. As citocinas (PDGF, TGF- β e FGF) e a matriz provisória estimulam a proliferação de fibroblastos, que se diferenciam de células mesenquimatosas indiferenciadas no tecido conjuntivo circundante. Os fibroblastos migram para o interior da lesão, à medida que a fase inflamatória diminui, através da ligação de seus receptores de integrina com fibrina ou outros filamentos protéicos e através do esqueleto formado pela ligação entre as moléculas de fibrina. Durante a sua migração, os fibroblastos são seguidos pelo aparecimento de novos capilares. As ligações de integrina irão anular-se e refazer-se ao longo do trajeto do fibroblasto, que também liberta enzimas proteolíticas para facilitar a sua migração através dos filamentos de fibrina. Após a migração para o interior da ferida, os fibroblastos segregam uma grande quantidade de fibronectina, formando uma matriz extracelular frouxa (Hedlund, 2007; Pavletic, 2010). De acordo com Hedlund (2007), além da produção de fibronectina estimulada pelo TGF- β , estas células também são responsáveis por sintetizar e depositar colagénio, elastina e proteoglicanas, resultando no amadurecimento do tecido conjuntivo. Os fibroblastos da ferida apresentam uma aparência miofibroblástica característica, possuindo actina que constitui os filamentos contrácteis abundantes e um invólucro nuclear. Possuem ainda as proteínas dos filamentos intermediários, desmina e vimentina (Hosgood, 2006). A matriz extracelular provisória é gradualmente substituída por uma matriz extracelular composta por colagénio. O colagénio do tipo III, que é relativamente abundante em vasos e associado aos capilares do tecido de granulação, é posteriormente substituído pelo colagénio do tipo I, produzido pelos fibroblastos (Hosgood, 2006). A molécula de colagénio é formada por glicina, prolina e outros aminoácidos. Os primeiros são hidroxilados ao serem incorporados na molécula de colagénio pelo fibroblasto. Este processo de hidroxilação enzimática é fundamental na formação do colagénio e requer a presença de oxigénio, ferro, α -cetogluturato e um agente redutor como o ácido ascórbico ou riboflavina ativada pela luz. Se o processo de hidroxilação não for completo, a molécula de colagénio não pode ser excretada para o meio extracelular pelo fibroblasto (Pavletic, 2010). O colagénio é diretamente responsável pela força de tensão na ferida em cicatrização e quanto maior for a concentração de colagénio do tipo I mais madura é a ferida. Um aumento na deposição de colagénio está relacionado com um aumento no número de fibroblastos e um aumento na deposição de colagénio por cada célula. A enzima collagenase é importante para o controlo da deposição de colagénio pois ela

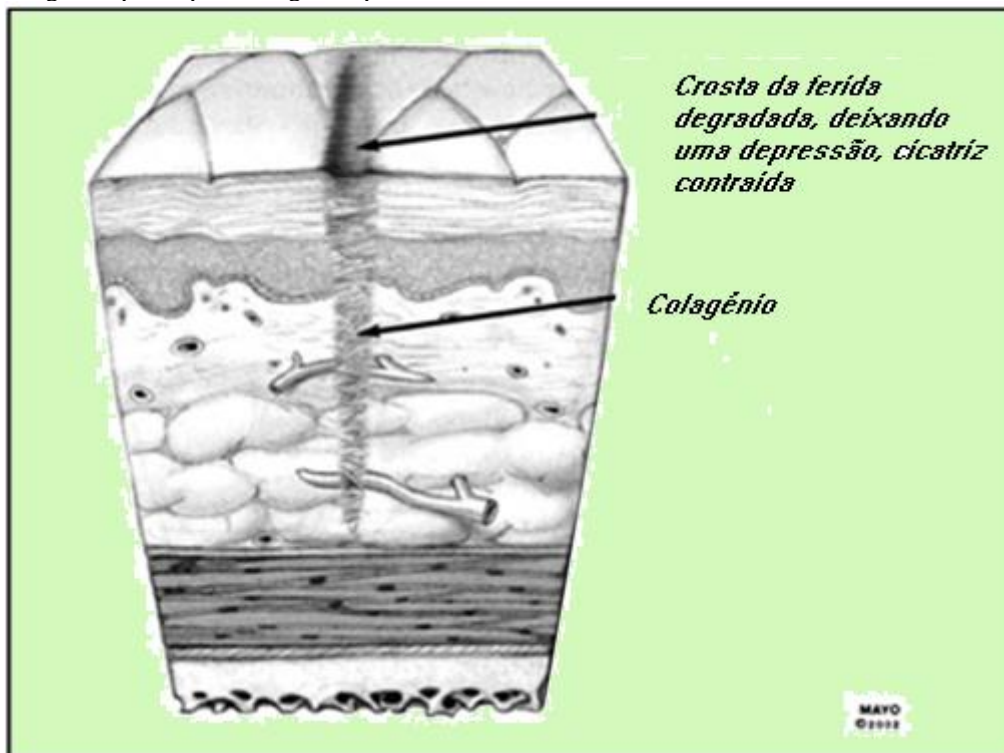
é mediadora da degradação do colagénio que ocorre em ambiente extracelular. Sua atividade é controlada por citocinas libertadas por células inflamatórias, endoteliais, fibroblastos e queratinócitos na ferida (Pavletic, 2010). O término desta fase é caracterizado pelo declínio no número de capilares e fibroblastos e pela grande deposição de colagénio (Pavletic, 2010).

4.2.3. Epitelização

A cicatrização só está completa com a restauração da superfície epitelial (Pavletic, 2010). O epitélio é uma barreira importante contra infeções externas e perdas hídricas internas (Hedlund, 2007). As alterações que iniciam a epitelização ocorrem na epiderme adjacente à ferida poucas horas após o surgimento de agressão (Dyson, 1997). A atividade inicial predominante é a mobilização e migração das células epiteliais na margem da ferida, seguida pela proliferação das células epiteliais subsequentes (Hosgood, 2006). Logo após a lesão, as células epidérmicas sofrem alterações fenotípicas como a retração dos tonofilamentos intracelulares, o desaparecimento da maioria dos desmossomas que proporcionam conexões físicas entre as células, e a formação de filamentos citoplasmáticos de actina localizados na periferia da célula e que permitem o movimento celular. O movimento lateral das células epidérmicas é facilitado pela falta de aderência entre estas e as células dérmicas devido à quebra dos hemidesmossomas entre a epiderme e a membrana basal. Esta quebra é induzida pelas collagenases produzidas pelas células epidérmicas. Os receptores de integrina presentes nas células epidérmicas permitem a interação destas com uma variedade de proteínas da matriz extracelular, incluindo a fibronectina e a vitronectina, as quais se encontram espalhadas na margem da ferida e na matriz extracelular provisória que a preenche (Hosgood, 2006). A migração epitelial, é guiada pelo colagénio (Hedlund, 2007; Pavletic, 2010). O teor de água no leito da lesão aparentemente facilita a migração epitelial, pois feridas com tecidos adequadamente húmidos curam mais rapidamente do que feridas desidratadas (Hanks & Spodnick, 2005). As glicoproteínas hidrossolúveis encontradas na epiderme e que normalmente atuam na inibição da mitose epitelial nos tecidos normais, encontram-se diminuídas nas lesões, permitindo a multiplicação das células epiteliais presentes ao redor das lesões e a sua migração para o tecido de granulação adjacente. Enquanto que as células epiteliais se deslocam, há a libertação de collagenases para facilitar a sua migração abaixo da superfície da crosta, que será posteriormente separada da superfície da ferida devido à ação destas enzimas. O contato entre as células epiteliais em todos os lados, resulta na inibição de migração celular adicional (inibição por contato) (Harari, 1999; Hosgood, 2006; Hedlund, 2007; Pavletic, 2010). Os estímulos para a proliferação e migração das células epidérmicas incluem o EGF, o TGF- α e o fator de crescimento do queratinócito (*keratinocyte growth factor* – KGF) produzido pelas células epiteliais, fibroblastos e macrófagos. Após a epitelização, as células epidérmicas retornam ao seu fenótipo original e aderem firmemente à membrana basal (Hosgood, 2006). O epitélio cicatricial formado é normalmente caracterizado pela sua fragilidade e pouca espessura. A camada epitelial inicial é composta por apenas uma camada de células, mas vai-se espessando gradualmente à medida que novas camadas de células se vão formando. O resultado é a restauração da arquitetura epitelial

escamosa estratificada normal. Em ferimentos suturados, com uma separação mínima na derme, as células epiteliais podem unir as suas margens mais próximas em cerca de 48 h (Hedlund, 2007; Pavletic, 2010). Em ferimentos superficiais, a migração das células epidérmicas ocorre imediatamente após a lesão e a partir das margens da ferida e estruturas anexas, como folículos pilosos e glândulas sudoríparas. Em ferimentos mais profundos, a ferida somente poderá ser coberta pelas células epiteliais a partir das suas margens após a formação adequada do tecido de granulação e as estruturas anexas não serão regeneradas. A pigmentação ocorre devido à mitose e migração dos melanócitos presentes na pele adjacente à ferida para o interior da epiderme em regeneração (Hosgood, 2006).

Figura 6: Maturação da cicatriz, na qual ocorre o remodelamento do tecido conjuntivo pela substituição do colágeno tipo III pelo colágeno tipo I.



Fonte: Adaptado de Fahie & Shettko (2007)

4.2.4. Retração da Ferida

A retração da ferida é o processo pelo qual a pele localizada na periferia da lesão avança de um modo centrípeto, em direção ao centro da lesão (Pavletic, 2010). Para que a retração ocorra é necessária a presença de uma quantidade significativa de fibroblastos e a uma complexa interação de células, da matriz extracelular e ainda de mediadores como o TGF- β 1, TGF- β 2 e PDGF (Hosgood, 2006). Os fibroblastos presentes na ferida adquirem propriedades da célula muscular lisa, assim como as proteínas contráteis (microfilamentos de F-actina). Estes fibroblastos são chamados de miofibroblastos (Pavletic, 2010). As integrinas presentes nos miofibroblastos, ligam estes fibroblastos à rede de fibronectina e às fibrilas de colágeno na matriz extracelular, as quais por sua vez, se interligam dentro do tecido de granulação e da camada dérmica das margens da pele. Estas ligações possibilitam aos

miofibroblastos aplicar uma força de tração na matriz pericelular. Esta força é manifestada assim que os miofibroblastos se alinham com as linhas de contração da ferida. As margens da ferida interligadas ao colágeno, durante a contração da ferida são literalmente arrastadas em direção ao centro do leito de granulação (Pavletic, 2010), o tecido adjacente estica-se e a ferida assume uma aparência estrelada (Hosgood, 2006). A ferida continua contraíndo-se até que as margens se encontrem e ocorra um efeito de resposta de retroalimentação negativa devido ao contato entre as células das extremidades opostas, resultando no encerramento do processo. A retração também cessa quando a tensão do tecido ao redor da ferida iguala ou excede a força de retração (Harari, 1999; Hosgood, 2006), ou se houver falha no desenvolvimento ou função dos miofibroblastos (Hedlund, 2007). Se a retração cessar e a ferida permanecer com tecido de granulação exposto, a epitelização poderá continuar ocorrendo até cobrir o restante da ferida. A retração da ferida também pode ser prejudicada pela administração de anti-inflamatórios, medicamentos antimicrotubulares e aplicação local de relaxantes musculares com ação na musculatura lisa (Hosgood, 2006; Hedlund, 2007). Devido ao estiramento da pele de forma centrípeta, a derme e a epiderme estreitam-se em resposta à tensão. Este processo estimula o crescimento intussusceptivo da pele, que corresponde à proliferação epitelial e à deposição de colágeno dentro da pele, visando a amortecer e reparar áreas cutâneas que se encontram sob tensão significativa (Pavletic, 2010). A contração da ferida deve ser diferenciada do processo patológico conhecido como contratura. Na contratura, a retração da ferida é excessiva resultando na limitação do movimento dos tecidos adjacentes. Este evento pode ser um problema particular nos membros, onde poderá haver limitações na mobilidade de articulações além da atuação como um torniquete natural, causando prejuízo na drenagem venosa da região distal do membro e edema (Hanks & Spodnick, 2005). Do mesmo modo, a retração de feridas nas proximidade de aberturas corporais, como o ânus, podem causar estenose (Slatter, 1998). Conforme a cicatrização progride, o número de miofibroblastos diminui correspondendo no final à redução na retração da ferida (Hosgood, 2006).

4.3. Fase de maturação e remodelamento

A transição da matriz extracelular em cicatriz requer o remodelamento do tecido conjuntivo presente na ferida (Hosgood, 2006). Ocorre então alteração do colágeno, com um equilíbrio entre a deposição e o catabolismo deste, e a substituição do colágeno do tipo III, que gradualmente se reduz, pelo colágeno do tipo I que aumenta. Colagenases específicas (metaloproteínases) produzidas pelos macrófagos, fibroblastos e células epidérmicas degradam os colágenos dos tipos I, II, III, X e XIII e as fibras de colágeno não funcionais presentes na ferida. A deposição do colágeno está diretamente relacionada com a resistência à tração exercida pela ferida (Pavletic, 2010). Durante esta fase, a quantidade de fibronectina e ácido hialurônico da matriz extracelular reduzem-se e a quantidade de proteoglicanos eleva-se. Os proteoglicanos são responsáveis pelo aumento na elasticidade da ferida (Dyson, 1997). Segundo Hosgood (2006) e Pavletic (2010), nas 3 semanas iniciais após a lesão, a cicatriz apresenta 20% da sua força final e nas semanas seguintes o ganho na resistência à tração da pele normal vai aumentar. Esta resistência está associada principalmente ao remodelamento do

colagénio, resultando em grandes feixes deste e ligações intermoleculares com as fibras de colagénio adjacentes. A fase de maturação (Figura 6) e remodelamento inicia-se na fase proliferativa, após 20 dias de lesão, e continua por aproximadamente um ano. Conforme a maturação da lesão, a densa rede de capilares do tecido de granulação saudável declina, assim como sua celularidade devido à apoptose das células. O resultado é a substituição do tecido de granulação pelo tecido cicatricial, concluindo a cicatrização do ferimento. Em feridas crónicas, há o desenvolvimento de uma matriz fibrosa marcada pela deposição de colagénio e uma diminuição na quantidade de capilares (Dyson, 1997; Hosgood, 2006; Pavletic, 2010).

5. O FENÓMENO DA DOR E A SUA AVALIAÇÃO

O carácter subjetivo do fenómeno da dor torna a sua avaliação e quantificação uma etapa delicada e de difícil acesso, sendo isto mais real em Medicina Veterinária, onde a avaliação da dor surge como uma problemática importante associada ao qual pode existir um fracasso ou êxito a nível terapêutico (Hansen, 2003). Atualmente aceita-se a definição proposta pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (AIED), que a define como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a uma lesão tecidual potencial ou real (Viñuela-Fernandez et al, 2002). A experiência da dor é um estímulo negativo para o doente, estando associada a um aumento do nível de stress (o qual induz um certo grau de supressão da imunidade) e da taxa de catabolismo atrasando no período peri-operatório a cicatrização dos tecidos intervencionados e a consequente recuperação do doente (Beilin et al., 2003; Millis, 2006; Paul-Murphy, 2007). O reconhecimento da dor em Medicina Veterinária, exige a observação e interpretação do comportamento apresentado pelos doentes, havendo por isso uma dificuldade elevada para graduar e caracterizar este fenómeno, cuja expressão varia ainda com a idade, espécie, raça e individualidade de cada um dos doentes (Hansen, 2003; Beilin e al., 2003; Taylor & Robertson, 2004; Hellyer et al., 2007; Mich & Hellyer, 2008; Muir & Gaynor, 2008; Murrel et al., 2008; Azevedo, P & Carreira, LM.,2010). Até há pouco tempo, os métodos utilizados na avaliação da dor dos animais servia-se de escalas desenvolvidas para o Homem como por exemplo a Escala Descritiva Simples (EDS), as quais se mostravam ineficazes em Medicina Veterinária, tendo havido a criação de escalas multidimensionais ou compostas que considerassem as características sensoriais e afetivas da dor (Carreira, LM. & Azevedo, P., 2010), como é o caso da Escala de Dor de Melbourne e da Escala Composta de Dor de Glasgow (Hansen, 2003; Robertson, 2004; Mich & Hellyer, 2008,). Surgiu assim um conjunto de escalas específicas para a Medicina Veterinária, sendo a Escala de Dor da Universidade de Melbourne (EDUM) especialmente criada para a avaliação da dor pós-cirúrgica em canídeos e que foi utilizada no presente trabalho. Baseia-se na avaliação de respostas comportamentais e fisiológicas específicas, e inclui várias descrições agrupadas em seis categorias de comportamentos associados com a dor: dados fisiológicos, resposta à palpação, actividade, estado mental, postura e vocalização. As descrições foram elaboradas de modo a que uma resposta sim ou não fosse suficiente, tendo sido atribuída a cada uma um valor que varia entre: 0 = comportamento oposto a sinais de dor; 1 = comportamento que não é oposto a sinais de dor, mas também não é

indicativo de dor; 2 = comportamento indicando dor ligeira ou moderada; 3 = comportamento que indica dor intensa. Este sistema de pontuação permite realçar o peso relativo de certos comportamentos, e a pontuação total mínima de dor obtida é 0 e a máxima total de 27 (Muir & Gaynor, 2008; Azevedo, P. 2010). A *EDUM* obriga a realização de um exame mais sistemático e detalhado e possui mais sensibilidade do que as restantes (Mathews, 2000) (Anexo I).

6. PROTEÍNAS TOTAIS PLASMÁTICAS E ALBUMINA

As principais proteínas plasmáticas são a albumina, as globulinas e o fibrinogénio. Elas estão implicadas em várias funções, tais como a manutenção da pressão osmótica e da viscosidade do sangue, o transporte de nutrientes, metabólitos, hormonas e produtos de excreção, a regulação do pH sanguíneo e a participação na coagulação do sangue. As proteínas sanguíneas são sintetizadas pelo fígado, sendo que a taxa de síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteína e de vitamina A, e com a funcionalidade hepática. As principais causas do aumento das proteínas totais são desidratação, perda de fluídos, infeções, neoplasias, choque, animais geriátricos e amostras hemolisadas. Ao contrário a sua diminuição deve-se principalmente a síndrome de mal-absorção, subnutrição, cirrose hepática, síndrome nefrótica, enteropatia, queimaduras, animais juvenis e hemorragias. A albumina é a proteína mais abundante no plasma, totalizando cerca de 50% do total de proteínas. É sintetizada no fígado e contribui em 80% para a osmolaridade do plasma sanguíneo, constituindo também uma importante reserva protéica, bem como um transportador de ácidos gordos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormonas e bilirrubina. A albumina também tem função importante na regulação do pH sanguíneo, atuando como um anião. O nível de albumina pode ser indicador do conteúdo na dieta, muito embora as mudanças ocorram lentamente. Para a deteção de mudanças significativas na concentração de albumina sérica é necessário um período de pelo menos um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação. Níveis de albumina diminuídos juntamente com a diminuição da ureia, indicam deficiência protéica. Níveis de albumina diminuídos com níveis de ureia normais ou elevados acompanhados de níveis de enzimas altos são indicadores de falência hepática. A hipoalbuminémia pode afetar o metabolismo de outras substâncias devido ao papel da albumina como transportador, além de causar queda da pressão osmótica do plasma e levar a ascite, geralmente quando a concentração de albumina cai para menos de 20 g/dl. As principais causas do aumento da albumina são: desidratação e perda excessiva de fluídos. As principais causas de sua diminuição são: lesão hepática crónica, déficite alimentar de fontes protéicas, parasitismo gastrointestinal, doença renal (síndrome nefrótica, glomerulonefrite crónica, diabetes), síndrome de mal-absorção, hemorragias e sobrehidratação. (González, 2003)

III – ESTUDO EXPERIMENTAL

7. OBJETIVOS

Os objetivos do estudo foram: 1) caracterizar quanto a presença de alterações nos valores de leucócitos, ALB e PTT, dor, inflamação e aspecto estético nas incisões realizadas com lâmina de bisturi e com laser de CO₂; 2) comparar o regime pós-operatório em indivíduos submetidos a cirurgia com lâmina de bisturi e laser de CO₂.

8. MATERIAIS E MÉTODOS

8.1 Desenho experimental

O presente estudo foi desenvolvido numa amostra de 14 animais (n = 14) pertencentes a espécie *Canis familiaris*, clinicamente saudáveis, sendo 10 fêmeas e 4 machos que foram a consulta para realização de cirurgias eletivas do tipo ovariectomia e orquiectomia respectivamente. Todos os proprietários dos doentes assinaram um termo de consentimento para colaborarem com o estudo.

O protocolo considerou a análise dos diferentes parâmetros em 4 tempos, sendo eles: T0 = antes da incisão, T1 = 24h após a incisão, T2 = 8 dias após a incisão e T3 = 30 dias após a incisão. Todos os doentes foram submetidos a exames pré-cirúrgicos que compreenderam a realização de hemograma para quantificação de leucócitos (WBC), albumina (ALB) e de proteínas totais (PTT), já que são parâmetros fundamentais no desenvolvimento do processo cicatricial dos tecidos. Todos os doentes foram identificados e realizados os seus registos quanto à idade, peso, raça, sexo e condição corporal (Tabela 1). A amostra foi dividida em 2 grupos de 7 indivíduos cada: um que recebeu incisão com lâmina de bisturi (N1) e outro com laser de CO₂ (N2). A amostra foi constituída por 28,5% de indivíduos do sexo masculino, e 71,5 % do sexo feminino, com uma média de idades de 3,8 anos sendo o mais jovem com 6 meses e o mais velho com 9 anos de idade. O peso médio foi de 13,06 kg, sendo o peso mínimo de 3 kg e o máximo de 35 kg.

Gráfico 1: Percentagem de machos e fêmeas da amostra e número de animais em cada grupo.

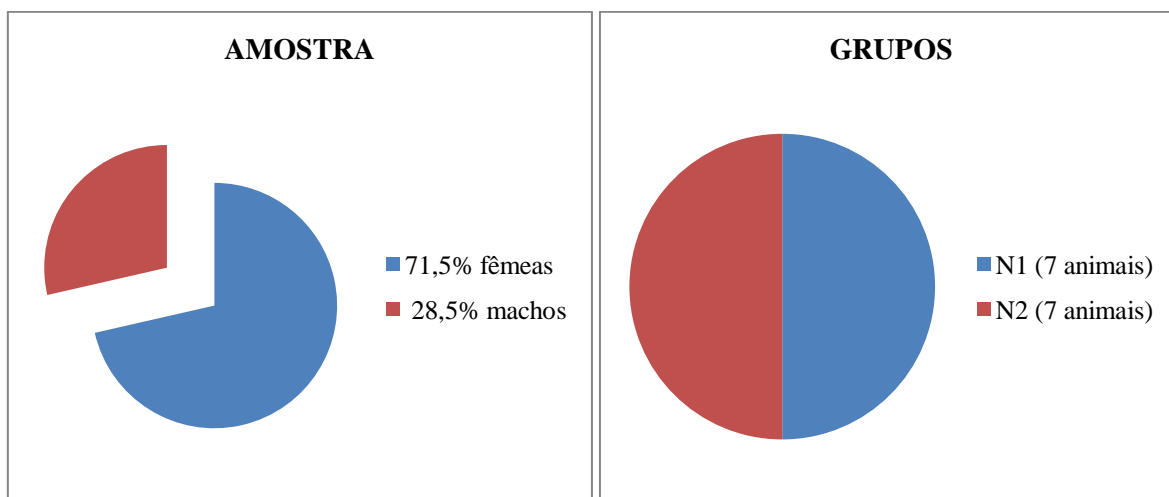


TABELA 1: Tabela de Identificação dos Pacientes.

PACIENTE	Nº1	Nº2	Nº3	Nº4	Nº5	Nº6	Nº7
Sexo	M	M	F	F	F	F	F
Idade (anos)	6	2	0,6	2	0,8	7	2,5
Raça	Caniche	Indet.	Indet.	Pinscher	Indet.	Caniche	Indet.
Peso (kg)	7	6,45	11,50	2,50	3	5	12,95
Patologia de base	-	-	-	-	-	Hérnia umbilical	-
PACIENTE	Nº8	Nº9	Nº10	Nº11	Nº12	Nº13	Nº14
Sexo	M	M	F	F	F	F	F
Idade (anos)	0,7	0,9	6,8	4	9	3	8
Raça	Pitbull	Golden	Labrador	Indet.	Pequinois	SE	Yorkshire
Peso (kg)	21,5	33	35	4,8	3,2	30	7
Patologia de base	-	-	-	-	Ovário quístico	-	Pseudociese

Sendo: M = macho, F = fêmea, Indet. = Indeterminado, SE = Serra da Estrela

8.2 Materiais utilizados

A elaboração do protocolo experimental exigiu o uso de uma máquina de anestesia volátil (Moduflex coaxial, Servive Portugal), de tubos endotraqueais de silicone (Magill, Servive Portugal), de um monitor multiparamétrico de anestesia (Cygnus 1000C VET, Servive Portugal), de um aparelho de laser de CO₂ (AE-10, Aesculight, Servive Portugal), um evacuador de fumo (Plumesafe® 604, Buffalo Filter, Servive Portugal), óculos de proteção (Eyewear, Servive Portugal), instrumentais cirúrgicos, lâminas de bisturi nº10, fios de sutura absorvíveis (Monosyn 2.0, B. Braun Portugal), compressas, panos de campo, vestuário cirúrgico adequado e o uso de paquímetro digital (Craveira, Servive Portugal).

Figura 7: Paquímetro digital (Fotografia original)



Craveira, Servive Portugal

8.3 Variáveis analisadas

Em T0 apenas se consideraram os resultados dos exames complementares. Em T1 e T2 além dos exames complementares foi avaliada a região intervencionada quanto à presença de sinais indicativos de inflamação, medida a espessura de pele regional em mm, com auxílio do paquímetro digital, e ainda avaliada a presença de dor através da quantificação feita com o uso de Escala de Melbourne (Anexo I). Em T3 apenas foi avaliada a estética da cicatrização através da inspeção, classificando-a em muito boa, boa, regular e má (formação de quelóide) (Tabela 2).

TABELA 2: Classificação Macroscópica da Cicatriz

CLASSIFICAÇÃO	PARÂMETROS
Muito boa	Normal
Boa	Hipertrofia pequena ou alargamento pequeno
Regular	Hipertrofia intermediária ou alargamento intermediário
Má	Hipertrofia grande ou alargamento grande, ou quelóide

8.4 Protocolo anestésico

Todos os doentes foram submetidos a terapêutica pré-anestésica com tramadol (4mg/kg) e acepromazina (0,05mg/kg) administrados conjuntamente por via endovenosa, e meloxicam (0,2mg/kg) por via subcutânea. A indução anestésica foi realizada com propofol (4mg/kg) por via endovenosa até perda do reflexo laríngeo, altura em que os animais foram entubados, tendo sido realizada a manutenção com isoflurano.

8.5 Protocolo cirúrgico

Todas as fêmeas foram sujeitas à mesma técnica cirúrgica para ovariectomia, tendo-se procedido ao encerramento da ferida cirúrgica por camadas (camada muscular e linha alba, tecido subcutâneo e pele), em que a camada muscular foi suturada com pontos em “X”, o tecido subcutâneo com pontos contínuos, e a pele com sutura intradérmica. No que respeita aos machos depois de retraídos para dentro do canal inguinal os dois cordões espermáticos seccionados, foram aplicados pontos de sutura simples no tecido subcutâneo e uma sutura de pele intradérmica. (López & Franch, 2006). Durante toda a cirurgia foram administrados fluídos como NaCl 0,9 % em dose de manutenção (10ml/kg/h), e a monitorização foi feita através do uso de capnografia e oximetria. O local da incisão foi desinfetado com uma solução de iodopovidona, betadine e álcool a 70 %. Após o término da cirurgia, os doentes foram transportados para a recuperação e aquecidos de modo a que a recuperação fosse o mais confortável possível.

8.6 Terapêutica pós-cirúrgica

A terapêutica pós-cirúrgica utilizou antibioterapia com Amoxicilina e Ácido Clavulâmico (10 mg/kg) durante 8 dias BID.

8.7 Análise estatística

A análise estatística descritiva e inferencial do presente estudo considerou o cálculo da média e desvio-padrão da amostra, e ainda o recurso ao teste T de *Student*. Foi considerado um nível de significância para um intervalo de confiança de 95 % ou seja, para $p < 0,05$, o qual traduz a probabilidade da diferença observada entre os indivíduos dos 2 grupos da amostra (N1 e N2) ser devida ao acaso e não aos fatores considerados no estudo. Assim, sempre que $p > 0,05$ considerou-se que não houve diferença significativa entre os grupos da amostra, e inversamente se $p < 0,05$ considerou-se que as diferenças registadas na amostra eram significantes.

9. RESULTADOS ESTATÍSTICOS

Os dados recolhidos estão compilados nas tabelas 3 e 4.

9.1 Albumina

9.1.1 Lâmina de bisturi (N1)

Nos pacientes sujeitos a incisão com lâmina de bisturi a média de valores para o parâmetro de albumina (ALB) foi, em T0 de $3,64 \pm 0,52$ g/dl com um valor mínimo de 3,1 g/dl e um máximo de 4,6 g/dl. Em T1 a média foi de $3,5 \pm 0,22$ g/dl com um valor mínimo de 3,3 g/dl e um máximo de 4 g/dl. Não foram registadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois tempos considerados (T0 e T1), pois $p = 0,49$.

9.1.2 Laser de CO₂ (N2)

Para os pacientes do grupo de incisão com recurso ao laser de CO₂ a média de valores para a albumina foi em T0 de $3,71 \pm 0,23$ g/dl, com um valor mínimo de 3,3 g/dl e um valor máximo de 4 g/dl. Em T1 a média foi de $3,5 \pm 0,22$ g/dl com mínimo de 3,3 g/dl e máximo de 4 g/dl. À semelhança do grupo anterior, também neste não foram registadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois tempos considerados (T0 e T1), pois $p = 0,53$.

9.1.3 Comparação entre N1 e N2

Comparando os valores obtidos entre os dois grupos (sujeitos a incisão com lâmina de bisturi e incisão com laser de CO₂) considerados em T1, também não foram registadas diferenças estatisticamente significativas entre eles quanto á quantificação da albumina, pois $p = 0,34$.

9.2 Proteínas totais (PTT)

9.2.1 Lâmina de bisturi (N1)

No que respeita á quantificação das proteínas totais séricas (PTT), foi possível verificar que nos indivíduos sujeitos a incisão com lâmina de bisturi observou-se um valor médio em T0 de $6,6 \pm 1,47$ g/dl com um valor mínimo de 5 g/dl e um valor máximo de 9,9 g/dl. Em T1 a média foi de $6,2 \pm 0,54$ g/dl com um valor mínimo de 5,5 g/dl e um valor máximo de 6,9 g/dl. A comparação entre os 2

tempos de estudo considerados não apresentou diferenças estatisticamente significativas, pois $p = 0,42$.

9.2.2 Laser de CO₂ (N2)

Nos pacientes sujeitos a incisão com laser de CO₂ a média de valores em T0 foi de $6,54 \pm 0,57$ g/dl com um valor mínimo de 5,7 g/dl e um valor máximo de 7,5 g/dl. Em T1 a média de valores foi de $6,44 \pm 0,63$ g/dl, com um valor mínimo de 5,6 g/dl e um valor máximo de 7,4 g/dl. À semelhança do grupo anterior, também neste não foram registadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois tempos considerados (T0 e T1), pois $p = 0,21$.

9.2.3 Comparação entre N1 e N2

Comparando os valores obtidos entre os dois grupos (sujeitos a incisão com lâmina de bisturi e incisão com laser de CO₂) considerados em T1, também não foram registadas diferenças estatisticamente significativas entre eles quanto à quantificação das proteínas totais, pois $p = 0,53$.

9.3 Espessura da região incidida

9.3.1 Lâmina de bisturi (N1)

Quanto à avaliação referente à espessura apresentada da região incidida no regime pós-cirúrgico, foi possível verificar que no grupo dos indivíduos que foram sujeitos a incisão com lâmina de bisturi, a média dos valores em T1, foi de $5,63 \pm 1,57$ mm com um valor mínimo de 3,62 mm e um valor máximo de 8,42 mm. Em T2 a média foi de $6,04 \pm 2,02$ mm com um valor mínimo de 2,18 mm e um valor máximo de 8,56 mm. A comparação entre os 2 tempos de estudo considerados (T1 e T2) não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre eles, pois $p = 0,55$.

9.3.2 Laser de CO₂ (N2)

Quanto ao grupo dos indivíduos que foram sujeitos a incisão com o uso de laser de CO₂, em T1 a média de valores da espessura regional foi de $5,54 \pm 1,28$ mm com um valor mínimo de 4,29 mm e um valor máximo de 7,98 mm. Em T2 a média foi de $5,73 \pm 2,04$ mm, com um valor mínimo de 2,97 mm e um valor máximo de 8,42 mm. A comparação entre os 2 tempos de estudo considerados (T1 e T2) não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre eles, pois $p = 0,76$.

9.3.3 Comparação entre N1 e N2

Comparando os valores obtidos entre os dois grupos (sujeitos a incisão com lâmina de bisturi e incisão com laser de CO₂) considerados em T1 e em T2, também não foram registadas diferenças estatisticamente significativas entre eles quanto à espessura da região cutânea da zona incisionada, pois $p = 0,87$ e $p = 0,73$; respectivamente para cada tempo considerado.

9.4 Dor

De acordo com o já previamente referido, o grau de avaliação de expressão de dor apresentada pelos indivíduos da amostra foi também um dos parâmetros considerados no ensaio. Para tal, utilizou-se a escala de avaliação de dor de *Melbourne* (ver anexo I).

9.4.1 Lâmina de bisturi (N1)

De acordo com os resultados obtidos, foi possível verificar que nos indivíduos que receberam incisão com lâmina de bisturi, a média de valores para o grau de dor em T1 foi de $8,57 \pm 0,90$ com um valor mínimo de 7 e um valor máximo de 10.

9.4.2 Laser de CO₂ (N2)

Nos indivíduos onde foi praticada a incisão com laser de CO₂ a média de valores para o grau de dor em T1 foi de $3,28 \pm 1,57$ com um valor mínimo de 1 e um valor máximo de 10.

9.4.3 Comparação entre N1 e N2

A comparação entre os 2 grupos estudados (N1 e N2) para a quantificação do grau de dor expresso pelos doentes, em T1, permite concluir que existem diferenças estatisticamente significativas entre eles, pois $p = 0,001$; permitindo afirmar que os indivíduos sujeitos a incisão com laser de CO₂ têm menos dor pós-operatória do que os sujeitos a incisão com lâmina de bisturi. Em T2, nos 2 grupos não houve presença de dor.

9.5 Leucócitos (WBC)

9.5.1 Lâmina de bisturi (N1)

No grupo sujeito a incisão com lâmina de bisturi a média de valores dos leucócitos em T0 foi de $12,21 \times 10^9/L \pm 2,70$, com um valor mínimo de $8,1 \times 10^9/L$ e um valor máximo de $16 \times 10^9/L$; em T1 a média foi de $17,94 \times 10^9/L \pm 4,53$ com um valor mínimo de $10,4 \times 10^9/L$ e um valor máximo de $24,4 \times 10^9/L$; e em T2 a média foi de $15,77 \times 10^9/L \pm 4,26$ com um valor mínimo de $9,2 \times 10^9/L$ e um valor máximo de $22,5 \times 10^9/L$. A comparação entre os tempos de estudo considerados T0 e T1, apresentou diferenças estatisticamente significativas entre eles, pois $p = 0,02$, verificando-se a presença de um aumento do número de leucócitos nas amostras analisadas em T1. A comparação entre os tempos de estudo considerados T0 e T2, por seu lado não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre eles, pois $p = 0,14$.

9.5.2 Laser de CO₂

No grupo dos indivíduos que foram sujeitos a incisão com laser de CO₂, a média de valores em T0 foi de $10,9 \times 10^9/L \pm 2,89$ com um valor mínimo de $6,3 \times 10^9/L$ e um valor máximo de $15 \times 10^9/L$; em T1 foi de $18,25 \times 10^9/L \pm 6,59$ com um valor mínimo de $7,6 \times 10^9/L$ e um valor máximo de $31 \times 10^9/L$; e em T2 a média foi de $12,01 \times 10^9/L \pm 3,9$ com um valor mínimo de $7,5 \times 10^9/L$ e um valor máximo de

$20,2 \times 10^9/L$. À semelhança do que foi registado no grupo que recebeu a incisão com lâmina de bisturi, a comparação entre os tempos de estudo considerados T0 e T1, apresentou diferenças estatisticamente significativas entre eles, pois $p = 0,01$, verificando-se a presença de um aumento do número de leucócitos nas amostras analisadas em T1. A comparação entre os tempos de estudo considerados T0 e T2, por seu lado não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre eles, pois $p = 0,27$.

9.5.3 Comparação entre N1 e N2

A comparação realizada em T1 entre os 2 grupos e no que respeita às alterações no número de leucócitos (WBC – *White Blood Cells*) apresentado na hemograma pelos doentes, permite concluir que não existem diferenças estatisticamente significativas entre eles, pois $p = 0,90$. Contrariamente, em T2, foi possível verificar que existem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos quanto ao número de WBC, pois $p = 0,01$, verificando-se que o grupo dos indivíduos sujeitos a incisão com laser de CO2 apresenta menor leucocitose do que o grupo dos indivíduos sujeitos a incisão com lâmina de bisturi.

Tabela 3 – Dados relativos aos doentes onde foi realizada a incisão com lâmina de bisturi. Avaliação dos diferentes parâmetros considerados nos 4 tempos do estudo, T0, T1, T2 e T3.

Tipo de Incisão	Doente	Tempo	WBC (10 ⁹ /L)	ALB(g/dl)	PTT(g/dl)	Espessura (mm)	Cicatrização	Grau de Dor
Bisturi	Nº1	T0	16	4,0	6,6	-	-	-
		T1	20,7	4,0	6,7	4,6	-	9
		T2	16,2	-	-	6,37	-	-
		T3	-	-	-	-	boa	-
	Nº2	T0	10,7	4,0	6,5	-	-	-
		T1	21	3,4	5,6	5,56	-	8
		T2	12,5	-	-	8,45	-	-
		T3	-	-	-	-	boa	-
	Nº3	T0	13,7	3,1	5,0	-	-	-
		T1	14,2	3,3	5,5	4,70	-	9
		T2	9,2	-	-	6,3	-	-
		T3	-	-	-	-	boa	-
	Nº4	T0	9,3	3,4	5,9	-	-	-
		T1	24,4	3,4	5,9	8,42	-	8
		T2	22,5	-	-	8,56	-	-
		T3	-	-	-	-	boa	-
	Nº5	T0	14,7	3,1	6,9	-	-	-
		T1	20,1	3,3	6,9	7,46	-	7
		T2	16,3	-	-	-	-	-
		T3	-	-	-	5,59	Muito boa	-
	Nº6	T0	8,1	4,6	9,9	-	-	-
		T1	10,4	3,5	6,8	5,08	-	9
		T2	13,3	-	-	4,86	-	-
		T3	-	-	-	-	Muito boa	-
	Nº7	T0	13	3,3	5,5	-	-	-
		T1	14,8	3,6	6,0	3,62	-	10
		T2	20,4	-	-	2,18	-	-

Valores de referência: WBC = 6,0 - 17,0 x10⁹/L; ALB = 2,6 - 4,0 g/dl; PTT = 5,0 - 7,2 g/dl. T0 = antes da incisão; T1 = 24 h após a incisão; T2 = 8 dias após a incisão e T3 = 30 dias após a incisão.

Tabela 4 – Dados relativos aos doentes onde foi realizada a incisão com laser de CO₂. Avaliação dos diferentes parâmetros considerados nos 4 tempos do estudo, T0, T1, T2 e T3.

Tipo de Incisão	Doente	Tempo	WBC (10 ⁹ /L)	ALB(g/dl)	PTT(g/dl)	Espessura (mm)	Cicatrização	Grau de Dor
Laser CO ₂	Nº8	T0	11,6	3,5	5,7	-	-	-
		T1	17,7	3,4	5,6	5,35	-	4
		T2	10,5	-	-	4,23	-	-
		T3	-	-	-	-	Muito boa	-
	Nº9	T0	12,4	3,9	6,2	-	-	-
		T1	17,3	3,7	6,2	4,32	-	4
		T2	11,3	-	-	6,30	-	-
		T3	-	-	-	-	Muito boa	-
	Nº10	T0	7	3,3	6,8	-	-	-
		T1	7,6	3,5	6,8	4,48	-	1
		T2	7,5	-	-	2,97	-	-
		T3	-	-	-	-	Muito boa	-
	Nº11	T0	11,7	3,8	6,2	-	-	-
		T1	17,9	3,9	6,3	5,65	-	5
		T2	14,4	-	-	8,19	-	-
		T3	-	-	-	-	Muito boa	-
	Nº12	T0	12,3	4	7,5	-	-	-
		T1	31	4,1	7,4	7,98	-	5
		T2	11,4	-	-	8,42	-	-
		T3	-	-	-	-	Muito boa	-
	Nº13	T0	6,3	3,6	6,2	-	-	-
		T1	14,5	3,4	5,7	6,75	-	3
		T2	8,8	-	-	6,56	-	-
		T3	-	-	-	-	Muito boa	-
	Nº14	T0	15	3,9	7,1	-	-	-
		T1	21,9	3,7	7,1	4,29	-	1
		T2	20,2	-	-	3,44	-	-
		T3	-	-	-	-	Muito boa	-

Valores de referência: WBC = 6,0 - 17,0 x 10⁹/L; ALB = 2,6 - 4,0 g/dl; PTT = 5,0 - 7,2 g/dl. T0 = antes da incisão; T1 = 24h após a incisão; T2 = 8 dias após a incisão e T3 = 30 dias após a incisão.

10. DISCUSSÃO

10.1 Leucócitos (WBC)

O fato de não se terem verificado diferenças estatisticamente significativas entre os 2 grupos da amostra quanto à leucocitose no momento T1 (24 h após a incisão), relaciona-se com a questão de este momento corresponder à chamada fase inflamatória que tem início logo após a lesão e que pode durar até cerca de 5 dias (Hedlund, 2007; Pavletic, 2010). Esta fase caracteriza-se pela presença de um conjunto de elementos celulares e químicos que em conjunto formam o processo inflamatório, cujos objectivos principais são promover a protecção e defesa da região lesionada, passando obrigatoriamente pelo aporte à região de um número significativo de células de defesa (WBC). Já em T2 (8 dias após a incisão) os resultados do ensaio permitiram verificar que existiam diferenças estatisticamente significativas entre os 2 grupos da amostra quanto às alterações na contagem dos leucócitos ($p = 0,01$), verificando-se que a leucocitose se mantinha presente em 4 doentes no grupo dos indivíduos que receberam incisão com lâmina de bisturi, contrastando com os 2 indivíduos do grupo da incisão com laser de CO₂. Assim, o grupo que sofreu incisão com o laser de CO₂ apresentou um valor de leucocitose 50,0 % inferior ao do grupo da incisão com lâmina de bisturi. Na verdade isto poderá relacionar-se com o fato de os tecidos incididos com laser de CO₂ entrarem mais precocemente na fase proliferativa da cicatrização (período entre o 5º e o 20º dia após a lesão), a qual é caracterizada essencialmente pela presença de um elevado número de fibroblastos, produção de colagénio e angiogénese local, em detrimento do número de leucócitos. Mais ainda, o fato da incisão com laser de CO₂ ser efetuada sem contato direto com a região incidida, proporciona um menor risco de infeção e consequentemente uma menor necessidade de mobilização de números elevados de leucócitos à região, o que torna a fase inflamatória menos prolongada e menos marcada do que em casos em que a incisão dos tecidos resulta do contato direto com instrumentos cortantes. Ainda há a considerar a característica de que na técnica convencional, o uso de bisturi pode associar-se a um campo operatório hemorrágico o qual resulta numa maior reação inflamatória regional, menor visualização do campo de trabalho e maior tempo cirúrgico final (Gerhardt et al., 2004; Brugnera & Pinheiro, 1998), ao contrário do que acontece com a cirurgia de laser de CO₂, na qual há uma boa hemostase, se associa uma menor reação inflamatória final (Abt et al., 1987; Barak et al., 1988; Catone et al., 1997; Liboon et al., 1997; Brugnera & Pinheiro, 1998).

10.2 Dor

Alguns estudos referem que a diminuição da dor pós-cirúrgica em doentes sujeitos a incisão com laser de CO₂ resulta 1) do efeito térmico do mesmo que induz a vaporização da água dos tecidos cortados, 2) a carbonização das terminações nervosas sensoriais (Basu et al., 1986; Debias et al., 1994; Abt et al., 1987; Barak et al., 1988; Catone et al., 1997). Em 1983 Clark *et al.* (1983) realizaram um estudo comparativo entre o uso do laser de CO₂, a lâmina de bisturi convencional e o eletrobisturi para realizar secções do nervo ciático, avaliando posteriormente as alterações nos corpos celulares e região proximal do tronco nervoso deste nervo. Concluíram que o laser de CO₂ e o eletrobisturi provocavam

menor lesão do nervo (sendo essa lesão ainda menor no caso do laser de CO₂) quando comparados com a lesão provocada pela lâmina do bisturi. Estas experiências estão de acordo com os resultados do estudo realizado pois, através da quantificação do grau de dor apresentado pelos doentes dos 2 grupos da amostra utilizando a escala de EDUM, foi possível verificar que os indivíduos que sofreram a incisão com laser de CO₂ apresentaram pontuações finais da escala de EDUM 60,0% inferiores às dos indivíduos sujeitos a incisão com lâmina de bisturi em T1 ($p = 0,001$), com uma media de $8,57 \pm 0,90$ pontos para o grupo sujeito a incisão com lâmina de bisturi e de $3,28 \pm 1,57$ pontos para o grupo sujeito a incisão com laser de CO₂.

10.3 Albumina e PTT

Não foram ainda registradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos da amostra estudada quanto à quantificação da albumina ($p = 0,34$) e das proteínas totais ($p = 0,53$).

10.4 Espessura da região incidida

Muito embora os resultados obtidos com o ensaio no que se refere à espessura da região incidida não tenham sido estatisticamente significativos ($p = 0,87$ em T1 e $p = 0,73$ em T2), foi possível verificar-se algumas diferenças entre os 2 grupos de estudo. Na verdade, os registos revelaram que em T1, o grupo da amostra sujeito a incisão com laser de CO₂ representou 62,5% menos de reação inflamatória e conseqüentemente uma menor espessura da região incidida do que os indivíduos do grupo sujeito a incisão com lâmina de bisturi; e que em T2 não foram mesmo registados quaisquer sinais de reação inflamatória no grupo do laser de CO₂, ao contrário do grupo sujeito a incisão com lâmina de bisturi.

10.5 Estética da cicatriz

A avaliação estética da cicatriz ao final de 30 dias pós-cirurgia (T3) foi de Muito Boa em todos os indivíduos sujeitos a incisão com laser de CO₂, e de Boa para os indivíduos do grupo sujeito a incisão com lâmina de bisturi.

10.6 Desvantagem do uso do laser de CO₂

A principal desvantagem do uso do laser de CO₂ está no elevado custo da instrumentação, e das exigências associadas às instalações para o seu uso (Gnasekhar et al.,1998).

11. CONCLUSÃO

Com o ensaio realizado, é possível sugerir que: 1) a cirurgia com laser de CO₂ associa-se a menor grau de dor e conseqüentemente a um maior conforto pós-cirúrgico dos doentes; 2) reduz o grau de resposta de reação inflamatória montada nos tecidos lesionados; 3) permite o acesso à fase proliferativa de cicatrização mais precocemente nos tecidos incididos; 4) ao promover hemostase de imediato consegue diminuir o tempo de trabalho cirúrgico e 5) como não contacta diretamente com o tecido a incidir existe menor risco de infeção por contaminação local. Propõe-se a continuação do

ensaio de modo a poder aumentar o tamanho da amostra e verificar se a inexistência de diferenças entre os grupos quanto à quantificação da albumina e das proteínas totais, poderá dever-se apenas ao número limitado da amostra ou não; assim como para se poder considerar mais e novos parâmetros para estudo como por exemplo, o pH da região incisionada, os níveis de lactato, entre outros.

12. PERSPECTIVAS FUTURAS

Para o futuro esperamos aparelhos de laser de CO₂ portáteis, mais acessíveis financeiramente, fáceis de serem transportados e também o aparecimento de aparelhos totalmente comandados por computador e o uso em endoscopias.

IV – BIBLIOGRAFIA

- Abt, E. et al. (1987). Removal of benign intraoral masses using the CO₂ laser. J Am Dent Assoc. pp.729 – 31.
- Aesculight, LCC. *The only American – made surgical CO₂ Laser*. Acedido em 17 set. 2013. Disponível em: www.aesculight.com.
- Anandasabapathy, S.; Maru, D.; Klumpp, S. et al. (2008). *Evaluation of a new flexible fiber CO₂ laser for gastrointestinal cutting: Notes and mucosectomy in a porcine model*. Endoscopy. pp. e200 – e201.
- Arribas, J.L.G.; Landeras, E.R. (1997). *Manual Clínico de dermatología en el perro y el gato*. pp. 22
- Azevedo, P. (2010). *A problemática da dor no período peri-operatório em canídeos*. Tese apresentada á faculdade de medicina veterinária da universidade de lisboa.
- Bal, H.S. (1996). Pele. In: Swenson, M.J. & Reece, W.O.; Dukes. *Fisiologia dos animais domésticos*. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. pp. 560 – 570.
- Balbin, C.A; Pereira, L.M.; Curi, R. *Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão*. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. [SI] v.41, n.1, p.27-51, jan/mar de 2005. Acedido em 12 set. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br>.
- Banks, W.J. (1992). *Histologia veterinária aplicada*. 2 ed. São Paulo: Manole. pp.391 - 423.
- Barak, S.; Kaplan, I. (1998). *The use of the CO₂ laser in removing tumors of the oral cavity*. Laser Surg Med, New York. pp.97-98.
- Bartels, K.E. (2002). *Lasers in veterinary medicine – where have been, and where are we going?*. Vet Clin North am Small Anim Pract. pp.495– 515.
- Basu, M.K.; Frane, J.W.; Ryes Evans, P.H. (1986). *Wound healing following partial glossectomy using the CO₂ laser diathermy and scalpel: a histological study in rats*. J Laryngol Otol. . pp.547.

- Beheregaray, W.k.; Gianotti, G.C.; Garcez, T.N.A.; Fernandes, A.O.; Contesini, E.A. (2009) *Tratamento de ferida por eletroacupuntura em uma gata*. *Ata Scientiae Veterinaride*. Porto Alegre, v.37, n.3, p.285-289.
- Beheregaray, W.K. (2009). *A eletroacupuntura na cicatrização de feridas cutâneas experimentais em coelhos*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.
- Beilin B., Shavit Y., Trabekin E., Mordashev B., Mayburd E., Zeidel A., Bessler H. (2003). The Effects of Postoperative Pain Management on Immune Response to Surgery. *Anesthesia & Analgesia*. 97, pp 822.
- Berger, N.; Eeg, P.H. (2006). *Fundamentals of laser-tissue interactions*. En “Veterinary Laser Surgery: A practical guide”. 1st ed. Blackwell Publishing. pp.29-42.
- Berger, N.; Eeg, P.H. (2006). *Laser systems, wavelengths, and technology selection*. En “Veterinary Laser Surgery: A practical guide”. 1st ed. Blackwell Publishing. pp.63-75.
- Berger, N; Eeg, P.H. (2006). *Types of laser-tissue interaction related to the rate of heat transfer though soft tissue*. En “Veterinary Laser Surgery: A practical guide” 1st ed. Blackwell Publishing. . pp.43-61.
- Bragulla, H.; Budras, k.D.; Mulling, C., et al. (2004). Tegumentar comum. In: König, H.E. & Liebich, H.G. *Anatomia dos animais domésticos*.. Porto Alegre: Art Med. pp.325-378.
- Brugnera Júnior, A.; Pinheiro, A.L.B. (1998). *Lasers na odontologia moderna*. São Paulo, Pancast. pp. 356.
- Brugnera Júnior, A. (2001). *Estudo da ação dos lasers Er:YAG e Nd sobre a permeabilidade dentinária da dentina das paredes dos canais radiculares instrumentados*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ.
- Carreira, L.M.; Costa,A.; Mendes,E.; Azevedo,P. (2009). Utilização da escala de EDUM para quantificação da dor pós-cirúrgica em cães do sexo feminino submetidas a mastectomia com e sem infiltração incisiva com lidocaína.
- Catone, G.A. (1997). *Laser applications in oral and maxillofacial surgery*. Philadelphia: Saunders Company. pp.307.

- Clark, C.W., et al. (1983). *Comparative observations on effects of carbon dioxide laser induced peripheral nerve lesions in the rat*. Surg Neurol. pp.144.
- Cotran, R.S; Kumar, V.; Collins, T.; Robbins (2000b). *Patologia estrutural e funcional*. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. pp.79-100.
- Davidson, E.B.; Ritchey, J.W.; Higbee, R.D. et al. (2004). *Laser lithotripsy for treatment of canine uroliths*. Vet Surg. pp.56-61.
- Debias, D.A., et al. (1994). *Healing of incisions in the tongue: a comparison of results with milliwatt carbon dioxide laser tissue welding versus suture repair..* Ann Otol Rhinol Laryngol. pp.964-974.
- Dethiox, F. (2006). *A dermatite atópica canina, um desafio para o clínico*. Revista Focus. Edição especial. Pp.15
- Dye, T.L.; Teague, H.D.; Ostwald, D.A. et al. (2002). *Evaluation of a technique using the carbon dioxide laser for the treatment of aural hematomas*. J Am Anim Hosp Assoc. pp.385-390.
- Dyson, M. *Advances in wound healing physiology: the comparative perspective*. *Veterinary Dermatology*. [SI] v.8, n.4, p.227-233, dec. 1997. Acedido em 10 set. 2013. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com>.
- Elwick, K.E.; Melendez, L.D.; Higbee, R.G. et al. (2002). *Neodymium: Yttrium Aluminum Garnet (Nd:YAG) laser ablation of an obstructive urethral polyp in a dog*. J Am Anim Hosp Assoc. pp.506-508.
- Fahie, M.A.; Shettko, D. *Evidence – based wound management: a systematic review of therapeutic agents to enhance granulation and epithelization*. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*. [SI] v.37, n.3, p.559-577, may 2007. Acedido em 11 set 2013. Disponível em: www.sciencedirect.com.
- Fry, T.R. (2002). *Laser safety*. Vet Clin North am Small Anim Pract. pp.535-547.
- Gaynor, S.J. (2008a). Definitions of terms describing pain. Gaynor , S.J.; Muir, W.W. *Handbook of veterinary pain management*. 3ed. St. Louis: Mosby. pp.57-59.

- Gerhardt, M.O. et al. *Efeitos da utilização de laser de CO₂, eletrobisturi e bisturi convencional junto a estruturas nervosas periféricas*. Revista Odonto Ciência v.19, n.45, jul/set 2004. pp.265-69.
- Goldschmit, M.H & Hendrick, M.J. (2002). *Tumors in domestic animals*. 4ed. Ames: Iowa State. pp.44-117.
- González, F.H.D.; Scheffer, J.F.S. (2003). Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: González, F.H.D.; Campos, R. (eds): *Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS. pp.73-89.
- Gross, T.L.; Ihrke, P.J. & Walder, E. J. (1992). *Veterinary dermatopathology: a macroscopic and microscopic evaluation of canine and feline skin disease*. St. Louis: Mosby.
- Hanks, J.; Spodnick, G. *Wound healing in veterinary rehabilitation patient*. Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice. [SI] v.35, n.6, pp.1453-1471, nov 2005. Acedido em 13 set 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com>.
- Hansen B.D. (2003). Assessment of pain in dogs: Veterinary Clinical Studies. In *ILAR Journal*, 3, pp.197-205.
- Hargis, A.M. (1998). Sistema tegumentar. In: Carlton, W.W. & McGavin, M.D. *Patologia veterinária especial de Thomson*. 2ed. Porto Alegre: Art Med. pp.486-540.
- Harrist, T.J.; Schapiro, B.; Quinn, T.R, et al. (2002). Pele. In: Rubin, E. & Farber, J.L. *Patologia*. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. pp.1194-1253.
- Harari, J. (1999). *Cirurgia de pequenos animais*. 1ed. Porto Alegre: Art Med.
- Hedlund, C.S. (2007). Surgery of the tegumentary system. In: Fossum, T.W. *Small animal surgery*. 3ed. Missouri: Mosby Elsevier. pp.161-259.
- Hellyer P., Rodan I., Brunt J., Downing R., Hagedorn J.E., Robertson S.A. (2007). AAHA/AAFP pain management guidelines for dogs and cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9, pp.466-480.
- Holmberg, D.L.; Brisson, B.A. (2006). *A prospective comparison of postoperative morbidity associated with the use of scalpel blades and lasers for onychectomy in cats*. Can Vet J. pp.162-163.

- Holt, T.L.; Mann, F.A. (2002). *Soft tissue application of lasers*. Vet Clin North am Small Anim Pract. pp.569-599.
- Hosgood, G. *Stages of wound healing and their clinical relevance*. Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice. [SI] v.36, n.4, pp.667-685 , 2006. Acedido em 11 set. 2013. Disponível em: www.sciencedirect.com
- Howard, J., et al. (1997). *Healing of laser incisions in rats dermis: comparisons of the carbon dioxide laser under manual and computer control and the scalpel*. Lasers Surg Med. pp.90-6.
- Irwin, J.R. (2002). *The economics of surgical laser technology in veterinary practice*. Vet Clin North am Small Anim Pract. pp.549-567.
- Jain, K.K. (1996). *Incision of the brain with the varipulse carbon dioxide laser: a preliminary study for pontential application in neurosurgery*. Neurosurgery. pp.762-5.
- Jones, T.C.; Hunt, R.D. & King, N.W. (2000). *Patologia veterinária*. 6ed. São Paulo: Manole.
- Junqueira, L.C. & Carneiro, J. (2010). *Histologia básica*. 10ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Pp.359-370.
- Klemm, W.R. (1996). *Fisiologia comportamental*. In: Swenson, M.J. & Reece, W.O.; Dukes. *Fisiologia do animais domésticos*. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. pp.825-841.
- Lafuent, M.P. (2008). *Uso del laser de CO2 en cirurgia veterinaria: aplicación en cinco casos clínicos*. Clin. Vet. Peq. Anim. pp.223-232.
- Liboon, J.; Funkhousor, w.; Terris, D.J. (1997). *A comparison of mucosal incisions made by scalpel. CO2 laser, eletrocautery and constant voltage eletrocautery*. Oto Laryngol Head Neck Surg. pp.379- 385.
- Liptak, J.M. *An overview of the topical management of wounds Australin Veterinary Journal*. [SI], v.75, n.6, pp.408-413, jun. 1997. Acedido em 12 set. 2013. Disponível em: <http://animalcancersurgeon.com>.
- López, C.; Franch, J. (2006). *Bases anatómicas em intervenciones quirúrgicas de pequeños animales*. pp.45 81.

- Mackeever, P.J. (1993b). Disorders of the anal sacs. In: Locke, P.H.; Harvey, R.G. & Mason, I.S. *Manual of small animal dermatology*. London: Bsava. pp.161-164.
- Mathews, K.A. (2000) Pain assessment and general approach to management. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 30, pp.729-757.
- Menousky, T.; Weerman, M.V.D.; Beek, J.F. (1996). *Effect of CO₂ miliwatt laser on peripheral nerves: part I*. Microsurgery. pp.562.
- Mich PM, Hellyer PW (2008). Objective, Categorical Methods for Assessing Pain and Analgesia. In: Gaynor Js, Muir WW III, (ed). *Handbook of veterinary pain management*. St Louis: Mosby. pp.78-107.
- Millis DL (2006). Perioperative and Chronic Pain Management in the Dog. *North American Veterinary Conference, eds. NAVCProceedings 2006*. Ithaca, New York USA: International Veterinary Information Service. Acedido em Dec. 26, 2008 disponível em: (www.IVIS.org).
- Miserendino, L.J.; Pick, R.M. (1995). *Lasers in dentistry*. Quintessence Publishing.
- Mison, M.B.; Bohart, G.H.; Walshaw, R. et al. (2002). *Use of carbon dioxide laser for onychectomy in cats*. J Am Vet Med Assoc. pp.651-653.
- Moll, G.R. (2006). *Mode lasers in small animal. "Veterinary Laser Surgery: A practical guide"*. 1sted. Blackwell Publishing. pp.111-135.
- Muir WW III, Gaynor JS (2008). Pain Behaviors. In: Gaynor Js, Muir WW. III ed. *Handbook of veterinary pain management*. St Louis: Mosby. pp.62-77.
- Murrell J.C., Psatha E.P., Scott E.M., Reid J., Hellebrekers L.J. (2008). Application of a modified form of the Glasgow pain scale in a veterinary teaching centre in the Netherlands. *Veterinary Record*, 162, pp. 403-408.
- Murphy, G.F. & Mihm, M.C. (2000). A pele. In: Cotran, R.S. Kumar, V.; Collins, T.; Robbins – *Patologia estrutural e funcional*. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. pp.1048-1086.

- Paul-Murphy J. (2007). Pain Management In: Harrison GJ, Lightfoot TL, eds. *Clinical Avian Medicine*. Ithaca, New York USA: International Veterinary Information Service. Acedido em Dec. 26, 2008, disponível em: www.IVIS.org.
- Pavletic, M.M. (2010). *Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery*. 3ed. Iowa: Wiley – Blackwell.
- Peavy, G.M. (2002). *Lasers and laser-tissue interaction*. Vet Clin North am Small Anim Pract. pp.517–534.
- Pécora, J.D.; Brugnera Júnior, A. *Breve Histórico do laser*. Acedido em set. 9 de 2013, disponível em: www.forp.usp.br/restauradora/laser/historia.html.
- Pinheiro, A.L.B.; Frame, J. W. (1998). Tratamento cirúrgico de patologias de tecidos moles do complexo maxilo facial. In: Brugnera Jr., A.; Pinheiro, A.L.B. *Lasers na odontologia moderna*. São Paulo, Pancast Editora. pp.177-192.
- Pulley, L.T. & Stannard, A.A. (1990). Tumors of the skin and soft tissues. In: Moulton, J.E. *Tumors in domestic animals*. 3ed. Berkeley: University of California. pp.23-87.
- Raskin, R.E. & Meyer, D.J. (2003). *Atlas de citologia de cães e gatos*. São Paulo: Roca.
- Robertson S.(2006). A Review of opioid use in cats In *Gleed RD, Ludders JW, eds.Recent Advances in Veterinary Anesthesia and Analgesia: Companion Animals*. Ithaca, New York USA: International Information Service Acedido em dec. 26, 2008, disponível em: www.IVIS.org.
- Robertson S.A. (2008). Perioperative analgesia for cats. In: *Southern European Veterinary Conference, eds. SEVC Proceedings*. Ithaca, New York USA: International Veterinary Information Service Acedido em dec. 26, 2008, disponível em: www.IVIS.org
- Ross, H.M.; Smelsoytoy , J.A.; Davis, G. J. et al. (2006). *Photodynamic therapy with motexafin lutetium for retal cancer: A pré-clinical model in the dog*. J. Sung Res. pp.323-530.
- Scott, D.W.; Miller, W.H; Griffin, C.E.; Muller & Kirk's (2002). *Dermatologia en pequeños animales*. 6ed. Buenos Aires: Intermédica. Pp.1-69

- Scheremi, S.; Szeimies, R.M.; karrer, S; Heinlin, J.; Landthaler, M.; Babilas, P. *The impact of the pH value on skin integrity and cutaneous wound healing. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* [SI] v.24, n.4, pp.373-378, april 2010. Acedido em 11 set 2013. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com>.
- Shurgalin; M.; Anastassiou, C. (2008). *A new modality for minimally invasive CO₂ laser surgery: flexible hollow-core photonic bandgap fibers.* Biomed Instrum Technol. pp.318-325.
- Simas, S.M. (2010). *O tratamento de feridas cutâneas em cães e gatos.* Monografia para obtenção de graduação em medicina veterinária. Porto Alegre.
- Sisson, S. & Grossman, J.D. (1977). *Anatomia de los animales domésticos.* 4ed. Barcelona: Salvet. pp.856-902.
- Souza, T.M. (2005). *Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães.* Dissertação para obtenção de Mestrado pela UFSM. Santa Maria, RS, Brasil.
- Souza, T.M.; Fighera, R.A.; Kommers, G.D.; Barros, C.S.L. (2009). *Aspectos histológicos da pele de cães e gatos como ferramenta para dermatopatologia.* Pesquisa veterinária brasileira. Departamento de Patologia. Universidade Federal de Santa Maria.
- Slatter, D. (1998). *Manual de cirurgia de pequenos animais.* 2ed. V.1. São Paulo: Manole.
- Taylor P.M., Robertson S.A. (2004). Pain management in cats – past, present and future. part 1. cat is unique. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6, pp.313-320.
- Taylor P.M., Robertson S.A. (2004). Pain management in cats – past, present and future. Part 2. treatment of pain clinical pharmacology. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6, pp.321-333.
- Wigdor, H.A. et al. (1995). *Lasers in Dent.* Lasers in Surg and Med. pp.103-133.
- Wilkinson, G.T. & Harvey, R.G. (1996). *Atlas colorido de dermatologia dos pequenos animais: guia para o diagnóstico.* 2ed. São Paulo: Manole. pp.304.
- Van Nimwegen, S.A.; Van Swol, C.F.; Kirpensteijn, J. (2009). *Neodymium: Yttrium Aluminum Garnet surgical laser versus bipolar electrocoagulation for laparoscopic ovariectomy in dogs.* Vet Surg. pp.353-357.

Vidigal, F. M., & Petroianu, A. (2010). *Assessment of surgical scars: a quantitative method*. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, 37(2), pp.121-127.

Viñuela-Fernández I., Jones E., Welsh E.M., Fleetwood-Walker S.M. (2007). *Pain mechanism and their implication for management of pain in farm and companion animals*. *Veterinary Journal*, 174, pp.227-239.

ANEXO I

Escala de dor da Universidade de Melbourne

Categoria	Descrição	Valor
1. PARÂMETROS FISIOLÓGICOS		
a.	Fisiologicamente normal	0
b.	Pupilas dilatadas	2
c. Escolha apenas uma	Percentagem da FC comparada com a pré-operatória >20% >50% >100%	1 2 3
d.	Percentagem da FR comparada com a pré-operatória >20% >50% >100%	1 2 3
e.	Temperatura retal acima da de referência	1
f.	Salivação	2
2. RESPOSTA À PALPAÇÃO		
Escolha apenas uma	Sem alteração Defesa/Reação aquando da palpação Defesa/Reação antes da palpação	0 2 3
3- ATIVIDADE		
Escolher apenas uma	Em repouso: Dorme Em repouso: Semiconsciente Em repouso: Alerta Come Deprimido Rolling	0 0 1 0 2 3
4- ESTADO MENTAL†		
Escolha apenas uma	Submisso Amigável Desconfiado Agressivo	0 1 2 3
5- POSTURA		
a.	Defende e protege a área afetada (inclui a posição fetal)	2
b. Escolha apenas uma	Decúbito lateral Decúbito Esternal Sentado e estático, Cabeça levantada Estático, Cabeça pendente Em movimento Postura anormal (ex. posição de reza ou curvado)	0 1 1 2 1 2
6- VOCALIZAÇÃO ‡		
Escolha apenas uma	Não vocaliza Vocalização quando manipulado Vocalização intermitente Vocalização constante	0 2 2 3

(Gaynor & Muir, 2008)

O examinador consulta as descrições em cada categoria e decide qual a que aproxima mais do comportamento do cão. O valor da descrição selecionada é adicionado à pontuação de dor. Algumas das descrições são mutuamente exclusivas (e.g um cão não pode estar em decúbito lateral ou de pé ao mesmo tempo), estando nestes casos as descrições agrupadas com a nota “escolha apenas uma”. A mínima pontuação de dor possível é 0 e a máxima pontuação de dor possível é 27. “Inclui virar a cabeça para o lado da zona afetada; morder, lambe ou arranhar a ferida; tentar morder o avaliador; músculos tensos e posição protetora. † Nesta categoria é necessário ter em conta a avaliação pré-cirúrgica, para estabelecer um comportamento de dominância/agressividade normal para o cão. A pontuação adquirida nesta categoria é a diferença absoluta entre a pontuação pré e pós-cirúrgica. ‡ Não inclui ladrar de alerta. 0 = comportamento oposto a sinais de dor; 1 = comportamento que não é oposto a sinal de dor, mas também não é indicativo de dor; 2 = comportamento indica dor ligeira ou moderada; 3 = comportamento que indica dor intensa.

(Gaynor & Muir, 2008)

ANEXO II

Folha de Registo dos Dados para o Estudo de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária										
									Nº	
Doente										
Idade		Raça				Sexo	F	M		
Peso	Kg									
Condição Corporal	Muito magro	Magro	Ideal	Excesso de peso		Obeso				
	1	2	3	4		5				
Patologia de Base										
1-			2 -			3 -				
Terapêutica concomitante		1-								
		2-								
		3-								
Procedimento Cirúrgico										
Tipo:										
Terapêutica instituída		1-								
		2-								
		3-								
Exames Complementares										
Hemograma	T0		T1		T2					
Albumina	T0		T1	* marcar com X no quadrado de modo a saber que foi realizado o exame no tempo considerado, e verificar as análises realizadas						
Proteínas Totais	T0		T1							
Avaliação da Região Incisionada										
Rubor	T1				T2					
Inflamação	T1	Sim	Não		T2	Sim	Não			
	Edema					Edema				
	Transudado					Transudado				
	Transudado modificado					Transudado modificado				
	Exsudato					Exsudato				
Espessura da região incisionada (mm)				T1				T2		
Presença de dor na região incisionada (Escala de Melbourne)				T1				T2		
Cicatrização estética em T3		Muito boa	Boa	Regular		Má (queloide)				
Informação para preenchimento do registo:										
As avaliações consideram 4 tempos				T0	antes da incisão					
				T1	24 h após a cirurgia					
				T2	8 dias após a cirurgia					
				T3	30 dias após a cirurgia					

ANEXO III

FOTOGRAFIAS

Fotografia 1: Incisão feita com bisturi no 1º dia.

(Fotografia original)



Fotografia 2: Incisão com bisturi 1 semana depois

(Fotografia original)



Fotografia 3: Incisão com bisturi 1 semana depois.

(Fotografia original)



Fotografia 4: Incisão com bisturi 1 mês depois.

(Fotografia original)



Fotografia 5: Incisão com laser 1 semana depois.

(Fotografia original).



Fotografia 6: Incisão com laser 1 mês depois

(Fotografia original)



Fotografia 7: Incisão com laser 1 semana depois.

(Fotografia original)



Fotografia 8: Incisão com laser 1 mês depois.

(Fotografia original)



Fotografia 9: incisão feita com laser de CO2.

(Fotografia original)



Fotografia 10: Incisão com laser de CO2.

(Fotografia original)



Fotografia 11: Incisão com laser de CO2.

(Fotografia original)



Fotografia 12: Incisão com laser de CO2.

(Fotografia original)

