



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA MECÂNICA

**"AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DO FLUIDO CREVICULAR
GENGIVAL DRENADO DE TECIDOS GENGIVAIS
CLINICAMENTE NORMAIS SUBMETIDOS À RADIAÇÃO
LASER EM BAIXA INTENSIDADE"
(ESTUDO EM *ANIMA NÓBILE*)**

LÍVIO DE BARROS SILVEIRA

Belo Horizonte, 04 de Julho de 2008.

Lívio de Barros Silveira

**"AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DO FLUIDO CREVICULAR
GENGIVAL DRENADO DE TECIDOS GENGIVAIS
CLINICAMENTE NORMAIS SUBMETIDOS À RADIAÇÃO
LASER EM BAIXA INTENSIDADE"
(ESTUDO EM ANIMA NÓBILE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia Mecânica.

Área de concentração: Calor e fluidos

Orientador: Prof.Dr. Marcos Pinotti Barbosa

Co-Orientador: Prof. Dr. Roberto Márcio de Andrade

Belo Horizonte

Escola de Engenharia da UFMG

2008

Dedicatória,

AO MEU PAI JUAREZ CORRÊA DA SILVEIRA (*in memoriam*),
À MINHA MÃE MARIA ANGÉLICA DE BARROS SILVEIRA,

A MINHA QUERIDA ESPOSA DORISLÉIA E
NOSSAS FILHAS FLÁVIA HELENA E LÍVIA MARIA

Agradecemos a todos que de alguma forma colaboraram na realização deste Trabalho e em especial:

Ao amigo Professor Orientador:

Professor Doutor Marcos Pinotti Barbosa (PPGEMECUFMG);

Ao amigo Professor Co-Orientador:

Professor Doutor Roberto Márcio de Andrade (PPGEMECUFMG);

Ao amigo Professor Colaborador:

Professor Doutor Vagner Rodrigues Santos (FOUFMG);

Ao amigo e colega:

Renato Araújo Prates pela ajuda na estatística;

Ao meu irmão Farmacêutico-Bioquímico

Glauco Paulo de Barros Silveira- Laboratório de Análises Clínicas SILFAR Ltda;

Às Minhas queridas tias Clymene e Cremilda pela colaboração na revisão;

Ao amigo Herbert Geovane de Carvalho – Termografista da CEMIG;

Aos amigos e companheiros Gerdal Roberto de Sousa; Marcus Vinícius Lucas

Ferreira; Breno Gontijo do Nascimento e José Cláudio Faria Amorim;

Aos professores e funcionários do departamento do Programa de pós-graduação - Engenharia Mecânica ;

Aos voluntários pelo espírito de colaboração o nosso muito obrigado!

À empresa MMóptics pelo empréstimo do equipamento Twin laser ($\lambda=780\text{nm}$ e $\lambda=680\text{nm}$) ;

Às Instituições:

- Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais - Programa de pós-graduação em Engenharia Mecânica – Laboratório de Bioengenharia e Termometria.

- Laboratório de Anatomia Patológica da UFMG

- CEMIG – Centrais Elétricas de Minas Gerais por ter cedido a Termocâmera.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	VI
LISTA DE GRÁFICOS.....	VIII
LISTA DE TABELAS E QUADROS.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XI
RESUMO.....	XIII
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo geral.....	15
2.2 Objetivo específico.....	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1 Do tecido Gengival.....	16
3.1.1 Do fluido Sulcular gengival.....	20
3.1.1.1 Métodos de coleta do fluido sulcular gengival.....	24
3.1.1.2 Composição do fluido gengival.....	27
3.1.1.3 Métodos de medição de volume de fluido sulcular gengival.....	31
3.1.1.3.1 Do Periotron.....	32
3.2. Efeitos Biológicos da terapia laser em baixa intensidade.....	34
3.2.1 Efeitos do laser de baixa intensidade sobre os vasos Sanguíneos.....	41
3.2.2 Efeitos do laser de baixa intensidade sobre tecidos gengivais e periodontais.....	45
3.3 Método de medição de temperatura sem contato em tecidos vivos.....	48
4 METODOLOGIA	51
4.1 Voluntários.....	51
4.2 Material	51
4.3 Método.....	53
4.3.1 Verificação de composição celular do fluido sulcular gengival.....	55
4.3.2 Verificação das medidas volumétricas do fluido gengival.....	58
4.3.3 Termografia dos tecidos gengivais.....	60
4.4 -Identificação de incertezas.....	64
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
5.1 Verificação de composição celular do fluido gengival.....	71
5.2 Verificação das medidas volumétricas do fluido gengival.....	82
5.3 Termografia no tecido gengival.....	89

6 CONCLUSÕES.....	94
7 PROPOSTA PARA TRABALHOS FUTUROS.....	95
ABSTRACT.....	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
ANEXOS.....	111
Anexo A.1 Termo de consentimento livre e esclarecido.....	111
Anexo B.1 Parecer do comitê de ética da UFMG.....	113
Anexo C.1 Modo de utilização do Kit Coloração panótico.....	114
Anexo D.1 Relatório emitido pelo termografista constando as medições de temperatura baseado no ensaio realizado nos tecidos gengivais de oito voluntários.....	115
Anexo E.1 Relação das tabelas de todos os voluntários contendo os dados com contagem celular em dez campos de cada região (sem laser, infravermelho e vermelho) antes e depois da irradiação com aumento de 1000X (ocular 10X e objetiva 100X).....	118
APÊNDICES.....	133
A.1 Do laser.....	133
A.2 Da Termocâmara.....	138

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Fotografia do tecido gengival mostrando suas divisões macroscópicas.....	16
FIGURA 2. Fragmento gengiva normal Corte Histológico HE 20X. (SILVEIRA, 2001)	17
FIGURA 3. Materiais utilizados em coleta para obtenção de Fluido sulcular gengival.....	24
FIGURA 4 Linfócito – Características e funções, (FANTONE e WARD, 1990).....	28
FIGURA 5 Neutrófilo – Características e funções, (FANTONE e WARD, 1990).....	29
FIGURA 6 Macrófago – Características e funções, (FANTONE e WARD,1990).....	29
FIGURA 7 Periopaper posicionado no interior do sulco gengival de um incisivo superior – Desenho do papel absorvente: a) Próximo da luz do sulco e b) dentro do sulco encontrando leve resistência , (Cimasoni, 1983).....	32
FIGURA 8 Base porta cartela, periopaper, Periotron com a base porta cartela e envelope contendo o periopaper – periopaper posicionado no sensor.....	33
FIGURA 9 Periotron – equipamento de medição de volume (Oralab) e tabela de conversão de volume.....	34
FIGURA 10 Resumo de CRUANES (1984) para efeitos do laser de baixa intensidade traduzido e colorido por Silveira (2001).....	35
FIGURA 11 Conceitos radiométricos para aplicações fotobiológicas para exposição de tecidos vivos. Setas descrevem a irradiação colimada e contínua, SLINEY 2007, adaptado por SILVEIRA (2008).....	38
FIGURA 12. Imagem termográfica da variação de temperatura no corpo humano e face.....	50
FIGURA 13. Equipamento Laser MMÓPTICS com duas ponteiros de $\lambda=680\text{nm}$ e $\lambda=780\text{nm}$	51
FIGURA 14. Transdutor eletrônico – PERIOTRON- Oraflow, Harco eletronic, Winnipeg.....	51
FIGURA 15. Kit de coloração PANÓTICO.....	52
FIGURA 16. Fotografia da termocâmara utilizada no experimento.....	52
FIGURA 17. Imagem clínica do tecido gengival com isolamento relativo indicativos das áreas de coleta.....	53
FIGURA 18. Fotografia mostrando fita posicionada no sulco gengival na maxila (A) e periopaper posicionados no sulco gengival na mandíbula (B)	54
FIGURA 19. Coleta do fluido com fita para esfregaço nas áreas A, B e C, antes da irradiação laser.....	55
FIGURA 20. Áreas controle sem laser (A), recebendo laser infravermelho (B) e recebendo laser Vermelho (C).....	56
FIGURA 21. Coleta do fluido com fita para esfregaço nas áreas A, B e C, após a irradiação laser.....	56

FIGURA 22. Esquema de coleta e realização de lâminas com esfregaço.....	57
FIGURA 23 . Kit de coloração Panótico e lâminas coradas.....	57
FIGURA 24. Coleta do fluido com periopaper das áreas A, B e C antes da irradiação.....	59
FIGURA 25. Áreas controle sem laser (A), recebendo laser infravermelho(B) e recebendo laser vermelho (C).....	59
FIGURA 26. Coleta do fluido com periopaper das áreas A, B e C após da irradiação.....	60
FIGURA 27 Fotografias do periopaper, Periotron e sensor do periotron.....	60
FIGURA 28. Foto da área frontal gengival , termocâmera utilizada e imagem termográfica frontal da área gengival.....	61
FIGURA 29. Áreas controle sem laser (A), recebendo laser infravermelho (B) e recebendo laser vermelho (C).....	62
FIGURA 30. Fotografia fotografias termográficas frontais das regiões gengivais antes e após a irradiação laser.....	63
FIGURA31. Conjunto de fotografias mostrando ensaio para conferir estabilidade de emissão do laser medido com Powermeter.....	65
FIGURA32. Indicativos de incerteza do Sistema de medição PERIOTRON esquematizado sobre desenho espinha de peixe.....	67
FIGURA 33. Esfregaço de fluido gengival,coloração panótico, neutrófilo, macrófago e colônia bacteriana - aumento 100X	69
FIGURA 34 Esfregaço de fluido gengival, coloração panótico, aumento 40X.....	70
FIGURA 35Esfregaço de fluido gengival,panótico, neutrófilo e macrófago– 400X e 1000X.....	70
FIGURA 36 Esfregaço de fluido gengival,coloração panótico, neutrófilo e macrófago–1000X.	70
FIGURA 37 Esfregaço de fluido gengival,coloração panótico, macrófago fagocitose – 400 e 1000X.....	70
FIGURA 38 Esfregaço de fluido gengival,coloração Panótico, neutrófilo, macrófago e Eosinófilo, 1000X.....	71
FIGURA 39 Desenho esquemático de um laser constando todos os seus componentes, BOUNOIS (1987).....	134
FIGURA 40 Composição da luz: Monocromaticidade e Coerência, (TAYLOR E FRENCH, 1987)	136
FIGURA 41 Desenho esquemático de um cristal laser semiconductor de diodo GaAs,CRUANES (1984), colorido por Silveira 2001.....	137
FIGURA 42 Fotografias de modelos de termocâmeras.....	140
FIGURA 43 Desenho esquemático do funcionamento de captura e transporte da imagem ao computador.....	140

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1 – Número de Neutrófilos por campo nos três grupos antes e após a irradiação. As barras representam o erro padrão.....73
- GRÁFICO 2 - Número de neutrófilos antes da irradiação. As barras representam o erro padrão. Os n° de células, por campo, antes da irradiação eram iguais nos três grupos ($p>0,05$).....75
- GRÁFICO 3 – Comportamento do número de Neutrófilos após da irradiação. As barras representam o erro padrão. Os n° de células, por campo, depois da irradiação eram iguais entre grupos ($p>0,05$).....76
- GRÁFICO 4 - Número de Macrófagos por campo nos três grupos antes e após a irradiação. As barras representam o erro padrão.....78
- GRÁFICO 5 – Comportamento do número de Macrófagos antes da irradiação. As barras representam o erro padrão. Os n° de células, por campo, antes da irradiação eram iguais nos três grupos ($p>0,05$).....80
- GRÁFICO 6 – Número de Macrófagos após as irradiação. As barras representam o erro padrão, após a irradiação, eram iguais nos grupos ($p>0,05$).....81
- GRÁFICO 7 Relação das diferenças entre as médias das medidas totais de quantidades de fluido sulcular gengival antes e após a irradiação laser realizadas pelo Periotron nos três grupos.....84
- GRÁFICO 8 - Relação das diferenças entre as médias das medidas de quantidades de fluido sulcular gengival realizadas pelo Periotron, antes e após a irradiação laser realizadas pelo periotron,84
- GRÁFICO 9 - Grupo sem laser. A figura ilustra as médias para o conjunto de dados apresentados referentes à coleta de fluido gengival. Nesse grupo o fluido foi colhido duas vezes, e não foi realizado nenhuma irradiação entre as duas coletas.85
- GRÁFICO 10 – Medidas do volume do fluido Sulcular antes e após aplicação do laser no grupo infravermelho e no grupo vermelho contendo a significância estatística.....86

GRÁFICO 11 - Relação de todas as medidas de volume do fluido realizadas pelo Periotron com sua significância estatística.....	87
GRÁFICO 12 - Relação de todas as médias das medidas de temperatura nas três áreas (sem laser, infravermelho e vermelho) antes e após o tempo de aplicação laser constando o desvio padrão.....	90
GRÁFICO 13 - Relação de todas as médias das medidas de temperatura nas três áreas (sem laser, infravermelho e vermelho) antes e após o tempo de aplicação laser constando o erro.....	90
GRÁFICO 14 – Diferença das médias das medidas de temperatura nas três áreas individuais (sem laser, infravermelho e vermelho) antes e após o tempo de aplicação laser	91
GRÁFICO 15 - Diferença entre as variações das médias de temperatura obtidas antes e após o tempo de aplicação, entre os três grupos.....	92

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Contagem de neutrófilos (Média de células por campo).....	72
TABELA 2 Neutrófilos - Valores de ρ para cada uma das comparações. Para grupos serem diferentes $\rho < 0,05$	74
TABELA 3 Contagem de macrófagos (média das células por campo).....	77
TABELA 4 Macrófagos - Valores de ρ para cada uma das comparações. Para grupos serem diferentes $\rho < 0,05$	79
TABELA 5 Dados de medições volumétricas realizadas com auxílio do Periotron nas três áreas – sem laser (A), IV e V	83
TABELA 6 Teste –t pareado para duas amostras.....	86
TABELA 7 Teste –t Não- pareado para duas amostras.....	87
TABELA 8 Dados de medições de temperatura em °C realizadas com auxílio de uma termocâmara.....	89
TABELA 9 Variação das diferenças das médias das medições de temperatura em °C realizadas antes e após a irradiação entre os três grupos.....	91

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Sugestão de quantidades de energias a serem aplicadas durante a terapia laser em baixa intensidade, (HERRERO, 1986).....	39
QUADRO 2 – Sugestão de energias com valores de doses após aplicação do fator de conversão de 1 x 25 (MMóptics).....	39
QUADRO 3 – Ilustração do resultado final da experimento.....	93

LISTAS DE SIGLAS OU ABREVIATURAS

AsGa: Arseneto de Gálio

AsGaAl: Arseneto de Gálio e Alumínio

ATP: Adenosina-trifosfato

Ca: Cálcio

°C: Graus centígrados

cm: Centímetro

cm²: Centímetro quadrado

λ : Comprimento de onda

CO: Comprimento

CO₂: Dióxido de carbono

DE: Densidade de energia

DP: Densidade de potência

DNA: Ácido desoxirribonucleico

E: Energia

F: Fluência

GCF: Fluido sulcular gengival

GRA: gráfico

He-Ne: Hélio e Neônio

Hz: Hertz

I: Intensidade

IgE: Imunoglobulina E

IL-1: interleucina 1

IL1 β : interleucina 1 β

IL-6: interleucina 6

IR: Infravermelho

IV: Infravermelho

InGaAlP: Índio-Gálio-Alumínio-fosfato

J: Joules

J/cm²: Joules por centímetro quadrado

K: Potássio

LASER: Light amplification by stimulated emission of radiation

LA: Largura

LED's: Light Emitting Diode (Diodo emissor de luz)

m: Metro

min: Minuto

mm: Milímetro

MMP-8: metaloproteinase-8

mW: Miliwatts

mW/cm²: Miliwatts por centímetro quadrado

µm: Micrômetro

Nº : Número

Na : Sódio

Nd:YAG: Neodímio:YAG

nm: Nanômetro

P: Potência

RNA: Ácido Ribonucléico

Rpm: rotações por minuto

S: segundo

T: Tempo

TNF-α: fatores de necrose tumoral alfa

W: Watts

V: Vermelho

<: Menor que

>: Maior que

et al.: e colaboradores

% : por cento

1/3: um terço

RESUMO

Nesta área da periodontia em que se situam os tecidos gengivais, a circulação sanguínea periférica do periodonto e o líquido sulcular gengival (proveniente do sulco gengival) são as duas importantes barreiras imunológicas que atuam na defesa dessa região, que é, por excelência, a porta de entrada e instalação da doença periodontal. O presente estudo objetiva avaliar a utilização de uma conduta conservadora, não invasiva, de ativação da barreira imunológica contra a instalação da doença periodontal associada à placa bacteriana, estimulando o tecido gengival através da aplicação do laser em baixa intensidade utilizando dois comprimentos de onda diferentes, avaliando as alterações ocorridas no fluido sulcular gengival drenado de tecidos gengivais clinicamente normais submetidos à radiação laser em baixa intensidade. Para este estudo foram selecionados 30 voluntários, com idade entre 18 e 60 anos, com estruturas dentais e periodontais clinicamente normais. Foram selecionadas 6 áreas gengivais interproximais anteriores de cada voluntário sendo 3 na maxila e 3 na mandíbula. Na maxila, uma área não recebeu nenhum tipo de irradiação, uma área foi submetida a irradiação laser de baixa intensidade de $\lambda = 780$ nm e uma área foi submetida a irradiação laser de $\lambda = 680$ nm. O mesmo procedimento se repetiu para a mandíbula. O protocolo utilizado constou de potência de 40 mW (área de spot de $0,04$ cm²) para os diferentes tipos de feixe laser, com tempo de irradiação de dois minutos e meio resultando numa dose de 150 J/cm². Baseado nos conhecimentos do comportamento dos tecidos gengivais e após a irradiação laser em dois comprimentos de onda, foram observados e analisados: 1) o conteúdo do fluido sulcular gengival coletado avaliando sua composição celular (Neutrófilos e Macrófagos), 2) a variação da quantidade de volume do fluido medida pelo Periotron e 3) as variações de temperatura justificadas pelo aumento de irrigação sanguínea, registradas por uma termocâmera. Baseando-se nos resultados pode-se concluir que: nas comparações entre variações de volume e presença celular, os lasers de baixa intensidade de emissão infravermelha ($\lambda = 780$ nm) e vermelha ($\lambda = 680$ nm), nas condições do presente estudo, promoveram o aumento de volume do fluido sulcular gengival drenado como também o aumento do número de macrófagos presentes em sua composição, mas somente o laser vermelho ($\lambda = 680$ nm) promoveu uma redução no número de neutrófilos presentes em sua composição. Os testes de variação de temperatura indicaram que a aplicação dos lasers de baixa intensidade sobre os tecidos gengivais promoveram uma mudança média menor que $0,5^\circ$ C, não ocasionando dano térmico.

Palavras chaves: Laser em baixa intensidade, fluido sulcular gengival, macrófagos, neutrófilos, Periotron, termografia.

1 - INTRODUÇÃO

Na atualidade, com o aprofundamento do entendimento das enfermidades do homem, a necessidade de manutenção da saúde geral inclui também a saúde dos tecidos gengivais que circundam o dente (Periodonto).

Nesta área da periodontia em que se situam os tecidos gengivais, a circulação sangüínea periférica do periodonto e o líquido sulcular gengival (que normalmente sai do sulco gengival) são as duas importantes barreiras imunológicas que atuam na defesa dessa região, que é, por excelência, a porta de entrada e instalação da doença periodontal.

Este líquido, determinado como fluido sulcular gengival, atua como barreira imunológica em um momento, como veículo de transporte de células imunológicas para o interior do sulco, e em outro como responsável pela limpeza mecânica baseada no aumento de drenagem de fluido sulcular para área externa do sulco gengival. Portanto, o volume e a qualidade do fluido sulcular gengival são importantes controladores da população microbiana que provoca injúria aos tecidos e estruturas periodontais causando a doença.

A utilização de procedimentos na Odontologia com auxílio de recursos luminosos vem ganhando espaço na aplicabilidade clínica nas áreas de diagnóstico e tratamento.

Atualmente, estuda-se o mecanismo de ação do Laser em baixa intensidade na estrutura celular e tecidual, seja no aspecto morfológico ou fisiológico. Apesar dos diversos trabalhos registrados na literatura, ainda existem muitas questões a serem esclarecidas no que se refere a interação da radiação proveniente do Laser e do diodo emissor de luz e a matéria viva.

Nessa ampla área da biologia, novos estudos se impõem com a finalidade de esclarecer pontos que, uma vez evidenciados, poderão contribuir para o aperfeiçoamento da terapêutica pelo Laser e LED. Desta forma, o presente estudo tem como objetivo utilizar uma conduta não invasiva de ativação da barreira imunológica contra a instalação da doença periodontal associada à placa bacteriana, estimulando o tecido gengival por meio da aplicação do laser em baixa intensidade, comparando a ação de dois comprimentos de onda diferentes.

2 - OBJETIVOS

2.1- Objetivo geral:

O objetivo do presente estudo é avaliar as alterações qualitativas (composição) e quantitativas (volume) do fluido sulcular gengival drenado de tecido gengival clinicamente normal submetido a irradiação laser em baixa intensidade com dois diferentes comprimentos de onda.

2.2 - Objetivos específicos:

1 – Verificar e comparar as possíveis alterações nas concentrações dos componentes celulares do fluido sulcular gengival (Neutrófilos e Macrófagos) após aplicação do laser em baixa intensidade com comprimentos de onda de 680 nm e 780 nm;

2 – Avaliar e comparar em tecidos gengivais clinicamente saudáveis as possíveis diferenças no volume do fluido sulcular gengival promovidas por dois tipos de irradiações laser com comprimentos de onda de 680 nm e 780 nm.

3 – Obter uma relação comparativa entre as variações de quantidade e qualidade de fluido sulcular gengival drenado de tecidos gengivais estimulados pelas irradiações laser de baixa intensidade.

4- Identificar e comparar as variações de temperatura teciduais antes e após as irradiações lasers com comprimento de onda de 680 nm e 780 nm.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Do tecido gengival

Baseando-se nas suas características clínicas normais, a gengiva pode ser dividida em marginal, inserida e interdentária.

A gengiva marginal livre, ou não inserida, é a margem ou borda da gengiva que circunda os dentes, apresenta largura ao redor de 1 mm e forma a parede de tecido mole do sulco gengival.

A gengiva inserida é contínua com a gengiva marginal, possui estrutura firme, resiliente e está firmemente aderida ao perióstio subjacente do osso alveolar. Sua face vestibular¹ estende-se em direção à mucosa alveolar, que é relativamente frouxa e móvel, a qual está demarcada pela junção mucogengival². A largura da gengiva inserida é a distância entre a junção mucogengival e a projeção da base do sulco gengival, ou da bolsa periodontal, na superfície externa. Logo, podemos concluir que, a gengiva ceratinizada é a soma da gengiva marginal ou livre com a inserida. A faixa de gengiva inserida é variável na face vestibular em diferentes áreas da boca, sendo maior na área de incisivos (3,5 a 4,5 mm, na maxila e 3,3 a 3,9 mm na mandíbula), diminuindo nas regiões posteriores. A junção mucogengival permanece estável ao longo da vida adulta, no entanto, alterações na largura da gengiva inserida são devidas a modificações na posição coronária o que aumenta com a idade, ITOIZ e CARRANZA, (1997).

A gengiva interdentária ocupa a ameia gengival, que é o espaço interproximal situado abaixo da área de contato dental, podendo ter o formato piramidal ou de “col” (FIG 1).

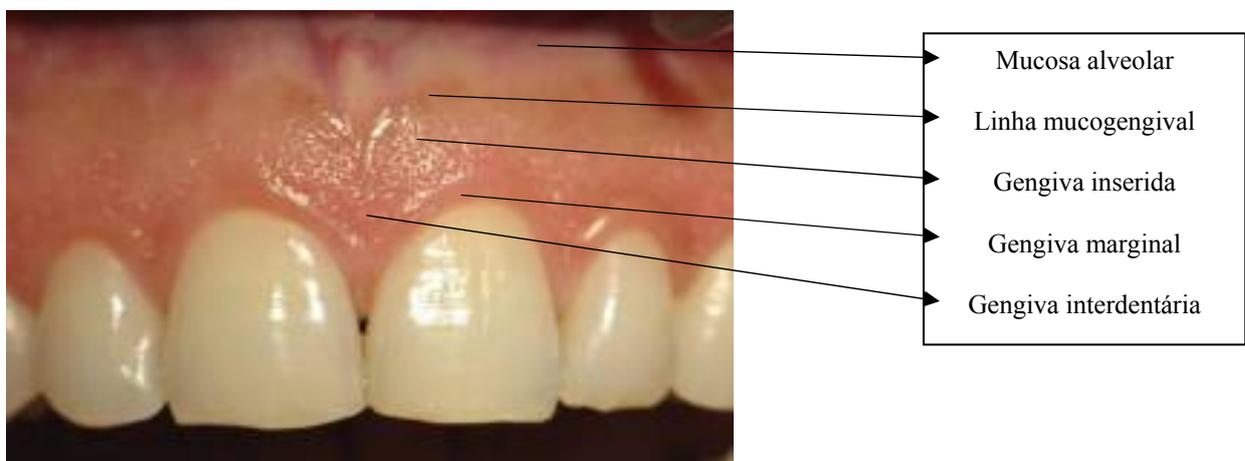


FIGURA 1 - Fotografia do tecido gengival mostrando suas divisões macroscópicas.

1 Parte gengival voltada para fundo de saco do vestibulo e mucosa jugal.

2 Linha que indica o limite entre o tecido mucoso e o tecido gengival.

Baseado em aspectos microscópicos normais, apesar de o epitélio gengival se constituir de um contínuo revestimento de epitélio escamoso estratificado, podem-se definir três áreas distintas do ponto de vista morfológico e funcional: epitélio oral ou externo, o epitélio sulcular e o epitélio juncional, (LINDHE e KARRING, 1992); (FIG 2).

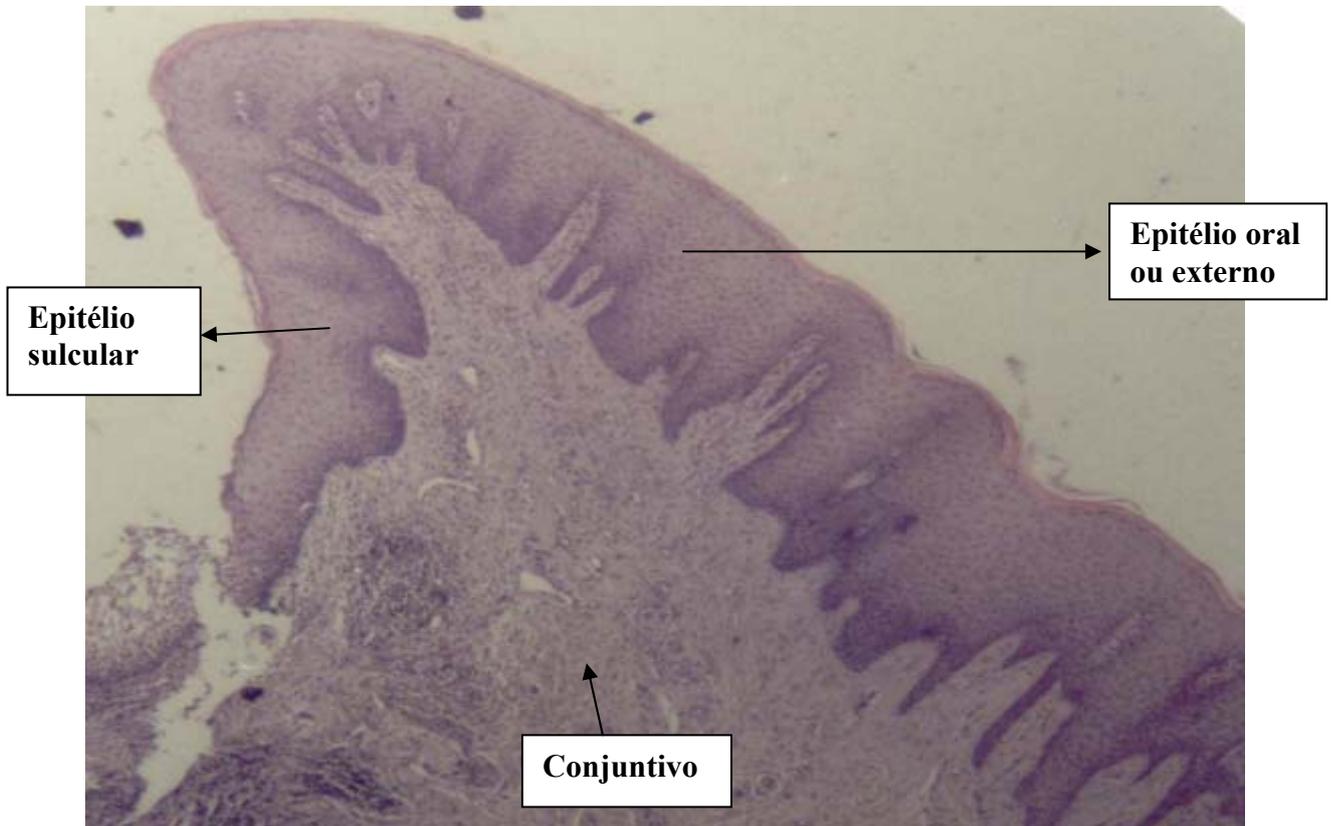


FIGURA 2 – Fragmento de gengiva normal, corte Histológico – HE 20X. (SILVEIRA,2001)

O principal tipo celular do epitélio oral e gengival, assim como também de outros epitélios escamosos estratificados, é o queratinócito. Outros tipos não queratinócitos ou células claras são as de Langherans, Merkel, e os melanócitos. A função do epitélio gengival é proteger as estruturas mais profundas e permitir trocas seletivas com o ambiente local.

O Epitélio oral ou externo que reveste a crista e a superfície externa da gengiva marginal e inserida, é paraqueratinizado (FIG 2). O grau de queratinização diminui com a idade.

Já o epitélio sulcular é responsável pelo revestimento do sulco gengival; ele é escamoso estratificado fino, não-queratinizado, sem cristas epiteliais, estendendo-se desde a porção coronária do epitélio juncional até a crista da margem gengival. Apresenta numerosas células com degeneração hidrópica e não apresenta os estratos córneo e granuloso. Estudos histoquímicos revelam consistentemente um grau menor de atividade do que o epitélio externo,

particularmente no caso de enzimas relacionadas à queratinização. Esse epitélio sulcular tem o potencial de se queratinizar se for refletido e exposto à cavidade oral ou se a flora bacteriana do sulco for totalmente eliminada. Inversamente, o epitélio externo perde sua queratinização quando entra em contato com o dente. O epitélio sulcular é extremamente importante porque pode agir como uma membrana semipermeável através da qual produtos bacterianos prejudiciais passam para dentro da gengiva e pelo qual o fluido sulcular é exsudado para dentro do sulco (FIG 2).

O Epitélio Juncional consiste em uma faixa em formato de colar de epitélio escamoso estratificado não queratinizado constando de 3 a 4 camadas no início de vida e de 10 a 20 camadas com a idade, agrupadas em dois estratos: basal e supra-basal. Exibe menor atividade de enzima glicolítica do que o epitélio externo. Está aderido ao dente por meio de uma lâmina interna e ao tecido conjuntivo gengival através de uma lâmina basal externa, aderência esta reforçada pelas fibras gengivais que apertam a gengiva marginal contra a superfície dentária. Logo, o epitélio juncional, em conjunto com as fibras gengivais, é conhecido como unidade dento – gengival, (LINDHE e KARRING, 1992).

O desenvolvimento do sulco gengival e epitélio sulcular ocorre depois de completada a formação do esmalte, este é recoberto pelo epitélio reduzido do esmalte que está aderido ao dente por uma lâmina basal e hemidesmossomas³. Quando o dente penetra a mucosa oral, o epitélio reduzido do esmalte une-se com o epitélio oral e transforma-se no epitélio juncional. À medida que o dente faz erupção, esses epitélios unidos condensam-se ao longo da coroa, e os ameloblastos (que formam a camada interna do epitélio reduzido do esmalte), são gradualmente substituídos por células epiteliais escamosas. O sulco gengival aparece quando o dente irrompe na cavidade oral e é definido pelo espaço ou sulco em forma de um V formado entre a gengiva e o dente, que circunda toda a ponta da coroa do dente recém-irrompido.

Prosseguindo a descrição, o tecido logo abaixo do epitelial definido como conjuntivo da gengiva é conhecido como lâmina própria e consiste de duas camadas: camada papilar subjacente ao epitélio, que consiste em projeções papilares entre as cristas epiteliais, e a camada reticular adjacente ao periósteo do osso alveolar, confirmando a descrição de GLICKMAN (1983). Este tecido conjuntivo possui ainda um compartimento celular e um intercelular. O colágeno tipo I forma o corpo da lâmina própria e garante resistência à tensão ao tecido gengival. O colágeno tipo IV (fibras reticulares argirófilicas) ramifica-se em braços que são contínuos com membrana basal e parede dos vasos.

³ Estruturas que ligam a membrana plasmática de uma célula a lâmina basal adjacente, por meio de filamentos de queratina que estão ligados à proteína de ancoramento.

Os sistemas de fibras são compostos de oxitalanina, eulanina e fibras elásticas distribuídas entre fibras colágenas. A matriz intercelular também contém proteoglicanas (principalmente o ácido hialurônico e condroitina sulfato) e glicoproteínas (principalmente fibronectina). As fibronectinas unem os fibroblastos com as fibras e com vários outros componentes da matriz intercelular, (LINDHE e KARRING, 1992).

O tecido conjuntivo da gengiva marginal é composto de colágeno denso, contendo um proeminente sistema de feixes de fibras colágenas conhecido como fibras gengivais, que são compostas de colágeno tipo I e possuem as seguintes funções de: comprimir a gengiva marginal firmemente de encontro ao dente; prover a rigidez necessária para suportar as forças mastigatórias sem ser descolada da superfície do dente e unir a gengiva marginal livre com o cemento radicular e a gengiva inserida adjacente. Estas fibras gengivais são divididas em três grupos: dento gengival, circular e transseptal. (ITOIZ e CARRANZA, 1997).

Tipos celulares também estão presentes no tecido conjuntivo.

O elemento celular preponderante no tecido conjuntivo é o fibroblasto que é responsável pela síntese de colágeno, fibras elásticas, glicoproteínas e glicosaminoglicanos da substância amorfa intercelular. Ele também regula a degradação do colágeno.

Mastócitos, que estão distribuídos por todo o organismo, são numerosos no tecido conjuntivo da mucosa oral e da gengiva; macrófagos fixos e histiócitos estão presentes no tecido conjuntivo gengival como componentes do sistema fagocitário mononuclear (sistema retículo-endotelial) derivados de monócitos do sangue; células adiposas e eosinófilos, apesar de raras, também estão presentes na lâmina própria; pequenos focos de linfócitos e células plasmáticas são encontrados no tecido conjuntivo, próximo à base do sulco.

Neutrófilos, em número relativamente alto, podem ser observados no tecido conjuntivo gengival e no sulco, (ITOIZ e CARRANZA 1997, LOE *et al.*, 1997).

O sistema circulatório responsável por manter e nutrir o tecido gengival é composto de circulação sanguínea e linfática.

Existem três fontes de suprimento sanguíneo para a gengiva. A primeira através das Arteriolas supraperiósticas ao longo das superfícies vestibulares e linguais do osso alveolar, a partir das quais se estendem capilares ao longo do epitélio sulcular e entre as papilas digitiformes da superfície externa da gengiva (Eventuais ramificações das arteriolas passam através do osso alveolar em direção ao ligamento periodontal). A segunda, pelos vasos do ligamento periodontal, os quais se estendem para dentro da gengiva e se anastomosam com os capilares da área do sulco e a terceira pelas arteriolas que emergem da crista do septo interdentário e se estendem

paralelamente à crista óssea para se anastomosar com vasos do ligamento periodontal, capilares nas áreas do sulco gengival e vasos que correm sobre a crista alveolar.

A drenagem linfática da gengiva é feita pelos vasos linfáticos do tecido conjuntivo da papila prosseguindo pela rede coletora externa do perióstio dos processos alveolares, chegando aos nódulos linfáticos regionais (particularmente submaxilares) e também pelos vasos linfáticos situados logo abaixo do epitélio juncional se estendem em direção ao ligamento periodontal, acompanhando os vasos sanguíneos.

A distribuição topográfica da rede capilar sanguínea e linfática na região subepitelial do sulco gengival foi investigada por KINDLOVA e PLACKOVA (1973) num estudo realizado em ratos.

A inervação gengival é derivada de fibras provenientes de nervos do ligamento periodontal e dos nervos palatino, bucal e lingual. As estruturas nervosas presentes no tecido conjuntivo são compostas de: uma rede de terminais argirófilas, das quais algumas penetram no epitélio; de corpúsculos táteis do tipo Meissner e Pacini; terminações em bulbo do tipo Krause e Ruffini, que são receptores de temperatura e aspirais encapsuladas, (ITOIZ e CARRANZA, 1997).

Esta condição de normalidade pode, em alguns casos, ser alterada por fatores externos tais como presença de placa bacteriana que uma vez no interior do sulco pode induzir uma reação inflamatória.

O conjuntivo próximo a parte mais apical do epitélio sulcular ou da bolsa periodontal, por estar subjacente a um epitélio permeável sujeito a agressões, sempre apresentou uma reação inflamatória mais intensa com acúmulo de células do sistema imunológico, como também uma redução no número de mastócitos em relação ao conjuntivo da vertente externa subjacente ao epitélio oral que não possui permeabilidade, como definiu SILVEIRA (1985).

Foram descritas por GARROCHO e LOPES (1990) que podem estar presentes no epitélio na vertente interna que compõe a parede mole do sulco gengival, algumas alterações patológicas do tipo exulceração, ulceração, degeneração e alterações morfológicas principalmente acantose e presença de queratina.

3.1.1 Do fluido sulcular gengival

A presença do fluido sulcular foi notada desde o século XIX, mas, sua composição e possível papel nos mecanismos de defesa bucais só foram elucidados pelos trabalhos pioneiros na década de 50 com BRILL e KRASSE (1958) que, injetando fluorceína sódica em cães por via

endovenosa, verificaram, após trinta segundos, a sua presença no fundo do sulco gengival clinicamente sadio e em três minutos o material fluorescente recobriu as tiras de papel filtro introduzidas no sulco. Os mesmos autores, em 1959, constataram que a estimulação mecânica de curta duração sobre a gengiva marginal clinicamente sadia, provoca aumento de fluido tecidual no fundo do sulco gengival.

RATCLIFF (1966) injetou, por via endovenosa, carbono coloidal em ratos “Holtzman” e constatou que os fluidos intertissuais que nutrem os tecidos epitelial e conjuntivo transportam partículas do carbono coloidal através destes dois tecidos para dentro do sulco gengival. Isso indicou a passagem do fluido da corrente sanguínea através dos tecidos, para sair pelo sulco gengival, achados confirmados por CARRANZA e BULKAZ (1997). Os autores demonstraram a capacidade que o fluido gengival possui de expulsar partículas estranhas e bactérias do interior do sulco.

O fluxo do fluido tecidual que passa através do epitélio do sulco e sua possível função biológica como ação anti-bacteriana e de limpeza mecânica, considerada por alguns como função tecidual normal, tem sido objetivo de pesquisas nos mais variados aspectos por grande número de pesquisadores nos últimos vinte anos, (CARVALHO *et al.*, 1980).

CARRANZA e BULKAZ (1997) confirmando estudos anteriores relatam que o sulco gengival contém um fluido que exsuda no seu interior, proveniente do tecido conjuntivo gengival passando através do fino epitélio sulcular. Os mesmos autores acreditaram que o fluido possa lavar o sulco de substâncias, conter proteínas plasmáticas que podem melhorar a adesividade do epitélio ao dente, possuir propriedades antimicrobianas e iniciar a atividade dos anticorpos na defesa da gengiva.

Baseado no comportamento, o aumento do volume do fluido gengival é notado no horário de seis horas da manhã às vinte e duas horas por: estímulo da mastigação (massagem gengival), influência de hormônios sexuais femininos (Ovulação, gravidez, contraceptivos hormonais) relacionados a progesterona e estrógeno que aumentam a permeabilidade vascular, Fumo e após terapia periodontal (processo de cicatrização), (CARRANZA JR e BULKAZ, 1997).

Os mesmos autores comentam que, alguns medicamentos ministrados sistemicamente, são liberados no fluido sulcular gengival, sendo de importância significativa na conduta terapêutica medicamentosa no auxílio do tratamento das infecções periodontais. A tetraciclina e o metronidazol são medicamentos excretados no fluido gengival em quantidades maiores e possuem uma efetividade grande no combate a agentes microbianos específicos da região

periodontal, lembrando que a tetraciclina não pode ser utilizada em idades que incluem épocas de formação de esmalte dentário (infância).

Considerando a importância do fluido como indicador de atividade de doença, SMITH *et al* (1992) já relacionavam a quantidade e a qualidade do fluido em áreas normais, com gengivites e com periodontites, como também em diferentes áreas em um mesmo dente. Amostras de fluido sulcular gengival indicavam diferenças relacionando o aumento de volume com a gravidade da doença, uma vez que a formação do fluido sulcular gengival é o resultado de vasodilatação acompanhada pelo aumento da permeabilidade vascular gerada pela resposta inflamatória dos tecidos periodontais. Este aumento do fluxo do fluido gengival e a migração de PMN na gengiva, geralmente presentes no sulco gengival, são resultantes de uma resposta inflamatória induzida por placa subgengival.

EMBERY e WADDINGTON (1994) afirmam que o fluido possui uma variedade de substâncias que servem como potenciais marcadores de atividade de doença periodontal e podem ser divididos em grupos: grupo da placa microbiana (endotoxinas, enzimas e produtos finais de metabolismo); grupo da perda celular (enzimas dos leucócitos, lactoferrinas e lisozimas); grupo da perda tecidual (colágeno, proteoglicanos e matriz protéica) e fatores de perda relacionado à resposta imune (imunoglobulinas, complemento e citocinas).

OLIVEIRA *et al.* (2001) relatam que a patogênese das periodontites está relacionada à produção de várias enzimas, liberadas por células conjuntivas, epiteliais ou inflamatórias e a análise bioquímica do fluido gengival oferece um método não invasivo de detectá-las. Os principais componentes do fluido gengival passíveis de serem utilizados como marcadores para o diagnóstico de atividade de doença periodontal são: bactérias subgengivais e seus produtos, mediadores inflamatórios e imunes, enzimas hidrolíticas (β -glicuronidase e arilsulfatase, fosfatase ácida e alcalina, mieloperoxidase, lisozima e lactoferrina) e proteolíticas (colagenase, elastase, catepsinas B e L, Dipeptidilpeptidases II e IV, Triptase) liberadas por células inflamatórias, enzimas liberadas por morte celular (Aspartato aminotransferase, desidrogenase láctica) e produtos da degeneração tecidual. Os autores ainda comentam sobre obstáculos relacionados quanto à técnica para coleta de amostras do fluido sulcular gengival e quanto à computação do registro da atividade enzimática.

Podendo ser coletado não invasivamente e sua composição refletir a situação dos tecidos periodontais, o fluido se torna importante no auxílio do diagnóstico periodontal, (GRIFFITHS, 2003).

OZMERIC (2004) após realizar uma revisão sobre marcadores de doença periodontal baseada em dez anos, coloca a utilidade do fluido sulcular gengival (como parte benéfica) como indicador do estado periodontal por meio da investigação de seus componentes.

SILVA *et al.* (2004) relataram que o fluido era gerado por um estímulo químico ou mecânico, depositado sobre o tecido gengival, que desencadearia uma reação inflamatória, promovendo um aumento da permeabilidade, permitindo saída de líquidos dos vasos. Os autores confirmam que o fluido é composto por: substâncias derivadas do soro, leucócitos, bactérias, células epiteliais descamadas, células de tecido conjuntivo além de macromoléculas diversas derivadas dos tecidos gengivais e ósseos; refletindo processo de saúde e doença periodontal.

Também CHIOCA *et al.* (2005), relatam que com o intuito de aprimorar e proporcionar uma maior decisão no diagnóstico, estudos sobre a quantificação e composição do fluido, vem sendo realizados. O fluido parece ser um meio para monitoramento das mudanças ocorridas durante o desenvolvimento da doença periodontal. Nesse estudo os autores concluíram que os tecidos saudáveis possuem menos vitronectina e fibronectina e que a presença de glicoproteínas no fluido gengival foi um bom indicador para o diagnóstico de inflamação gengival.

KURTIS *et al.* (2005) relataram que a colonização de múltiplas espécies bacterianas na superfície do dente origina um processo inflamatório gengival e em alguns casos ativa a destruição de tecido conjuntivo e ósseo alveolar. Componentes microbianos da placa bacteriana têm a capacidade de ativar os mecanismos de defesa local do hospedeiro induzindo uma resposta inicial, ou seja, um infiltrado de células inflamatórias incluindo linfócitos, macrófagos e leucócitos polimorfonucleares (PMN). A ativação por produtos bacterianos, de monócitos/macrófagos, linfócitos e células teciduais do hospedeiro local, como fibroblastos e células endoteliais vasculares, leva a sintetizar uma variedade de citocinas que possuem efeitos pró inflamatórios importantes relacionados à destruição óssea e indução de proteinases nos tecidos. Os produtos agem como quimiotáticos e ativam diferentes subconjuntos leucócitos.

HATIPOGLU *et al.* (2007), registraram parâmetros clínicos e quantidades de fluido sulcular gengival em 931 amostras locais de regiões dos maxilares. Foram comparados os potenciais das diferenças volumétricas de locais específicos com saúde e doença (gengiva saudável, gengivite e periodontite); entre dentes com anatomias diferentes (multiradicular e uniradicular) e locais de amostragem em um mesmo elemento dental (mesio-buciais ou disto-buciais). As correlações entre volume e medidas clínicas foram estatisticamente analisadas. Os resultados mostraram que embora o volume aumentasse dentro de uma relação saúde-doença (gengiva normal produziria menos fluido do que um tecido inflamado com gengivite e que este produziria menos fluido do que um tecido com comprometimento mais grave como um caso de periodontite), a sua

distribuição era difundida, dentes Multiradiculares apresentaram mais volume de fluido e até mesmo locais interproximais mesio-bucais ou disto-bucais exibiram algum aumento volumétrico. Os autores concluíram que a distribuição de volume do fluido sulcular gengival está relacionada à doença em geral e que a gama extensiva de distribuição volumétrica, a natureza local-específica e a limpeza impõem ao local de amostragem uma diferença de volume. As correlações entre volume e medidas clínicas foram estatisticamente analisadas .

3.1.1.1 Métodos de coleta de Fluido sulcular gengival

O obstáculo mais difícil de ser superado durante a coleta do fluido gengival é a escassez de material que pode ser obtida do sulco. Diferentes métodos de coleta foram tentados utilizando-se tiras de papel absorvente, roscas espirais (colocadas em torno dos dentes dentro dos sulcos), micropipetas e lavagens intra-sulculares.

LOE e HOLM-PERDESEN (1965), colocaram uma tira de papel de filtro logo na entrada da bolsa ou acima e, deste modo, o fluido vertente é captado pela tira, sem permitir que o epitélio sulcular tenha ou entre em contato com papel.

Roscas espirais pré-pesadas foram usadas por WEINSTEIM *et al.* (1967). As roscas eram posicionadas no sulco gengival ao redor do dente e a variação na quantidade de fluido coletada era estabelecida pela pesagem da rosca com a amostra.

O uso de micropipetas permite a absorção do fluido por capilaridade. Tubos capilares de diâmetro e peso padronizados são colocados na bolsa e o seu conteúdo é posteriormente centrifugado e analisado. Os materiais estão ilustrados na FIG 3.



FIGURA 3 - Materiais utilizados em coleta para obtenção de fluido sulcular gengival .

Lavagens sulculares podem ser usadas para estudar o conteúdo do fluido de gengivas clinicamente normais. O método propôs o uso de tubos capilares plásticos para a coleta de fluido gengival e micro centrifugação dos mesmos contendo material para sua avaliação. Essa técnica está inspirada no trabalho de Brandtzaeg e Mann (1964) e é utilizada com sucesso em larga escala por MANN e STOFFER (1964) como também em outros laboratórios.

Os tubos capilares que possuem diâmetro interno de 1,1 mm (JANKEE micro-hematocrit Tubes, Clay-adams, em Nova York), eram selecionados e para desinfecção dos mesmos, eram aproximados a um bico de Bunsen. Após o isolamento da área, a extremidade do tubo foi colocada em contato com borda marginal do tecido gengival para coletar o fluido. O procedimento foi repetido com vários tubos capilares que eram então depositados na extremidade de um outro tubo de micro centrifugação de plástico. Os conteúdos do fluido foram separados por centrifugação a 3.000 rotações por minuto durante 5 min.

MASSLER e SCHOUR (1949), após coletarem 10 – 40 µl de fluido do sulco gengival da região ao redor de dentes anteriores superiores em aproximadamente 15 min, usando micropipetas calibradas por aspiração, obtiveram após centrifugação dos tubos, volumes conhecidos de sobrenata do fluido. Microcapilares padronizados também foram usados por Krekeler, que propôs para o uso de recipiente o próprio tubo capilar sempre trabalhando em condições estéreis.

Os métodos utilizados para análise dos componentes do fluido são: Fluorometria para detecção de metaloproteases; ELISA para detectar níveis de enzimas e interleucina 1-beta; Radioimunoensaios para detectar derivados de oxigenase e procolágeno III; Cromatografia líquida de alta pressão para timidazole e proteínas de fase aguda detectadas por imunodepósitos direto e indireto.

Assim, SIEGEL *et al.* (1972), desenvolveram uma técnica para simular, *in vitro*, a coleta de fluido gengival. Os autores utilizaram para isso micropipetas, papel absorvente em tiras e solução de Ninidrina.

CIMASONI (1983) relata que foram propostos métodos para a coleta de material do sulco gengival utilizando tira de papel absorvente, tubos capilares, lavagem do sulco gengival, fitas plásticas e tira ou rodas de platina.

EMBERY e WADDINGTON (1994) citaram em seu trabalho que o fluido é coletado de várias maneiras, dependendo do tipo de análise e do material que vai ser investigado. Os mais utilizados são as tiras de papel de filtro de acesso fácil e transporte facilitado, para investigação de enzimas. Outros pesquisadores que investigam o aparecimento de metabólitos no tecido usam

tubos microcapilares como um dos meios de coleta. O procedimento de lavagem do sulco tem sido usado por Skapski e Lehner (1976).

Modos coletores do fluido gengival pelas tiras de papel e micropipetas posicionadas no interior do sulco gengival, foram sugeridos por OZMERIC (2004).

Em outro estudo, SAFKAN-SEPPALA *et al.*(2006), investigando a quantidade de colagenase presente no fluido sulcular gengival em pacientes diabéticos, utilizaram para obtenção do fluido a seguinte técnica de coleta: após os locais serem limpos, isolados com rolos de algodão e secos suavemente, a placa bacteriana visível supra-gengival era cuidadosamente removida com cureta estéril. Nos sulcos que mediam de um a dois milímetros de profundidade, foram colocadas tiras de papel filtro, inserindo 1 mm durante 3 minutos para coleta de fluido sulcular gengival e posteriormente as tiras foram colocadas em tubos de Eppendorf.

LUNDY *et al.*(2006) para avaliar a adrenomedulina (presente na superfície de células epiteliais em vários tecidos e que possui um importante papel antimicrobiano local) após isolamento relativo com algodão, posicionarem o sugador para evitar contaminação pela saliva, realizarem o índice de placa e secarem o dente, utilizaram um papel absorvente posicionado por 30 segundos no sulco gengival para coleta de fluido e posteriormente realizaram medidas volumétricas pelo Periotron 8000 complementada com a técnica de radioimunoensaio.

JOHANNSEN *et al.*(2006) investigaram a importância do estresse para o desenvolvimento de periodontite comparando o estado de saúde oral. Para isso avaliaram marcadores pró inflamatórios e cortisol presentes no fluido sulcular gengival (GCF) e saliva em pacientes com estresse mental e mulheres com depressão. Para a coleta de GCF utilizaram lavagem intrasulcular por um sistema de irrigação controlado associado a uma bomba peristáltica para aspiração. Os locais a serem avaliados estavam isolados com rolos de algodão, foram suavemente secados e o tecido era cuidadosamente afastado. A agulha de expulsão do material foi inserida suavemente no sulco, o material colocado em solução salina (PBS - pH 7.4) e transferido para tubos de Eppendorf através da agulha de aspiração (taxa de fluxo, 25 ml/h). As amostras foram imediatamente centrifugadas (8.000 rpm) durante 15 minutos à 4° C, e a sobrenata era congelada a -70° C para análise. Em casos de contaminação com sangue visível as amostras eram descartadas.

EMINGIL *et al.*(2006) analisando 20 pacientes com periodontite agressiva generalizada, 20 com periodontite crônica, 20 com gengivite e 20 sem doença periodontal utilizaram tiras de papel filtro com amostras de fluido sulcular gengival que foram transportadas imediatamente para um dispositivo previamente calibrado que mede eletronicamente o volume de fluido gengival e em

seguida colocadas dentro de tubos de Eppendorf estéreis armazenados a -40°C para análise de laboratório.

Numa metodologia para coleta similar, ARAS *et al.*(2007) obtiveram amostras de fluido sulcular gengival de duas bolsas periodontais profundas na maxila. Antes de coletar, a respectiva região foi isolada com rolos de algodão e secada através de um jato de ar suave direcionado perpendicularmente ao dente durante cinco segundos para eliminar a umidade supra gengival. Foram inseridos papéis absorventes 1 mm dentro dos sulcos e deixados durante 30 segundos. Coletas com contaminação de sangue visível estavam descartadas. Para eliminar o risco de evaporação, tiras de papel com GCF foram medidas e transportadas imediatamente para dentro de ponta de Eppendorf estéril armazenado a -20°C para análise de laboratório.

3.1.1.2 Composição do fluido gengival

No início de sua formação, o fluido parece conter uma baixa concentração de proteínas, e poderia representar uma quantidade de líquido intersticial gerado localmente por um gradiente osmótico como resultado de uma permeabilidade aumentada do tecido gengival e quando contiver quantidades mais altas de proteína, progredir para um exsudato inflamatório clássico; (CIMASONI, 1983).

A composição do fluido inclui: proteínas individuais, anticorpos específicos e antígenos, enzimas de várias especificidades, elementos celulares (bactérias, células epiteliais descamadas e leucócitos), eletrólitos (potássio, sódio e cálcio) e compostos orgânicos (carboidratos e proteínas) estes últimos numa concentração menor que no soro, (CIMASONI, 1983).

O autor relata que mais de 90% dos leucócitos são PMNs neutrófilos. A maioria deles é viável, possui a capacidade de realizar fagocitose, são encontrados nos sulcos mesmo quando os tecidos estão livres de infiltrado inflamatório. Em sulcos clinicamente normais e saudáveis tem mostrado a seguinte distribuição: 91,5% de PMNs (Neutrófilos); 8,5 % de células mononucleares (58% de Linfócitos B, 24% de linfócitos T e 18% células fagocitárias mononucleares não específicas). Estas células são responsáveis pela parte imunológica do tecido gengival atuando também no interior do sulco gengival

O pH do fluido foi encontrado e está entre 7,54 e 7,89; (CIMASONI, 1983).

De acordo com SCHENKEIN (2003), as formas de respostas do hospedeiro contra o agente agressor da doença periodontal poderiam incluir quimiotaxia, reconhecimento das bactérias

pelos neutrófilos, sistema de complemento, fagocitose e morte, interações das bactérias com monócitos, linfócitos (FIG.4) e fibroblastos.

Segundo o mesmo autor, os neutrófilos encontrados próximos do epitélio juncional são considerados a primeira linha de defesa contra patógenos da placa bacteriana. Esse acúmulo de neutrófilos nessas áreas de agressão é induzido quimicamente por estímulos bacterianos, como resultado do contato com bactérias ou com seus produtos (quimiotaxia). Estes sinais, resultam em alterações sobre os vasos, facilitando a migração dos mesmos para estas regiões.

Após quimiotaxia os neutrófilos têm a capacidade de consumir ou fagocitar a maioria das bactérias por processo onde ocorrem interações com substâncias químicas, as opsoninas⁴, para tornar a bactéria mais rapidamente reconhecida e facilmente aderida a sua parede, num processo definido como opsonização.

O processo de englobamento e internalização de agentes estranhos ou de material celular lesado é denominado fagocitose, e as células que possuem esta função são mencionadas como células fagocitárias. Entre elas encontram-se os leucócitos, monócitos e macrófagos, FIG. 5 e 6 (FANTONE e WARD,1990).

Os autores relatam que o mecanismo de fagocitose de uma bactéria ou material estranho pode ser ampliado por meio da opsonização de partícula por receptores específicos para Fc e C3b contidos nas paredes celulares.

Ainda de acordo com FANTONE e WARD (1990), as células do sistema imunológico podem ser ilustradas e esquematizadas de acordo com a sua morfologia e função. As principais células encontradas no fluido gengival são mostradas nas FIG 4, 5 e 6.

a) Linfócitos

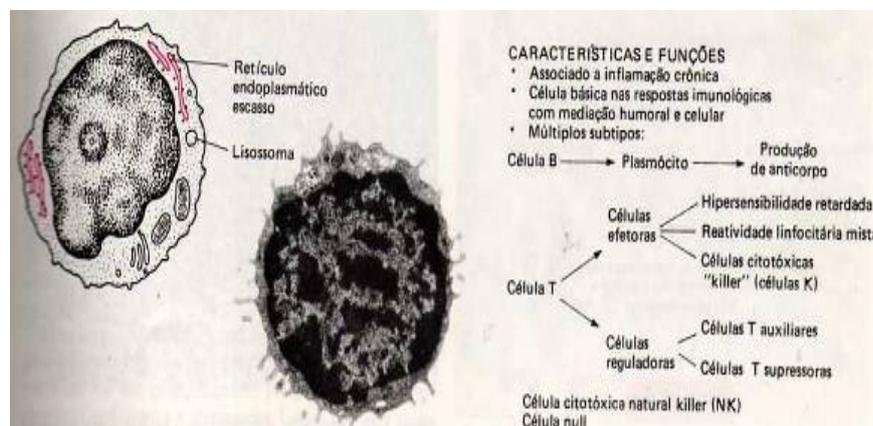


FIGURA 4 - Linfócito – Característica e função, (FANTONE e WARD, 1990).

⁴ **opsonina** é uma molécula que age como facilitadora de ligação no processo de fagocitose. (cofatores que revestem os microrganismos e aumentam a capacidade de englobamento por parte dos neutrófilos).

b) Neutrófilos

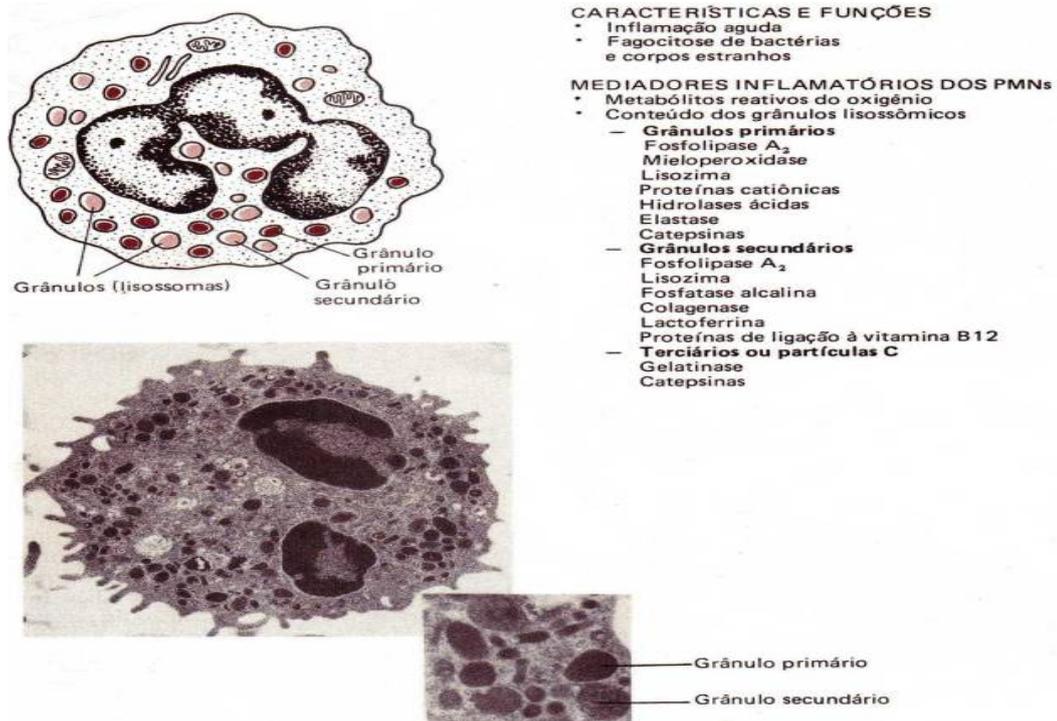


FIGURA 5 - Neutrófilo – Características e funções, (FANTONE e WARD, 1990).

c) Monócitos/Macrófagos

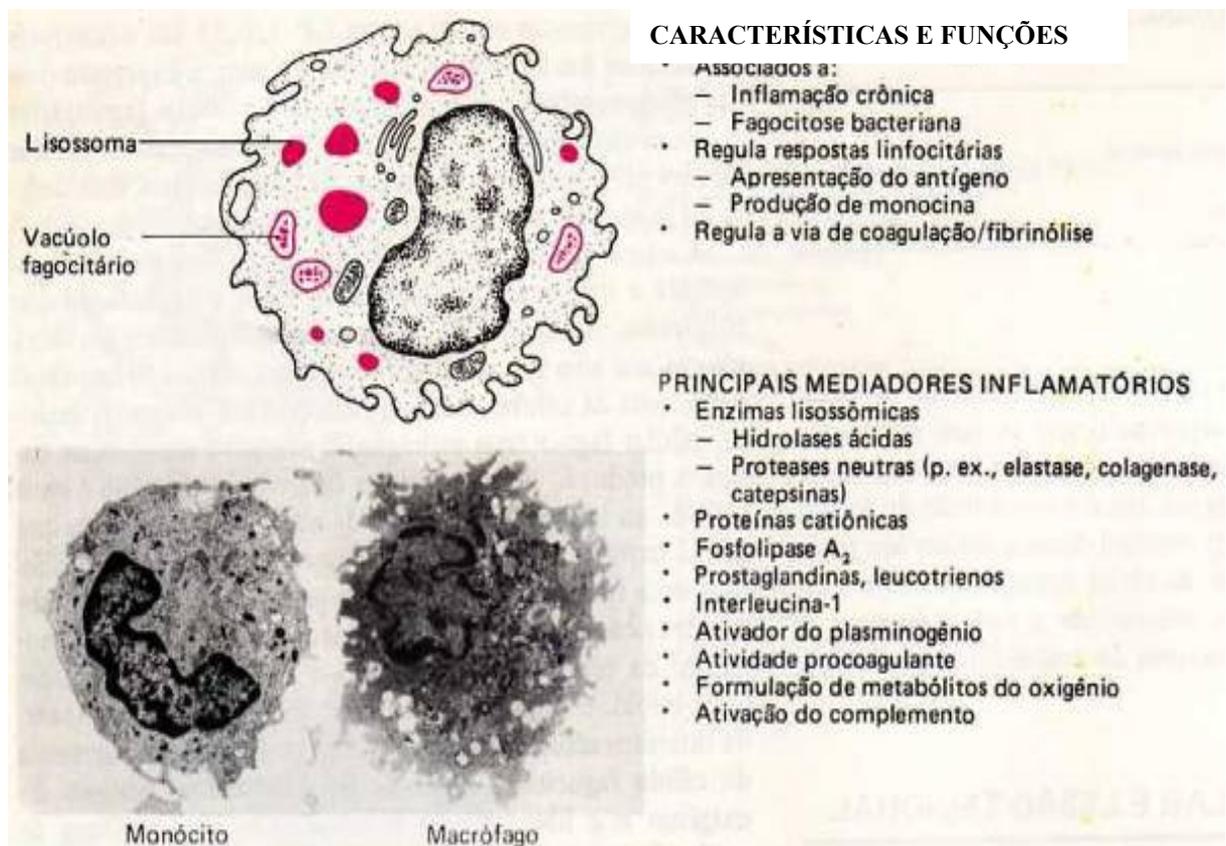


FIGURA 6 - Macrófago – Características e função, (FANTONE e WARD, 1990).

BISSON-BOUTELLIEZ *et al.* (2001), utilizaram amostras de fluido sulcular de pacientes periodontalmente saudáveis, para formar um grupo controle. As amostras foram coletadas usando tiras de Durapore Millipore e foram estudados dois tipos de células: epitelial e neutrófilos polimorfonucleares (PMNs). Após esfoliação fisiológica para o fluido sulcular gengival, essas células têm um papel importante na imunidade atuando como uma barreira mecânica e como células imunocompetentes protegendo os sulcos da invasão bacteriana. Em caso de doença periodontal, o acúmulo de placa e inflamação resultante pode estimular uma significativa alteração das funções de ambas, aumentando a esfoliação e modulação de marcadores imunológicos.

OZMERIC (2004), relaciona os componentes celulares do fluido sulcular gengival em torno de 1-16% granulócitos, 10-20% monócitos/macrófagos, 5% mastócitos e 5% linfócitos de T. Os Neutrófilos e monócito/macrófagos são as partes essenciais do hospedeiro na resposta inflamatória no fluido sulcular gengival.

Os monócitos/macrófagos são fagocíticos e secretores que após contatos com bactérias produzem enzimas, citocinas e mediadores inflamatórios, entre eles IL-1, IL-6 e fatores de necrose tumoral alfa (TNF- α). A Interleucina 1 pode estimular outras células a liberarem enzimas destruidoras dos tecidos (metaloproteinases), tal como a colagenase que atua destruindo o colágeno.

Concordando com outros autores, SILVA *et al.* (2004), relatam que o fluido é composto por: substâncias derivadas do soro, leucócitos, bactérias, células epiteliais descamadas, células de tecido conjuntivo, além de diversas macromoléculas derivadas dos tecidos gengivais e ósseos; refletindo um processo de saúde ou doença periodontal.

O mesmo autor comenta que a colonização de múltiplas espécies bacterianas na superfície do dente origina um processo inflamatório gengival e em alguns casos ativam a destruição do tecido conjuntivo e ósseo alveolar. Componentes microbianos da placa bacteriana têm a capacidade de ativar a resposta local do hospedeiro induzindo uma resposta inicial caracterizada por um infiltrado de células inflamatórias incluindo linfócitos, macrófagos, e leucócitos polimorfonucleares (PMN).

Após a ativação por produtos bacterianos, os monócitos/macrófagos, linfócitos e células teciduais locais do hospedeiro (fibroblastos e células endoteliais vasculares) sintetizam uma variedade de citocinas que possuem efeitos proinflamatórios importantes relacionados à destruição óssea e indução de proteinases tissulares. Os produtos agem como quimiotáticos e ativam diferentes subconjuntos de leucócitos, (KURTIS *et al.* 2005).

A composição do fluido sulcular gengival pode indicar a presença dessas substâncias anteriormente citadas.

3.1.1.3 Métodos de medição de volume de fluido sulcular gengival

A drenagem do fluido tecidual do sulco gengival tem sido alvo de pesquisas nos mais variados aspectos. Para medir os volumes deste fluido, métodos e técnicas foram desenvolvidos.

SIEGEL, *et al.* (1972) desenvolveram técnica para simular, *in vitro*, a coleta de fluido gengival utilizando para isso micropipetas, papel absorvente em tiras e solução de Ninidrina.

SUPPIPAT e SUPPIPAT (1977) procederam a avaliação eletrônica (PERIOTRON) do volume de fluido sulcular conjugada com a coloração pela Ninidrina das tiras de papel absorvente.

Em seguida GARNICH, *et al.* (1979), SPRANGER (1980) e TSUCHIDA e HARA (1981), efetuaram estudos de avaliação sobre drenagem do fluido sulcular eletronicamente com o auxílio do Periotron, utilizando tiras de papel absorvente conforme mostra a FIG7.

A quantidade de fluido pode ser avaliada pela coleta com papel filtro colorido por solução de Ninidrina ou pelo Periotron. O papel consegue absorver aproximadamente 0,1mg de fluido em 3 minutos. Challacomb (1980) citou que a média de volume do fluido sulcular gengival na região interproximal dos molares era de 0,43 a 1,56 μ l. e em dentes anteriores era de 0,24 a 0,43 μ l. O volume do fluido calculado no espaço proximal ao redor de um determinado dente, produzida em 1 dia na cavidade oral, foi em torno de 0,5 e 2,4 ml por dia, (CIMASONI, 1983).

SMITH *et al.* (1992) já relacionavam a quantidade e a qualidade do fluido em áreas normais, com gengivites e com periodontites, como também em diferentes áreas em um mesmo dente. Amostras de fluido sulcular gengival indicavam diferenças relacionando o aumento de volume com gravidade de doença uma vez que a formação de fluido sulcular gengival é o resultado de vasodilatação acompanhada pelo aumento da permeabilidade vascular gerada pela resposta inflamatória dos tecidos periodontais. A medida do volume do fluido gengival foi realizada por um transdutor eletrônico Periotron 6000 (IDE Interstate, Amityville, N.Y.).

No trabalho de QADRI *et al.* (2005) realizado em 17 pacientes com doença periodontal, com bolsas periodontais menores que 7 mm, a coleta de fluido sulcular gengival foi realizada com papel absorvente e as medidas de volume foram realizadas pelo Periotron 8000.

KURTIS *et al.* (2005) em seu trabalho, coletaram amostras de fluido sulcular gengival usando tiras de papel que estavam comercialmente disponíveis. O local de coleta era cuidadosamente secado e isolado para prevenir que as amostras fossem contaminadas pela saliva. Foram

inseridas tiras no sulco até encontrar resistência moderada, não mais que 1 mm, durante 30 segundos. Cuidado foi tomado para evitar dano mecânico aos tecidos gengivais. Tiras contaminadas com sangue ou exsudato foram descartadas. A quantidade de fluido sulcular gengival nas tiras foi medida por peso acumulado comparado com tira teste. Estas tiras foram colocadas em embalagens plásticas, lacradas, codificadas, entubadas, micro centrifugadas e pesadas novamente. O ensaio foi realizado imediatamente após a coleta com finalidade de evitar qualquer evaporação e armazenadas a - 70°C até adicionar a enzima . A massa do fluido em cada tira em (mg) foi convertida para um volume em mililitros assumindo volume (ml).

LUNDY *et al.* (2006) para avaliar a adrenomedulina (presente na superfície de células epiteliais em vários tecidos) após isolamento relativo com algodão, posicionar o sugador, realizar o índice de placa e secar o dente, utilizaram um papel absorvente por 30 segundos para coleta de fluido e posteriormente realizaram medidas volumétricas também com Periotron 8000, seguido pela técnica de radioimunoensaio.

3.1.1.3.1 Do Periotron

O PERIOTRON (Harco eletronic, Winnipeg, Manitoba, Canadá) medida de micro-umidade, é um instrumento eletrônico que foi projetado para permitir o uso de uma variedade de tiras de papel absorvente (periopaper) específicas para fluido sulcular gengival (GCF), fluido de bolsa periodontal (PPF), fluxo salivar e medidas de espessura da saliva, FIG 7.

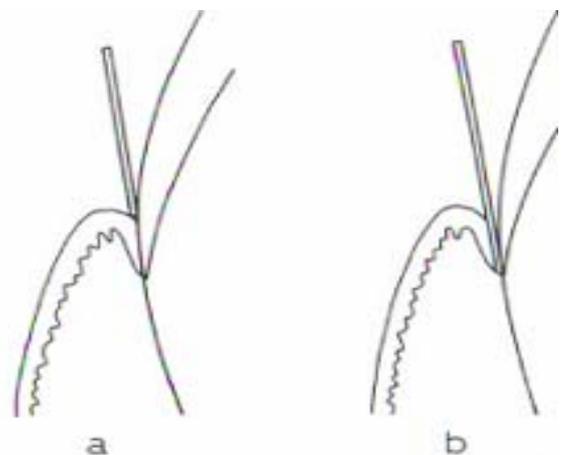


FIGURA 7 – Periopaper posicionado no interior do sulco gengival de um incisivo superior – desenho de posicionamento do papel absorvente: a) próximo da luz do sulco e b) dentro do sulco encontrando leve resistência, (CIMASONI, 1983).

Ele se baseia em um sistema de medição eletrônica utilizando um transdutor eletrônico que quantifica o fluido coletado por um papel absorvente. A umidade da tira de papel afeta o fluxo de uma corrente elétrica e fornece uma leitura digital (mensurando) que pode ir de 0 a 200 unidade arbitrária de medida (referente às medidas em frações de microlitros observados em 5 segundos).

O equipamento tem dois eletrodos que são usados no processo de medição. Um superior móvel controlado por uma alavanca e um inferior que é estacionário. Fechando a alavanca os dois eletrodos se reúnem e começa uma medida cíclica. Na FIG 8 estão ilustradas as fotografias das cartelas papéis absorventes, o Periotron e em detalhe o Periopaper posicionado entre os dois sensores.

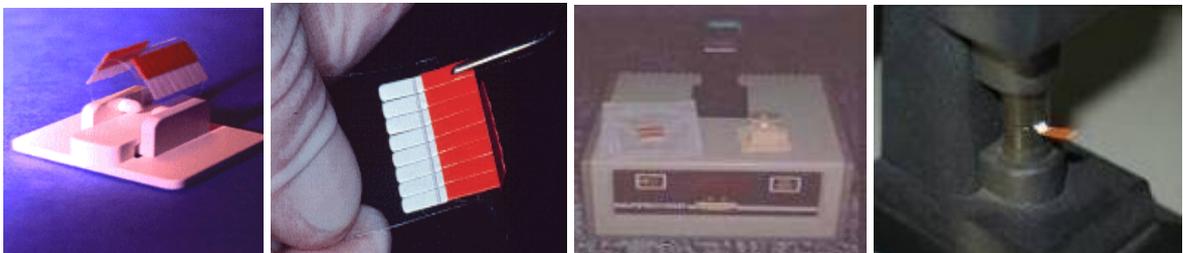


FIGURA 8 - Base porta cartela, Periopaper, Periotron com envelope contendo periopaper - Periopaper posicionado no sensor

Após um tempo prefixado (10 segundos), o mesmo exibirá um número e esse será definido como uma medição do Periotron, representando a quantidade de fluido no papel absorvente.

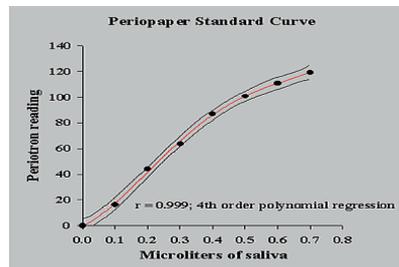
O painel de exibição possui três caracteres que este segmento revelou e a exibição fica situada no painel dianteiro, variando contagens entre 0 e 200. Essas medidas poderão ser convertidas em medidas de volume e espessura.

Uma leitura zero no painel anterior serve para ajustar o Periotron. Isso só precisa ser feito uma vez quando o mesmo é ligado. O primeiro ajuste é necessário para calibrar uma base comum para todos os resultados.

Para realizar este ajuste abra um pacote estéril de tiras de Periopaper e posicione a folha contendo estas tiras no suporte prendendo-o ao topo do equipamento. Em seguida remova uma tira de periopaper com pinças de algodão (FIG 8), coloque esta tira seca entre os sensores de medição e ajuste o instrumento movimentando a roda de ajuste grande à frente do instrumento até o visor do display ler "00". Descarte a tira seca; comece medidas do fluido sulcular gengival.

O programa do Periotron computa uma curva simples que relaciona o volume de fluido (μl) no “eixo de x”(abscissas) para a Contagem do Periotron no “eixo de y”(ordenadas), FIG 9.

PerioPaper Padrão Curva Valores Típicos



Dr. Hershall Kaufman



Volume (μl)	Periotron Score
0	0
0.1	16.30
0.2	44.30
0.3	63.70
0.4	87.00
0.5	100.70
0.6	110.70
0.7	119.30

FIGURA 9 – Periotron – equipamento de medição de volume (Oralab) e tabela de conversão de volume.

3.2 Efeitos biológicos da irradiação laser em baixa intensidade

Os efeitos biológicos resultantes da laserterapia de baixa intensidade são relatados desde 1964 pelo grupo do professor Endre Mester que foi um dos pioneiros no uso do laser nos tecidos biológicos, objetivando um aumento da velocidade de reparação tecidual, (TURNER e HODE, 1999).

Doses de radiação levam à absorção da luz pelos cromóforos intracelulares como melanina, hemoglobina e citocromos⁵ da cadeia respiratória no interior da mitocôndria⁶ levando a um maior aproveitamento de O_2 com conseqüente aumento de produção de energia metabólica-ATP, (KARU 1989,1999 e 2003).

Os mecanismos de ação, primários e secundários, da irradiação direta com lasers de emissão vermelha e infravermelha sobre as células, mostraram que a citocromo oxidase, que é uma

⁵ **Citocromos** são proteínas, geralmente ligadas a uma membrana, que contêm grupos heme e que efetuam o transporte de electrons.

⁶ **Mitocôndria** é uma organela celular importante para respiração celular. É abastecida por substâncias orgânicas como oxigênio e glicose, as quais processa e converte em energia na forma de ATP.

enzima terminal da cadeia respiratória nas células eucariotas, pode ser uma possível fotoreceptora, quando as células são submetidas às irradiações. Os mecanismos primários são: alterações nas propriedades redox dos componentes da cadeia respiratória, após a fotoexcitação de seus estados eletrônicos, geração de oxigênio singlete, aquecimento transitório localizado dos cromóforos absorvedores e a produção aumentada de ânions superóxidos, com o subsequente aumento da concentração de H_2O_2 , produto de sua dismutação (processo químico em que um elemento com determinado número de oxidação se transforma, originando compostos que têm dois ou mais números oxidativos). Os mecanismos secundários estão relacionados a uma cascata de reações conectadas a alterações dos parâmetros de homeostase celular (pH, concentração de Cálcio, AMPc e concentração de ATP); (KARU, 1999).

Para MISERENDINO (1995), os lasers em baixa intensidade são biomoduladores da resposta celular. Nesse caso, a interação da luz laser em baixa intensidade com o tecido, poderá promover alterações no mesmo o que poderá culminar como resultado final os efeitos analgésicos, antiinflamatórios, antiedematosos e cicatrizantes, FIG 10, (CRUANES, 1984; TRELLES, 1990 e SILVEIRA, 2001).

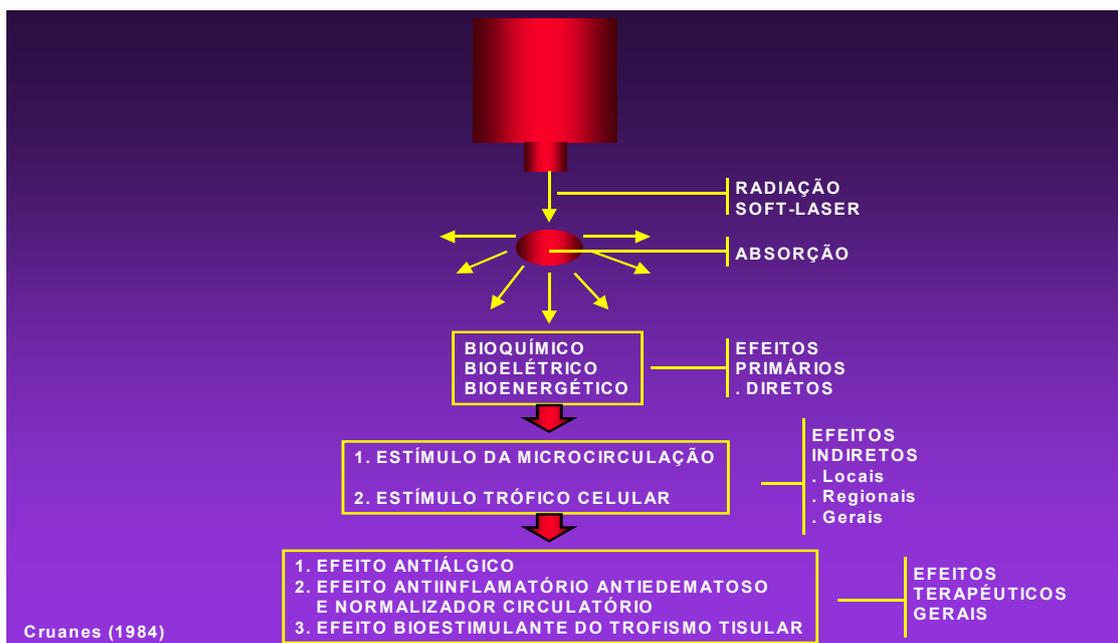


FIGURA 10 - Resumo de CRUANES (1984) para efeitos do laser de baixa intensidade traduzido e colorido por SILVEIRA (2001).

Baseado no esquema da FIG10, CRUANES (1984), em seu livro, procura definir e justificar cada um dos estágios pelas características e comportamentos dos diversos tipos de tecidos.

Efeitos primários ou diretos do Laser (CRUANES 1984):

Bioquímico - Atuando na dispersão de substâncias inflamatórias e na modificação de reações enzimáticas. O efeito do laser com caráter circulatório promove instalação da histamina na circulação de pequeno calibre, o efeito antiinflamatório é por inibição da atuação das prostaglandinas, evitando o acúmulo de radicais ligados à manifestação algica, no período de remissão da lesão e o efeito regenerativo atua diretamente sobre a molécula do ATP⁷, facilitando a sua produção, o que será responsável direto pela energia consumida durante a mitose, para a regeneração tecidual, estimulando também, aumento na velocidade de quebra da fibrina.

Bioelétrico – Promovendo uma maior produção de ATP, resultando em maior concentração de energia, o que influenciaria diretamente sobre o trabalho da Bomba de Sódio e Potássio (Na/K), proporcionando uma aumento na efetividade devido à maior possibilidade na repolarização. Estimula a alteração de permeabilidade das membranas celulares interferindo nas trocas iônicas de Na, K e Ca;

Bioenergético – Resultando no aumento do aporte energético local, responsável pela maior presença da molécula de ATP, facilitando o equilíbrio energético entre a demanda física e a necessidade de obtenção de energia. Alterações na estrutura mitocondrial promovem modificações no aproveitamento de O₂ resultando em aumento na produção de ATP.

O mesmo autor, relaciona como efeitos secundários ou indiretos do laser :

Estímulo à microcirculação - Característica principal do efeito laser circulatório é estimular o trânsito da molécula da histamina na microcirculação, mantendo os esfíncteres pré-capilares abertos, promovendo assim, uma facilitação no trânsito do aporte sanguíneo na região.

Estímulo ao trofismo Celular - Devido ao aumento na produção do ATP, haverá o aumento na velocidade das mitoses, o que irá influenciar diretamente sobre o aumento da velocidade de cicatrização e do trofismo tissular.

Os efeitos terapêuticos gerais proporcionados pelos laser de baixa intensidade sobre tecidos vivos segundo CRUANES (1984) seriam:

Analgésico - Estabilização da membrana celular por hiperpolarização, através da obstrução dos canais de potássio ao reorientar-se as camadas de lipoproteínas da membrana dificultando a sua despolarização, pois seu potencial estará equilibrado devido ao estímulo de produção do ATP, o que colabora diminuindo o efeito algico da bradicinina e prostaglandina nos receptores com a redução na sensação de dor; a eliminação de substâncias alógenas e redução na síntese de prostaglandinas evitando a redução no limiar de excitabilidade dos receptores dolorosos e ocorre

⁷ **Trifosfato de adenosina** ou **adenosina trifosfato (ATP)**, é um nucleotídeo responsável pelo armazenamento de energia em suas ligações químicas.

ainda liberação de substâncias morfínomiméticas como as encefalinas e endorfinas com estímulo à precipitação local de beta endorfina.

Antiinflamatório - Justificado pela ação sobre as prostaglandinas (inibindo a concentração de agentes causadores de quadro algico local); pelo favorecimento no equilíbrio do pH na região (onde a acidez ocasionada pela ação dos macrófagos seria controlada pelo estímulo à microcirculação); promovendo aceleração da microcirculação originando alterações na pressão hidrostática capilar com reabsorção do edema e eliminação do acúmulo de catabólico intermediário, como o ácido pirúvico e láctico, e finalmente promovendo a liberação de prostaglandinas a partir do ácido aracdônico com transformação desta em prostaciclina;

Antiedematoso - Estímulo à absorção do edema por microcapilares linfáticos, pela quebra de radicais que possam se encontrar depositados em seus “gaps” , dificultando a passagem do líquido entre os meios.

Cicatrizante - Responsável pela maior disponibilidade de molécula de ATP, influenciando diretamente sobre o aumento e velocidade das mitoses; estimulando à condução de nutrientes pela microcirculação e acelerando na recuperação da microcirculação lesionada.

WALSH (1997) em sua revisão sobre 30 anos de experiência com laser de baixa intensidade e bioestimulação em odontologia, relata que esta terapia estimula a proliferação fibroblástica, ativa fagocitose nas células do sistema imune, provoca quimiotaxia para leucócitos, direciona e seleciona o sistema imune, aumenta a produção de queratina e a mobilidade dos queratinócitos, ativa a proliferação, diferenciação e calcificação dos osteoblastos.

O mesmo autor sugeriu investigações direcionadas para dosimetrias específicas.

ALMEIDA-LOPES e PINHEIRO (1998) consideram como indicações para aplicações do laser de baixa intensidade: alívio da dor (efeito antiálgico), reparação tecidual (efeito bioestimulante do trofismo celular), redução de edema e de hiperemia (efeito antiinflamatório e normalizador circulatório).

MELLO *et al.* (2001) relatam a capacidade da terapia em baixa intensidade em promover a estimulação dos sistemas imunitários ajudando na melhora da defesa do organismo, diminuição do edema e diminuição de dor pos-operatória.

REDDY (2004), relata que dado a magnitude de tratamento envolvendo muitas variáveis como: comprimento de onda, modo de operação (pulsado - contínuo), dose de energia, densidade de potência, tempo de exposição, frequência, e duração total de tratamento, não é surpreendente que resultados difiram de um estudo para outro.

Para se trabalhar com laser ou fontes de luz é necessário que se conheça dosimetria e para isso entender duas grandezas que estão relacionadas: densidade de Potência (intensidade ou irradiância) e densidade de Energia (Dose).

Densidade de potência ou intensidade ou irradiância pode ser representada pela fórmula a seguir, onde P é a quantidade de potência em Watts e A é a área em cm^2 onde esta potência será depositada.

$$I = \frac{P(W)}{A(\text{cm}^2)}$$

Os diversos tipos de lasers possuem potências diferentes e esta relação entre grandezas pode modificar o tipo de efeito desejado, dependendo do impacto sobre um material ou superfície.

A densidade de energia ou dose está representada pela equação a seguir onde P é a potência expressa em Watts, A é a área em cm^2 , e T é o tempo expresso em segundos.

$$D = \frac{P(W) \cdot T (s)}{A(\text{cm}^2)}$$

OU

$$D = \frac{E(J)}{A(\text{cm}^2)}$$

SLINEY (2007), relata que de acordo com a comissão internacional de iluminação, a nova nomenclatura propõe mudanças, inclusive trocando as definições de intensidade para irradiância e fluência para exposição irradiante ou dose, e que estas grandezas considerem na sua relação não só a área, mas também o volume irradiado, FIG 11.

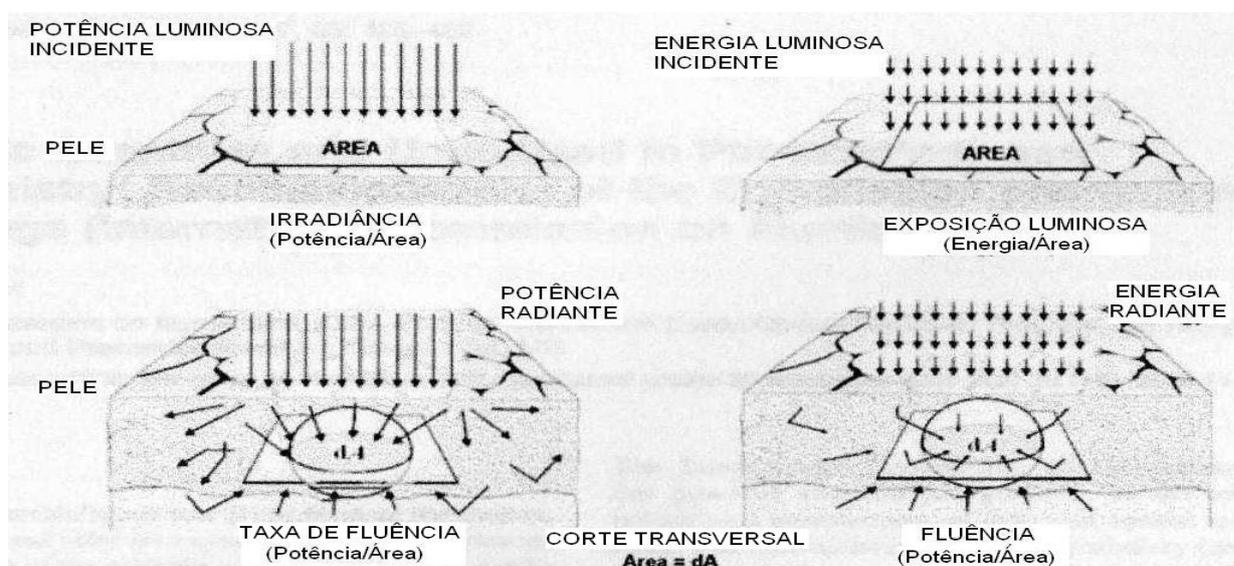


FIGURA 11. Conceitos radiométricos para aplicações fotobiológicas para exposição de tecidos vivos. Setas descrevem a irradiação colimada e contínua, (SLINEY 2007); adaptado por SILVEIRA 2008.

CRUANES (1984) sugeriu que as quantidades de energias a serem depositadas em tecidos vivos deveriam se situar entre 1 e 5 Joules por unidade de “superfície” e que para se conseguir efeitos biológicos a relação entre energia e efeito seria a seguinte: analgésicos 2 a 4 Joules; antiinflamatório 1 a 3 Joules; regenerativo de 3 a 6 Joules e que de 1 a 3 Joules já era capaz de ativar a circulação.

Dentro dos modos de aplicação, HERRERO (1986) comenta que em termos de dosimetria: é mais confiável realizar aplicações pontuais do que a executar a técnica de varredura; de acordo com cada situação ou área há variações na doses a serem aplicadas e que não é aconselhável ultrapassar a quantidade de energia de 15 Joules sobre um ponto em uma única aplicação porque parece que não se observam melhoras e maior rapidez de ação quando maiores energias são aplicadas.

A mesma autora, no QUADRO 1, sugere que como ponto de partida a recomendação para o profissional que inicia obter resultados satisfatórios, a energia relacionada com efeitos biológicos poderiam ser de:

Efeitos		Energia
Antiálgico	Dor muscular	de 2 a 4 Joules
	Dor articular	de 4 a 8 Joules
Antiinflamatório	Lesões agudas	de 1 a 6 Joules
	Lesões crônicas	de 4 a 8 Joules
Regenerativo		de 3 a 6 Joules
Circulatório		de 1 a 3 Joules

QUADRO 1- Sugestão de quantidades de energias a serem aplicadas durante a terapia laser em baixa intensidade, HERRERO (1986).

Os valores de energia acima sugeridos no QUADRO 1 devem ser convertidos em doses (densidade de energia) dividindo-se esses valores pela área do spot de saída do feixe de cada equipamento.

O equipamento laser utilizado no presente trabalho é da empresa MMÓPTICS que considerando a área do spot como $0,04\text{cm}^2$, os valores acima devem ser multiplicados por 25 e os valores de dose para este equipamento estão contidos no QUADRO 2.

Efeitos		Energia	Doses (Spot $0,04\text{cm}^2$)
Antiálgico	Dor muscular	de 2 a 4 Joules	de 50 a 100 Joules/ cm^2
	Dor articular	de 4 a 8 Joules	de 100 a 200 Joules/ cm^2
Antiinflamatório	Lesões agudas	de 1 a 6 Joules	de 25 a 150 Joules/ cm^2
	Lesões crônicas	de 4 a 8 Joules	de 100 a 200 Joules/ cm^2
Regenerativo		de 3 a 6 Joules	de 75 a 150 Joules/ cm^2
Circulatório		de 1 a 3 Joules	de 25 a 75 Joules/ cm^2

QUADRO 2- Sugestão de energias com valores de doses após aplicação do fator de conversão de 1×25 (MMóptics)

HERRERO (1986), considera como algumas contra-indicações para aplicações do laser de baixa intensidade: processos bacterianos agudos, aplicações sobre neoplasias, pacientes submetidos a tratamentos com medicamentos fotossensibilizantes, sobre áreas com medicação tópica e qualquer aplicação direta sobre a retina, para não causar injúria.

A mesma autora lembra que dentro das normas internacionais de segurança a utilização de óculos protetores se faz necessária para todos os envolvidos no procedimento: paciente, profissional e auxiliar. O material utilizado na confecção dos óculos tem que estar ressonante com o comprimento de onda emitido pelo seu respectivo equipamento.

LIMIA (1988), também revela o perigo e chama atenção com relação à necessidade do uso de óculos para proteção da retina do paciente, profissional e auxiliar. Recomenda-se ainda evitar sua aplicação sobre as glândulas de secreção interna e glândulas sexuais, pois sua ação poderia incrementar sua função não-desejável.

Alguns trabalhos relatam outros efeitos ou alterações teciduais que foram comprovados por diversos autores, relacionando o tipo de laser e a dosimetria, considerando de extrema importância a quantidade de energia aplicada sobre determinado tecido; (WOLBARSHT, 1987, 1991; GOLDMAN, 1981; MUNCHERYAN, 1983; PIMENTA, 1990 e GENOVESE, 2000).

Experimento investigando tecido epitelial, concluiu que a irradiação laser de baixa intensidade sobre tecidos vivos, acelera a reprodução de células epiteliais e sua maturação através do aumento da atividade da fosfatase ácida, esterase, desidrogenase láctica e succinildesidrogenase. Esses achados demonstraram que as células epiteliais filhas apresentaram-se com características morfológicas e funcionais idênticas às antecessoras, sem apresentar sinais de atipia celular. (TRELLES *et al.*, 1989).

De acordo com outros autores, NEIBURGER (1994) considera que a dosagem do laser em baixa intensidade depende de vários fatores: da potência, da frequência, da área do spot, da distância do feixe até a área a ser irradiada, do tecido a ser irradiado e sua área em (cm²) e do tempo de exposição (em segundos).

O mesmo autor, tratando lesões aftosas em humanos, verificou que as áreas irradiadas com laser de He-Ne (12 J/cm²) epitelizaram mais rápido que o do grupo controle não irradiado, tendo ainda diminuição da dor no grupo irradiado e relatou ainda que os lasers de He-Ne com comprimento de onda entre $\lambda=632,8\text{nm}$ e Diodo $\lambda=694\text{nm}$ e fluência de 2 a 24 J/cm² aceleraram a cicatrização de lesões de pele em ratos e humanos.

SIMUNOVIC *et al.* (2000), verificaram os efeitos da terapia laser em baixa intensidade sobre a cicatrização dos ferimentos em um estudo clínico aleatório, utilizando 74 pacientes, com danos

corpóreos provocados por acidentes de trânsito e em práticas esportivas. Os autores citam os efeitos bioquímicos e bioestimuladores do laser em baixa intensidade como efeitos celulares que já foram estabelecidos com: estimulação da atividade mitocondrial, acentuação da produção de ATP, estimulação e síntese de DNA e RNA, aumento da produção de proteínas, modulação da atividade enzimática, variação de pH intra e extracelular e aceleração do metabolismo celular.

O mesmo trabalho mostra que está cientificamente determinado pelos níveis histológicos e microscópicos do ferimento que a terapia laser de baixa intensidade provoca aumento da microcirculação e neovascularização sobre a superfície do ferimento, redução do microedema que ocorre nos tecidos subjacentes (como a melhoria do fluxo sanguíneo), aumento significativo do tecido de granulação, da atividade bem como número de fibroblastos, crescimento do número e atividade de mastócitos e macrófagos e significativo estímulo da re-epitelização das margens da ferida.

Os autores relatam que o uso da terapia laser em baixa intensidade sobre a cicatrização de ferimentos com dosagens adequadas (4 a 10 J/cm²) podem melhorar significativamente o processo de cicatrização, reparação funcional e alívio da dor. As dosagens ideais devem ser individualmente determinadas e aplicadas, porque uma dosagem acima dos limites ou abaixo, podem levar a efeitos negativos, a nenhum efeito ou mesmo a efeitos opostos sobre a cicatrização de ferimentos pós-operatórios, e isto pode ser a principal causa dos tratamentos mal sucedidos. Os efeitos sistêmicos nos tecidos moles tratados num curto período de tempo não foram integralmente determinados e comprovados, entretanto, efeitos mínimos da LILT sobre o nível de microcirculação local encorajou fortemente a estudos complementares, tanto em humanos como em animais. Os lasers aplicados como monoterapia podem melhorar significativamente a cicatrização e, subseqüentemente, acelerar o processo de recuperação funcional, que aumentou entre 25 a 35% nos pacientes irradiados.

3.2.1 - Efeitos do laser de Baixa intensidade sobre os vasos sanguíneos

Da interação quântica entre a radiação laser e a matéria viva, podem resultar efeitos térmicos, mecânicos, elétricos, fotoquímicos e fotofísicos. Alguns desses mecanismos, como os fotomecânicos e fotoquímicos, dependem da absorção de fótons que atuando sobre estruturas celulares podem resultar na ativação da micro circulação local, reduzindo ou eliminando edemas, seja de origem inflamatória ou não, promovem maior atividade fibroblástica, quer induzindo sua proliferação ou estimulando sua função de sintetizar ou remodelar fibras e substância amorfa,

auxiliando assim o processo de cicatrização e colaborando também com grande efeito antiálgico. Para que esses efeitos ocorram é fundamental que a luz laser seja absorvida. Com essas propriedades já verificadas, pode-se aplicar mais esse recurso terapêutico nas diversas áreas da odontologia, (SILVEIRA, 2001).

Ativar a microcirculação local e aumentar a drenagem linfática são efeitos importantes que ocorrem quando se aplica laser de AsGa $\lambda = 904\text{nm}$ sobre tecidos vivos (BENEDICENTI,1982); CRUAÑES,1984; ACANFORA *et al* ,1986 e 1988; PINTER,1987 e LIMIA ,1988).

Especificamente sobre a circulação, os mecanismos de dilatação capilar ocorrem nos esfíncteres terminais desses vasos e que a vasodilatação e o aumento da circulação coincide com a aplicação do laser. Esse efeito não depende somente do efeito físico da luz nos receptores celulares, mas também de uma ativação dos mediadores do balanço vascular humoral, como a liberação de histamina e de serotonina. Esse aumento da circulação é mantido em todos os casos por mais de vinte minutos após a cessação da aplicação da irradiação mesmo que a região seja resfriada, MIRO *et al.* (1984).

MAYAYO e TRELLES (1986) realizaram uma experiência em ratos mutantes com aplasia de timo, executando uma ferida cirúrgica no dorso dos animais. Aplicou-se laser de He-Ne com energia de 2 e 4 Joules por cm^2 e os resultados foram que todos os ratos que não receberam o laser caminharam para septicemia, enquanto que os restantes sobreviveram. A conclusão que os autores chegaram é que o laser atrai para fora dos vasos os fagócitos, aumentando principalmente a resistência local.

O mecanismo de ação da radiação laser sobre os mastócitos poderá ocorrer sob absorção de energia, que resultaria efeitos secundários (MAILLET, 1987), ou ação direta dos fótons emitidos ao atuarem na membrana celular dos mastócitos, provocando a sua ruptura, já que são células excepcionalmente vulneráveis a qualquer tipo de estímulo, como afirmava UVNAS (1964).

LIMIA (1988) relata que áreas submetidas a irradiação laser possuem um aumento da capilaridade terminal com conseqüente incremento da drenagem linfática e que a ação laser especificamente do AsGa de $\lambda = 904\text{ nm}$, atua como bioestimulante celular por incorporação de energia em uma freqüência facilmente assimilável pelo tecido, sem nenhum efeito secundário.

O aumento do aporte sanguíneo em regiões vascularizadas e a intensificação da drenagem linfática após a irradiação laser de AsGa $\lambda = 904\text{nm}$ foi relatado nos trabalhos de BENEDICENTI (1982),CRUANES(1984) e LIMIA (1988).

O estudo da irradiação Laser de baixa intensidade sobre tecidos vivos tem se verificado sob as mais diversas formas, entre elas, seu efeito sobre os mastócitos (MAYAYO, 1984; TRELLES *et al.*, 1988; TRELLES *et al.*, 1989; SILVEIRA e LOPES, 1991; TRELLES e MAYAYO, 1992).

TRELLES *et al.* (1988) investigando ação do laser sobre mastócitos e produção de histamina, utilizaram um laser de emissão vermelha em $\lambda=632,8$ nm, variando potências de 4 e 50 mW, com energias de 2,4 Joules por cm^2 , para irradiar tecido de língua de ratos e concluíram que para potências de 4 mW, o aumento de histamina foi de 100% enquanto que com potência de 50 mW, o aumento de histamina foi de 30 %. Nesse trabalho observamos que se a energia de 2,4 Joules por cm^2 foi mantida e a potência reduzida de 50mW para 4 mW, houve uma necessidade de um tempo maior de aplicação do que quando os autores utilizaram a mesma dose com potencia de 50 mW.

Os efeitos antiinflamatório e antiedematoso oriundos do laser dependem da aceleração da microcirculação originando alterações da pressão hidrostática nos capilares e reabsorção do edema, bem como a eliminação de metabólitos intermediários como o ácido pirúvico e láctico, LIEVENS (1988; 1990; 1991). Esses observaram que ao irradiar com laser a região de feridas cirúrgicas em ratos, o fluxo linfático e a regeneração desses vasos ocorreram mais rapidamente do que no grupo controle que não foi submetido a irradiação.

EL-SAYED e DYSON (1990) realizando estudo utilizando lasers emitindo em seis diferentes comprimentos de onda, utilizando energia de 10,8J em 1 cm^2 , observaram que a desgranulação e o número de mastócitos presentes nesses grupos laser eram maiores e que os efeitos da irradiação eram de maior significância em peles lesadas.

SILVEIRA e LOPES (1991) em trabalhos realizados sobre a pele do dorso de cobaia *Cavia porcellus*, comprovaram a participação do efeito da radiação laser AsGa com $\lambda = 904\text{nm}$ no processo de desgranulação dos mastócitos e também uma quantidade maior de proliferação fibroblástica no tecido conjuntivo, aumento significativo da substância fundamental amorfa e uma pequena infiltração leucocitária que não chegou a caracterizar processo inflamatório em sua plenitude. Os mesmos autores relataram uma diminuição imediata de mastócitos nas zonas que receberam aplicação de laser e consideraram que esta diminuição foi decorrente da desgranulação total e completa dissolução dos grânulos liberados, não sendo possível sua identificação. Os mastócitos em desgranulação diminuíram à medida que o tempo decorria após a irradiação, mas os mastócitos intactos, por sua vez, aumentavam em número e esta evidência pôde ser observada 72 horas após a aplicação.

No mesmo trabalho, concluíram que além de promover desgranulação de mastócitos, provocando alterações circulatórias locais (vasodilatação), a aplicação laser determina de alguma forma o aumento da atividade fibroblástica, auxiliando na recomposição tecidual e que o infiltrado leucocitário observado foi de pequeno porte.

TRELLES e MAYAYO (1992) afirmam que um dos efeitos biológicos derivados da aplicação do laser de baixa intensidade nos tecidos é a vasodilatação e realizaram estudos em ratos utilizando laser He-Ne com potências de 4mW e 50 mW com doses de 2,4 J/cm², variando também o tempo de exposição. Os autores observaram mastócitos em desgranulação na potência de 50 mW.

EL-SAYED e DYSON em (1996), após provocarem feridas em ratos Wistar, aplicaram luz monocromática coerente com comprimento de onda 820 nm, de emissão pulsada em 2,5, 20, 292, ou 20.000 Hz de freqüência, a uma intensidade de 800 mW/cm² por 27 segundos e a energia foi 21,6 J/cm². Foram avaliados os efeitos no número de mastócitos em desgranulação. O número total de mastócitos foi aumentado significativamente em todas as freqüências quando comparado ao grupo controle após duas horas, mas não havia nenhuma diferença significativa entre grupos laser com freqüências diferentes. Embora o número de mastócitos desgranulados seja mais alto em todas as feridas que foram submetidas à radiação laser, só as freqüências de 20 Hz (largura temporal de 45 ms) e 292 Hz (largura temporal 3 ms) eram significativamente efetivas. Os autores concluíram que o aumento em número de mastócitos não é dependente da freqüência, entretanto, a desgranulação é. Constatou-se que o laser de baixa intensidade promove a desgranulação dos mastócitos e como consequência libera mediadores químicos que determinam aumento da microcirculação local.

KARU *et al.* (1997) definiram que diferentes freqüências produzem diferentes efeitos biológicos concordando com DYSON *et al* (1991).

KARASU e BRADLEY (1998) utilizaram um método efetivo de investigar o efeitos vasculares em áreas submetidas à terapia laser de baixa intensidade usando métodos de monitoramento: a Termografia (Agema 7HO máquina fotográfica de M) empregado para medição de emissão térmica de superfície nas regiões de cabeça e pescoço; O Laser Doppler empregado para medir mudanças em microcirculação; e Ultra-som ATL HDI 3000 empregado para medir os vasos de grosso calibre e taxa de Fluxo de sangue para registrar alteração nos principais vasos da região orofacial em humanos e orelhas de coelho. Dos animais foram obtidos cortes para exame histopatológico.

Para o ensaio as irradiações foram as seguintes: Hélio-Neon ($\lambda = 660 \text{ nm}$, potência de 15 mW e energia de 2 J), Arseneto de Gálio e Alumínio ($\lambda = 820 \text{ nm}$, potência de 200 mW e energia de 12 J), Neodímio: YAG desfocado ($\lambda = 1060 \text{ nm}$, potência média de 1W, frequência de 35 Hz, energia por pulso 30mJ e área de 3cm^2), CO_2 desfocado ($\lambda = 10600\text{nm}$, potência de 1W, energia 60J em 1 cm). A duração de irradiação era de 1 minuto para GaAlAs, Nd: YAG, CO_2 e de 2 minutos para laser de He-Ne. Nas conclusões do trabalho, os autores relataram que as medidas de temperatura de superfície através da termografia combinada com quantificação de laser Doppler do fluxo micro circulatório provou ser um método efetivo de monitorar a resposta vascular para terapia Laser de baixa intensidade pois desse modo permitiu uma diferenciação entre calor de superfície um verdadeiro efeito vascular. Após irradiação os resultados demonstraram uma elevação em temperatura de pele com duração aproximada de 15 minutos medido por termografia e um aumento em fluxo da microcirculação identificado através de imagem de Doppler laser com menor duração.

GENOVESE (2000) cita que o laser de baixa intensidade não produz efeito calórico ou variação de temperatura clinicamente mensurável, portanto se houver um aumento de temperatura no local que recebeu essa aplicação da energia laser, deve-se ao aumento do metabolismo celular e da vasodilatação provocada pela liberação de Histamina resultando um aumento do aporte sanguíneo na região.

Ainda o mesmo autor, GENOVESE (2007), com o aumento da produção de ATP causada pela irradiação laser, a velocidade de mitose é aumentada, os processos de reparação tecidual acelerados como também o estímulo da capacidade de cicatrização do tecido conjuntivo e de neoformação vascular. Concordando com outros trabalhos, o mesmo autor inclui como um dos efeitos da terapia considerado do tipo secundário ou indireto, o estímulo da microcirculação através de uma ação indireta dos mediadores químicos como histamina, sobre esfíncteres pré-capilares paralisando-o e produzindo sua abertura constante.

3.2.2 Efeitos do laser sobre tecidos gengivais e periodontais

Os próximos trabalhos a serem citados relacionaram os efeitos provocados pelo laser de baixa intensidade sobre os tecidos gengivais.

KERT e ROSE (1989) sugerem em seu livro, protocolos para aplicação de laser sobre tecidos gengivais relacionando dosimetrias, efeitos desejados e mapeamentos de lesões para tratamento nos diversos tipos de periodontopatias.

Efeitos como o aumento na quantidade de fluido drenado do sulco gengival, em gengivas humanas clinicamente normais, após aplicação laser de AsGa $\lambda=904\text{nm}$, foi comprovado por SILVEIRA e SILVEIRA (1992). Os autores relataram os resultados obtidos das medidas volumétricas do fluido sulcular gengival de 30 pacientes voluntários, com gengivas clinicamente normais, realizadas pelo Periotron antes e após irradiação laser, aumento esse em torno de 100%, comprovando a eficácia do laser como ativador da circulação local promovendo maior transudação desse fluido para o interior do sulco gengival.

SILVEIRA *et al.* (1992) verificaram a ativação da drenagem do exsudato de bolsas periodontais após aplicação de laser de AsGa $\lambda = 904\text{nm}$ também em gengivas humanas de 30 pacientes com doença periodontal através de medidas volumétricas realizadas pelo Periotron e que estas medidas tiveram também um aumento significativo do volume de drenagem de exsudato de bolsas periodontais. Os autores relataram que ao proporcionar esta drenagem do conteúdo da bolsa periodontal há uma redução de elementos nocivos aos tecidos periodontais, além de resultar numa renovação da celularidade, das imunoglobulinas e do sistema de complemento melhorando assim a defesa orgânica local.

NEIBURGER (1997) irradiando com laser de He-Ne com energia de $1,2 \text{ J/cm}^2$, 52 incisões pós-extrações dentárias, notou que 79% destas submetidas à irradiação cicatrizaram mais rapidamente do que as incisões do grupo controle não irradiado. Esse estudo sugere que os lasers de He-Ne, com a fluência mencionada acima, parecem aumentar o índice de cicatrização de feridas gengivais em humanos, sem qualquer efeito colateral.

SILVEIRA (2001) constatou, num trabalho realizado em humanos, o comportamento dos mastócitos localizados na parede não mineralizada da bolsa periodontal submetida à irradiação laser de baixa intensidade. Nessa pesquisa, foram selecionados 20 pacientes com enfermidade periodontal necessitando de tratamento periodontal cirúrgico do tipo ressectivo, pela técnica de gengivectomia. Antes da remoção cirúrgica, o tecido gengival foi irradiado com dois diferentes tipos de feixe laser para avaliação do comportamento de mastócitos, célula esta responsável, entre outras alterações, por dilatação de vasos. Durante a intervenção cirúrgica, foram obtidos fragmentos gengivais que foram submetidos a irradiações com lasers de baixa intensidade de emissão infravermelha ($\lambda=785 \text{ nm}$) e vermelha ($\lambda= 688\text{nm}$), ambos com 50 mW de potência e energia de 8 J/cm^2 , como também fragmentos que não receberam nenhum tipo de irradiação.

Da análise dos resultados concluiu-se que: dos mastócitos presentes, a proporção de desgranulação foi estatisticamente significativa e maior nas regiões que foram submetidas a aplicações lasers, independente dos dois comprimentos de onda utilizados; ambos comprimentos

de onda aumentaram o índice de desgranulação do mastócito de 50% para 80% das células contadas utilizando uma única aplicação de energia de 8 Joules/cm².

BRUGNERA JUNIOR *et al.* (2003) relatam que o laser aplicado por contato abaixo 3 mm de distância das papilas gengivais, aumenta o aporte sanguíneo local e trofismo celular. Com o aumento da microcirculação, redução do edema e conseqüente diminuição do quadro doloroso, evidenciaram as ações analgésicas e antiinflamatórias. Este tipo de terapia é eficiente nos casos de gengivite e periodontite porque proporciona um efeito inibitório sobre as prostaglandinas E2 nas células gengivais humanas através da redução de mRNA da COX-2, (SAKURAI *et al.*, 2000).

Os mesmos autores comentam que o laser não cirúrgico causa foto ativação celular, fotobiomodulação, determinadas pelos efeitos fotoquímicos, fotoelétricos ou fotofísicos sem ocorrer efeito foto térmico mensurável clinicamente e que o aumento de temperatura local que não excede 1°C é observado em conseqüência do aumento da atividade celular da área irradiada. Concluíram que a terapia com laser auxilia o organismo a retomar seu auto equilíbrio, biomodulando respostas inflamatórias, permitindo evolução para a cura.

Em outra pesquisa, QADRI *et al.* (2005), selecionaram 17 pacientes, com bolsas periodontais menores que 7 mm, realizaram o controle de placa e raspagem, fizeram coleta de fluido sulcular gengival com papel absorvente e obtiveram medidas de volume que foram realizadas pelo Periotron 8000. Após uma semana realizaram de um lado da boca do paciente, aplicações de laser Índio - Gálio - Alumínio -fosfato (InGaAlP, $\lambda = 635$ nm) e Arseneto de Gálio -Alumínio (GaAIAs, $\lambda = 830$ nm), as energias eram 4 e 8 J/cm² e as intensidades variavam de 50 e 350 mW/cm². No material coletado analisaram atividade de elastase, interleucina 1 β (IL1 β) e metalloproteinase-8 (MMP-8) e examinaram na placa subgengival 12 tipos de bactérias usando sondas de DNA. Os Resultados mostraram que: 1) os níveis de profundidade de sondagem e índices de placa gengival estavam reduzidos mais no lado laser do que no controle; 2) o volume do fluido sulcular gengival era maior do lado laser do que no placebo; 3) MMP8 subiu do lado controle e elastase subiu do lado laser. Ao final do experimento concluíram que a terapia laser de baixa intensidade reduziu o processo inflamatório.

AMORIM *et al.* (2006) selecionaram sete pacientes portadores de doença periodontal que necessitavam de cirurgia periodontal do tipo gengivectomia em áreas de pré-molares, nos quadrantes superiores ou inferiores do lado direito e esquerdo. Após a realização do procedimento cirúrgico proposto, um dos quadrantes foi submetido à irradiação com laser de baixa intensidade emitindo na região do visível do espectro eletromagnético com $\lambda = 685$ nm, 50 mW de potência, com tempo de 80 segundos e energia de 4 J/cm², em forma de varredura e

modo contato. O outro quadrante foi utilizado como controle não sofrendo irradiação. As feridas tratadas ou não com laser foram avaliadas clínica e biometricamente. Foram obtidas fotografias nos períodos: pré-operatório, pós-operatório imediato, 3 dias, 7 dias, 14 dias, 21 dias, 28 dias e 35 dias que foram encaminhadas a três especialistas em periodontia para análise da qualidade da reparação. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente. Os resultados da análise biométrica mostraram diferenças significativas para a medida M3 no 21° e 28° dias. A avaliação clínica mostrou uma melhora na qualidade da reparação tecidual principalmente, após o terceiro dia, quando o grupo laser foi considerado melhor do que o grupo controle.

De acordo com LOPES *et al.* (2006), os lasers de baixa intensidade atuam como coadjuvantes a terapia periodontal e trazem benefícios valiosos à mesma como: redução de inflamação gengival, edema e dor (facilitando a higiene bucal pelos pacientes); diminuição da hiperestesia dentinária e cura mais rápida dos tecidos após raspagem; maior velocidade de reparação e menor dor após cirurgia periodontal e estimula o processo de formação óssea.

3.3 Método de medição de temperatura sem contato em tecidos vivos

De acordo com INCROPERA (2003), sempre que existir uma diferença de temperatura em um meio ou entre meios diferentes, ocorre, necessariamente transferência de calor. Os mecanismos de transferência de calor são: radiação, condução e convecção.

A vibração de campos elétricos e magnéticos que se propagam no espaço à velocidade da luz, gera uma onda eletromagnética e o conjunto de ondas eletromagnéticas formam o espectro eletromagnético. O Infravermelho é uma frequência eletromagnética naturalmente emitida por qualquer corpo, com intensidade proporcional à sua temperatura.

A termografia pode ser apresentada como sendo a técnica de um método não destrutivo sem contato de identificação visual do gradiente de temperatura superficial de um corpo em condições ambientais, CORTIZO (2007). O mesmo autor coloca que a termografia, basicamente, é a percepção da temperatura superficial de um corpo, uma vez que todo corpo com temperatura acima do Zero Absoluto emite radiação térmica e cita que Segundo HOLST (2000), deverá haver um diferencial de temperatura entre o alvo e o meio, pois somente neste caso será possível ocorrer uma diferenciação entre o alvo e o meio.

Ainda CORTIZO (2007), cita que MALDAGUE (2001) apresenta duas técnicas para o método não destrutivo de imageamento térmico. A primeira: *Técnicas Passivas*, são aquelas nas quais os

materiais já contêm armazenamento interno de energia térmica ou são estimulados por uma fonte natural de calor (energia solar), e a segunda, *Técnicas Ativas*, são aquelas que envolvem o aquecimento ou resfriamento dos materiais para causar o fluxo de calor e o gradiente térmico necessário.

A termografia baseia-se na análise da radiação emitida, logo a energia refletida é uma variável não desejada, caracterizada como uma incerteza no processo de captura da imagem, (CORTIZO, 2007).

A tecnologia infravermelha pode ser utilizada também para visualizar o perfil térmico do corpo humano. Como todo e qualquer objeto, o corpo humano que é um sistema vivo e termicamente regulado irradia infravermelho de maneiras muito interessantes. Por se tratar de um sistema em equilíbrio, a irradiação de infravermelho emitida pelo corpo humano pode fornecer uma série de informações complementares e de acompanhamento para o médico.

O calor irradiado pelo corpo humano, quando observado externamente, será sempre uma somatória dos efeitos vasculares (microcirculação sanguínea), neurológicos e metabólicos (queima de glicogênio) e dependendo de cada situação o médico poderá analisar a possível causa do aquecimento ou resfriamento de uma determinada área da pele. O corpo humano sendo um sistema dinâmico, as variações de temperatura mediante estímulos controlados podem trazer muito mais informações que uma simples leitura direta.

O exame baseado em termografia é totalmente indolor, não invasivo e sem risco algum para o paciente. Pode ser utilizado repetidamente quantas vezes necessário, mesmo em crianças e gestantes, sem dano algum. Não se usa nenhum tipo de contraste. É especialmente útil em pacientes com dor crônica que geralmente já sofreram múltiplos procedimentos dolorosos, e que portanto mostram certa resistência na realização de mais provas diagnósticas. Poupa o paciente de exames invasivos desnecessários, desagradáveis e frequentemente bem mais onerosos; (http://www.thermotronics.com.br/galeria_medicina.html) 2007.

A termografia infravermelha é um método rápido, sem contato, que quantifica mudanças na temperatura da superfície da pele, em tempo real, com precisões que oscilam entre 0,5 e 0,3 graus Celsius. A identificação do estado febril pode ser feito utilizando uma câmara infravermelha e um software adequado para poder avaliar e medir com a maior precisão, a distribuição de temperaturas no rosto de uma pessoa.

Alguns exemplos de termografia realizada em tecidos vivos estão ilustrados nas imagens termográficas coloridas indicando variações de temperatura especificamente em seres humanos, nas regiões das costas e rosto, FIG 12.

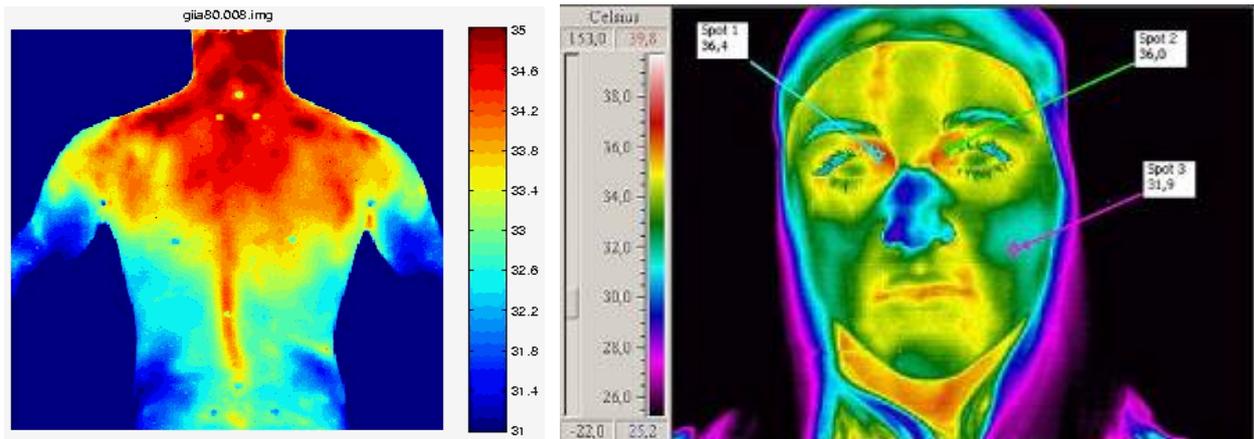


FIGURA 12 - Imagens termográficas da variação de temperatura superficial do corpo humano e face.

(http://www.termografia.com/br/aplicaciones/medicina_e_veterinaria.html).

(<http://pt.wikipedia.org/wiki/Termografia>)2007.

RAUDALES *et al.* (2006) relatam que recentemente foi descoberto que placas com inflamação superficial apresentam temperatura local mais elevada (placas quentes) do que as placas não-inflamadas (placas frias); isto porque as placas inflamadas apresentam importante infiltração de macrófagos ativados, indicando maior metabolismo celular. Esse fato é relevante, considerando que as artérias coronárias normais apresentam temperatura uniforme. Esses achados levaram ao desenvolvimento dos dispositivos para termografia. Estes consistem na utilização de um fio-guia de 0,014 polegadas, com um detector térmico na sua extremidade distal (comercialmente conhecido como ThermoCoil®, IMETRX, Inc.), que possibilita a medição da temperatura nas paredes das artérias coronárias, detectando variações térmicas $>$ de $0,03^{\circ}$ C. Stefanadis e colaboradores, encontraram que a heterogeneidade térmica foi um poderoso preditor independente de eventos adversos (síndromes coronárias agudas).

Os autores colocam como duas grandes limitações do método são que a termografia não permite a avaliação morfológica da placa e a experiência clínica atual é bastante limitada, justificada em parte pela saída do mercado do fabricante do ThermoCoil®.

4 METODOLOGIA

4.1 Voluntários

Trinta voluntários entre 18 a 60 anos, com dentes e tecidos gengivais clinicamente normais foram selecionados de consultório particular.

Foram excluídos apenas os voluntários que apresentaram sangramento no procedimento de coleta.

4.2 Material

1- Para o exame foram utilizados: espelho clínico, pinça para algodão, sonda milimetrada, rolo de algodão e luva descartável;

2-Equipamento óptico gerando diferentes comprimentos de onda em baixa intensidade:

a) equipamento de Laser de baixa intensidade, modelo Twin Laser da MMóptics®, com ponteiros de diodo vermelho ($\lambda = 680 \text{ nm}$) e infravermelho ($\lambda = 780 \text{ nm}$), ambas com 40 mw de potência previamente calibradas e mesma área de spot ($0,04\text{cm}^2$) . (MMóptics – São Carlos – SP), FIG 13;



FIGURA 13 - Equipamento Laser MMóptics com as duas ponteiros de $\lambda=680 \text{ nm}$ e $\lambda=780 \text{ nm}$

3- Película de PVC Magipak para proteção das canetas de aplicação do laser;

4-Transdutor eletrônico–PERIOTRON®–(Harco eletronic, Winnipeg, Manitoba, Canadá)-FIG 14;



FIGURA 14 - Transdutor eletrônico – PERIOTRON® – (ORAFLOW, Harco eletronic, Winnipeg, Manitoba Canada)

- 5- Fitas de película de lâmina plástica padronizadas de 0,5x 3 cm;
- 6- Lâminas e lamínulas de vidro para histologia;
- 7- Kit Panótico para coloração, (Laborclin produtos para laboratórios Ltda).FIG 15;



FIGURA 15 - Kit de coloração PANÓTICO.

- 8- Microscópio óptico biocular Nikon Alphaphot YS-USA;
- 9 – Termocâmera modelo Therma Cam P 20 – (FLIR SYSTEMS®), FIG 16;



FIGURA 16 –termocâmera utilizada no experimento.

4.3 Método

Este projeto de investigação científica foi aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa da UFMG (COEP) de acordo com o parecer nº. ETIC 373/07, contido no ANEXO B.1.

Foram selecionados 30 voluntários, com idade entre 18 e 60 anos, por possuírem todos os dentes das áreas envolvidas com coroas naturais, aspecto clínico gengival saudável e não possuírem nenhum comprometimento sistêmico que pudesse interferir no ensaio. A coleta do material para investigação científica foi executada após autorização do voluntário por escrito conforme o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO A.1), dentro do consultório odontológico particular. Não houve nenhum encargo financeiro por parte dos voluntários como também qualquer forma de remuneração e todas as despesas relacionadas com o estudo foram de responsabilidade do Pesquisador.

Para a seleção das 6 áreas periodontais foram realizados nos voluntários um exame clínico visual verificando a sua saúde periodontal (FIG 17) e as regiões escolhidas para coleta foram os sulcos das regiões interproximais dos elementos dentais 13-12, 11-21 e 22-23 (maxila) e 43-42, 41-31 e 32-33 (mandíbula).



FIGURA 17 - Imagem clínica do tecido gengival com isolamento relativo, indicação das áreas de coleta.

As regiões escolhidas para coleta foram as regiões interproximais anteriores de elementos dentais anteriormente citados, por possuírem maior quantidade de fluido sulcular gengival de acordo com HATIPOGLU *et al.* (2007).

Antes da coleta de fluido não foi realizada no voluntários nenhum tipo de profilaxia, controle de placa ou qualquer procedimento que pudesse influenciar na composição ou alteração no volume do fluido sulcular gengival.

Entre os diversos comprimentos de onda do espectro eletromagnético foram escolhidos o vermelho ($\lambda = 680 \text{ nm}$) e o infravermelho ($\lambda = 780 \text{ nm}$), por serem muito utilizados nas terapias e nos mais diversos tipos de tecidos.

O protocolo utilizado para as aplicações do laser foram idênticos para os comprimentos de onda de 680 nm e 780 nm, ambas ponteiros possuíam diodos com potências de 40mW e áreas de spot de $0,04\text{cm}^2$. Os tempos de aplicação por ponto em cada área foram de 2 minutos e meio, a energia depositada de 6 Joules por ponto resultando numa Dose de 150 J/cm^2 .

Entre as 6 áreas envolvidas no experimento, respeitou-se uma distância maior que um centímetro e meio (1,5cm), para que os resultados de uma irradiação não interferisse em outra área, seja estimulando ou inibindo a resposta. A ponteira foi posicionada por contato sobre a base da papila mantendo uma distância de 2mm da margem gengival.

A aplicação do laser foi executada dentro das normas internacionais de segurança para o laser de baixa intensidade onde o voluntário, o profissional e os assistentes utilizaram um par de óculos de proteção, ressonante com o comprimento de onda do laser, fornecido pelo fabricante e pertencente ao equipamento.

Este experimento foi dividido em duas etapas: A) uma realizada na parte superior, maxila (regiões interproximais de elementos dentais 13-12, 11-21 e 22-23), coletando o fluido com lâmina plástica padronizada de 0,5 x 3 cm para realização do esfregaço e verificação da composição celular antes e após irradiação laser e B) outra realizada na parte inferior, mandíbula (regiões interproximais dos elementos dentais 43-42, 41-31 e 32-33), coletando o fluido sulcular gengival com papel absorvente (Periopaper) para verificar sua diferença volumétrica antes e após irradiação laser, medida esta realizada pelo Periotron, FIG 18.

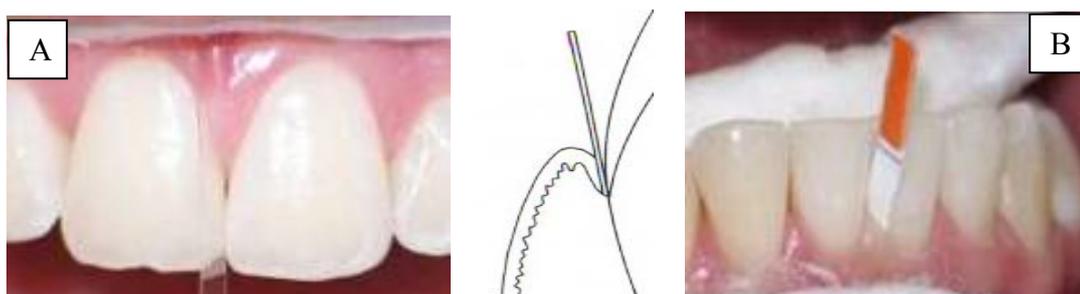


FIGURA 18 - Fotografia com fita posicionada no sulco gengival na maxila (A) e periopaper posicionado no sulco gengival na mandíbula (B). Ao centro desenho esquemático da posição da fita no sulco gengival.

Todo o procedimento teve duração de 35 minutos entre coletas superiores (antes e após irradiação), aplicações de laser e coletas inferiores (antes e após irradiação). As etapas verificação da composição celular e verificação das medidas volumétricas do fluido gengival, estão detalhadas a seguir:

4.3.1 Verificação da composição celular do fluido sulcular gengival(A)

De 30 voluntários, depois de realizado isolamento relativo com rolos de algodão, os tecidos e o dente foram secados com jato de ar.

Dos três sulcos pré selecionados da maxila, (A- área interproximal entre canino direito e incisivo lateral, B- área interproximal entre incisivos centrais e C- área interproximal entre incisivo lateral e canino esquerdo), foram coletadas amostras de fluido por meio de uma lâmina plástica delicadamente posicionada no sulco gengival e que imediatamente foram transferidas para lâminas em forma de esfregaços. As três áreas de coleta A, B e C com a fita posicionada estão ilustradas na FIG 19.



FIGURA 19 - Coleta do fluido com fita para esfregaço nas áreas A, B e C antes da irradiação laser.

A primeira área gengival (sem Laser), localizada na região interproximal entre os elementos dentais 13-12, não foi submetida a nenhuma radiação laser (FIG 20 – A), somente foi aguardado o tempo de irradiações.

A segunda área gengival (infravermelho) , localizada na região interproximal entre os elementos dentais 11-21, recebeu irradiação laser em baixa intensidade infravermelha ($\lambda = 780 \text{ nm}$), na região vestibular, pela técnica de aplicação pontual, com a potência de 40 mW, durante dois minutos e meio, com uma Dose de 150 J/cm^2 programada previamente no equipamento, (FIG 20 – B).

A terceira área gengival (vermelho), localizada na região interproximal entre os elementos dentais 22-23, recebeu a irradiação laser em baixa intensidade vermelha ($\lambda = 680 \text{ nm}$), na região vestibular, pela técnica pontual, com a potência de 40 mW, também durante dois minutos e meio com Dose de 150 J/cm^2 programada previamente no equipamento, (FIG 20 – C).

A ponteira foi posicionada por contato sobre a base da papila mantendo uma distância de 2mm da margem gengival. O modo de emissão do laser nas duas áreas B ($\lambda = 780 \text{ nm}$) e C ($\lambda = 680 \text{ nm}$) foi contínuo e as aplicações estão ilustradas na FIG 20.

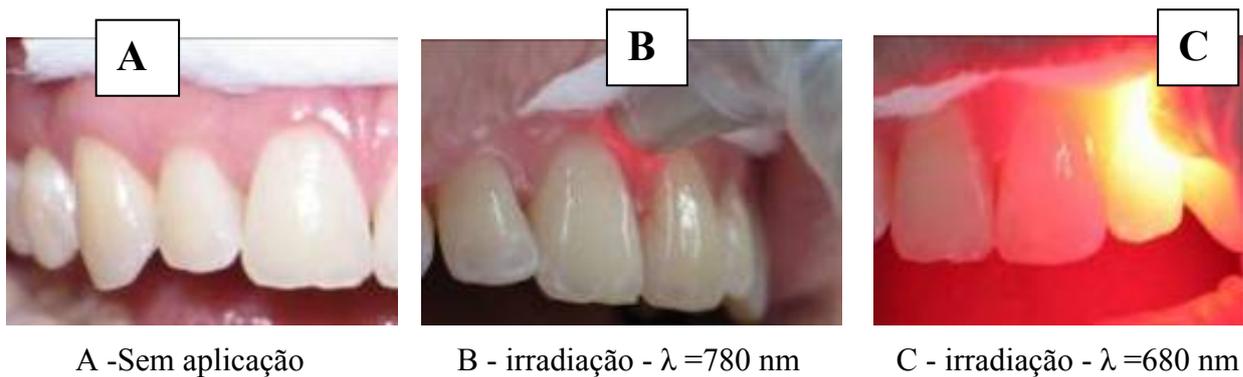


FIGURA 20 - Áreas controle sem laser (A), recebendo laser infravermelho (B), recebendo laser vermelho (C).

Posteriormente à irradiação novamente foram coletadas com lâmina plástica amostras de fluido do sulco das três áreas gengivais, sem laser FIG 21 A, laser infravermelho FIG 21 B e laser vermelho FIG 21 C, que imediatamente foram transferidas para lâminas em forma de esfregaços.



FIGURA 21 - Coleta do fluido com fita para esfregaço nas áreas A, B e C após a irradiação laser.

Após o material coletado pela lâmina plástica ter sido plantado sobre lâminas histológicas, essas foram rotuladas constando o N° do voluntário definido pela ficha de cadastro contida no termo de consentimento livre e esclarecido e nomeadas em: lâmina A (antes e após sem laser), lâmina B (antes e Laser 780 nm- Infravermelho), lâmina C (antes e Laser 680 nm- Vermelho). As lâminas foram devidamente armazenadas em caixas apropriadas.

A seguir está ilustrado na FIG 22, todo o esquema para a distribuição do esfregaço nas lâminas após as coletas.

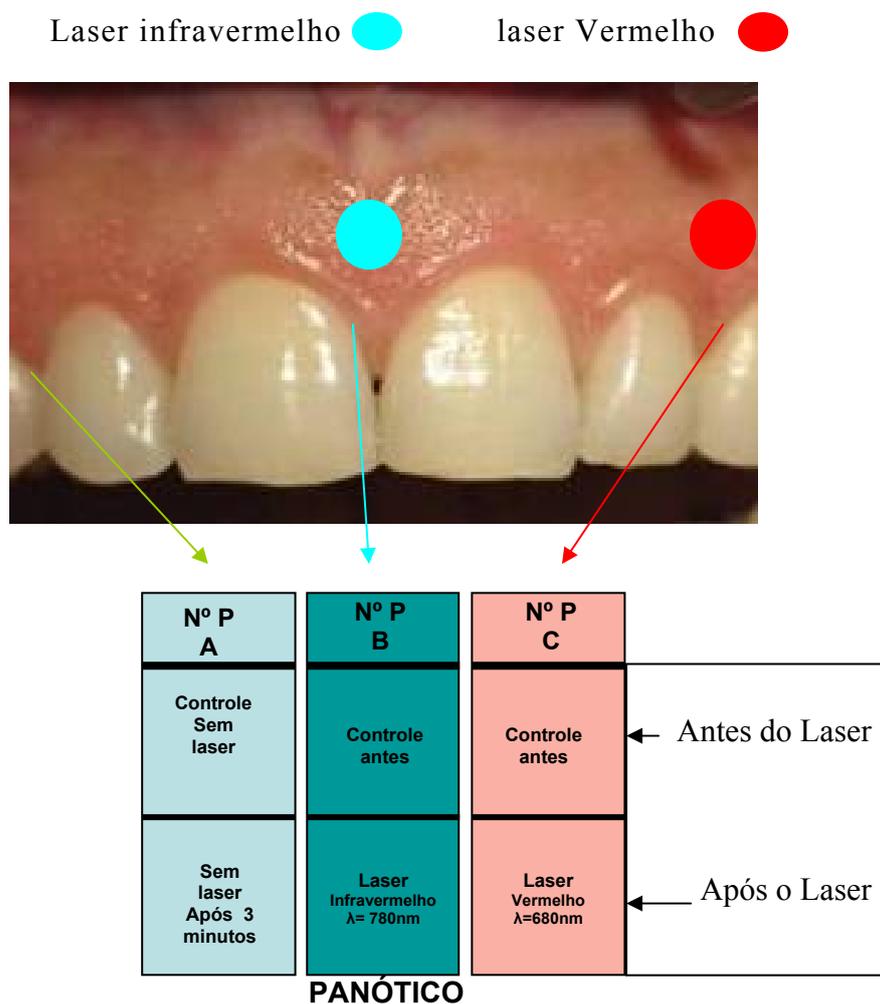


FIGURA 22 – Esquema de coleta e realização das lâminas com esfregaço.

Após a fixação e secagem, as amostras foram coradas através da técnica Panótico (FIG 23) e observadas em microscópio óptico comum.



FIGURA 23 - Kit de coloração Panótico e lâminas coradas.

Os corantes para esfregaços sangüíneos, também chamados de pancrômicos, são uma mistura de corantes de características neutras, dependentes do pH da solução que em condições apropriadas coram os componentes nucleares e citoplasmáticos dos leucócitos, com predominância de tons vermelhos (quando ácidos) e azulados diversos (quando básicos). O método de utilização da técnica de coloração Panótico está descrito no ANEXO C.1.

O material coletado e corado foi examinado com microscópio óptico bi-ocular Nikon Alphaphot Ys e realizadas a contagem das células sangüíneas (neutrófilos e macrófagos) presentes no esfregaço, em dez campos, com ocular 10X e objetiva de 100X resultando num aumento de 1000X, observadas todas as estruturas presentes.

A base de dados dos 30 voluntários constou de contagens de células inflamatórias (neutrófilos e macrófagos) em fluido colhido de sulco sulcular gengival e o material de cada voluntário constou de três lâminas e cada lâmina foi dividida em duas áreas assim representadas: A) sem laser – antes e depois; B) Infravermelho (IV) - antes e depois; C) Vermelho – antes e depois.

Os dados foram apresentados como contagem de células em 20 campos por lâmina, onde 10 campos representavam a região antes (sem laser) e 10 campos a região após a irradiação (com laser), totalizando 60 campos contados por voluntário. O grupo controle não recebeu qualquer tratamento, mas também recebeu duas coletas com mesmo intervalo de tempo das outras áreas. No total, por voluntário, foram contados sessenta campos e no experimento inteiro incluindo todos os 30 voluntários totalizou mil e oitocentos (1800) campos contados.

Os resultados registrados em tabelas estão contidos no ANEXO E.1 e posteriormente foram submetidos à análise estatística.

4.3.2 Verificação das medidas volumétricas do fluido gengival

Nos 30 voluntários, depois de realizado isolamento relativo com rolos de algodão, os tecidos e o dente foram levemente secados com jato de ar. De 3 sulcos gengivais pré selecionados da mandíbula (A- área interproximal entre canino direito e incisivo lateral, B- área interproximal entre incisivos centrais e C – área interproximal entre incisivo lateral e canino esquerdo); o material fluido foi coletado através de papel absorvente (Periopaper) delicadamente posicionado no sulco gengival e lá permanecendo durante dez segundos, para quantificação volumétrica realizada pelo Periotron. As três áreas de coleta A, B e C com o periopaper posicionado estão ilustradas na FIG 24.



FIGURA 24 - Coleta de fluido com periopaper posicionado nas áreas A, B, C antes da irradiação.

A primeira área gengival localizada na região interproximal entre os elementos dentais 43-42, não foi submetida a nenhuma radiação laser (FIG 25 – A), mas foi aguardado o mesmo tempo de duração das irradiações nas demais áreas (aproximadamente 7 minutos).

A segunda área gengival localizada na região interproximal entre os elementos dentais 41-31, recebeu irradiação laser em baixa intensidade infravermelha ($\lambda = 780 \text{ nm}$), na região vestibular, pela técnica de aplicação pontual, com a potência de 40 mW , durante dois minutos e meio, com uma Dose de 150 J/cm^2 programada previamente no equipamento, (FIG 25 – B).

A terceira área gengival localizada na região interproximal entre os elementos dentais 32-33, recebeu à irradiação laser em baixa intensidade vermelha ($\lambda = 680 \text{ nm}$), na região vestibular, pela técnica pontual, com a potência de 40 mW, também durante dois minutos e meio com Dose de 150 J/cm^2 programada previamente no equipamento, (FIG 25 – C).

A ponteira foi posicionada por contato sobre a base da papila mantendo uma distância de 2mm da margem gengival. O modelo de emissão do laser nas duas áreas B ($\lambda = 780 \text{ nm}$) e C ($\lambda = 680 \text{ nm}$) foi contínuo e as aplicações estão ilustradas na FIG 25.



FIGURA 25 - Áreas controle sem laser (A), recebendo laser infravermelho (B) e recebendo laser vermelho(C).

Após à irradiação, novamente foram coletadas amostras de fluido do sulco das três áreas gengivais (sem laser FIG 26 A, Laser infravermelho FIG 26 B e Laser vermelho FIG 26 C) através de papel absorvente (Periopaper) delicadamente posicionado no sulco gengival, para quantificação volumétrica pelo Periotron, FIG 26.



FIGURA 26 - Medição com periopaper das áreas A controle, B infravermelho e C vermelho após a irradiação.

A seguir estão as fotografias do periopaper, do Periotron e em detalhe o sensor do Periotron, FIG 27.



FIGURA 27 - Fotografias do periopaper, Periotron e sensor do Periotron.

As medidas volumétricas realizadas pelo Periotron sobre o material coletado do sulco gengival antes e após a irradiação laser, foram registradas na TABELA 6 e posteriormente analisadas estatisticamente.

Concluídas as duas etapas anteriormente citadas, em oito dos trinta voluntários, o controle de temperatura foi verificado por uma termocâmera, que gerou uma imagem termográfica e registrou a temperatura no momento antes e três minutos após a aplicação do laser. Esta etapa está descrita a seguir.

4.3.3 Termografia dos tecidos gengivais

O registro dessa temperatura foi realizado utilizando uma termocâmara modelo Therma Cam P 20 – FLIR SYSTEMS®, no interior do laboratório de termometria do departamento de Engenharia Mecânica da UFMG, com umidade e temperatura ambiente monitorada e controlada.

A operação da termocâmara foi realizada por um termografista profissional.

Em oito voluntários observou-se as variações de temperatura tecidual antes e após a irradiação laser. Três áreas foram selecionadas na maxila, A- área interproximal entre canino direito e incisivo lateral (P_1), B- área interproximal entre incisivos centrais (P_2) e C- área interproximal entre incisivo lateral e canino esquerdo (P_3).

Após realizado o afastamento da bochecha com afastador para fotografia e aguardar um período de três minutos, a região ter sido levemente secada com jato de ar, foi realizada uma imagem termográfica inicial da área anterior gengival incluindo os três campos (P_1 , P_2 e P_3) selecionados para o experimento antes da irradiação, FIG 28.

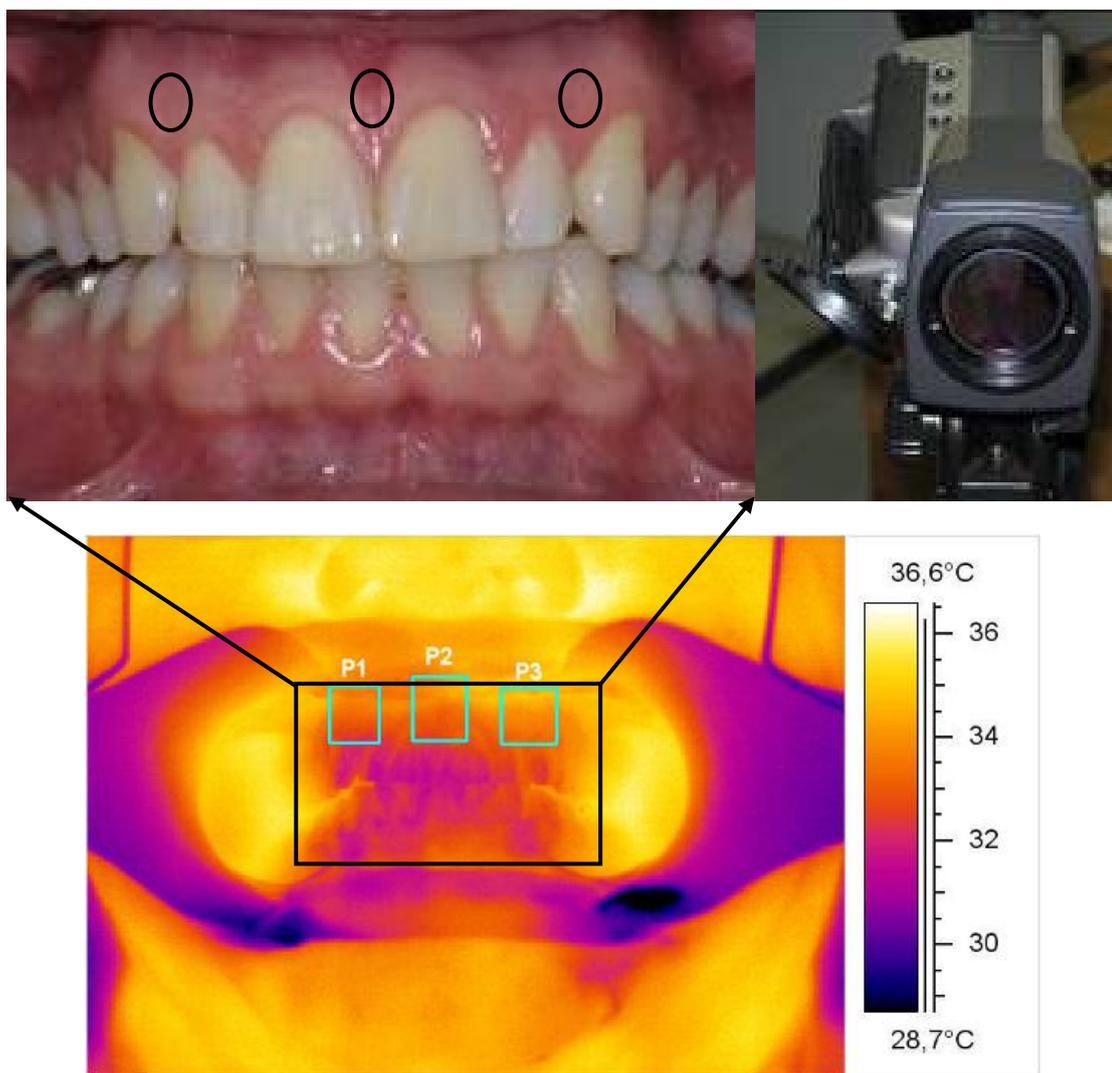


FIGURA 28 – Foto da área frontal gengival , termocâmara utilizada e imagem termográfica frontal da área gengival.

As três áreas da maxila foram igualmente divididas para irradiação conforme protocolo anterior.

A primeira área gengival localizada na região interproximal entre os elementos dentais 13-12, não foi submetida a nenhuma radiação laser (FIG 29 – A), somente foi aguardado o tempo de irradiações.

A segunda área gengival localizada na região interproximal entre os elementos dentais 11-21, recebeu irradiação laser em baixa intensidade infravermelha $\lambda = 780 \text{ nm}$, na região vestibular, pela técnica de aplicação pontual, com a potência de 40 mW , durante dois minutos e meio, com uma Dose de 150 J/cm^2 programada previamente no equipamento, (FIG 29 – B).

A terceira área gengival localizada na região interproximal entre os elementos dentais 22-23, recebeu à irradiação laser em baixa intensidade vermelha $\lambda = 680 \text{ nm}$, na região vestibular, pela técnica pontual, com a potência de 40 mW , também durante dois minutos e meio com Dose de 150 J/cm^2 programada previamente no equipamento, (FIG 29 – C).

O modo de emissão do laser nas duas áreas B ($\lambda = 780 \text{ nm}$) e C ($\lambda = 680 \text{ nm}$) foi contínuo e as aplicações estão ilustradas na FIG 29.

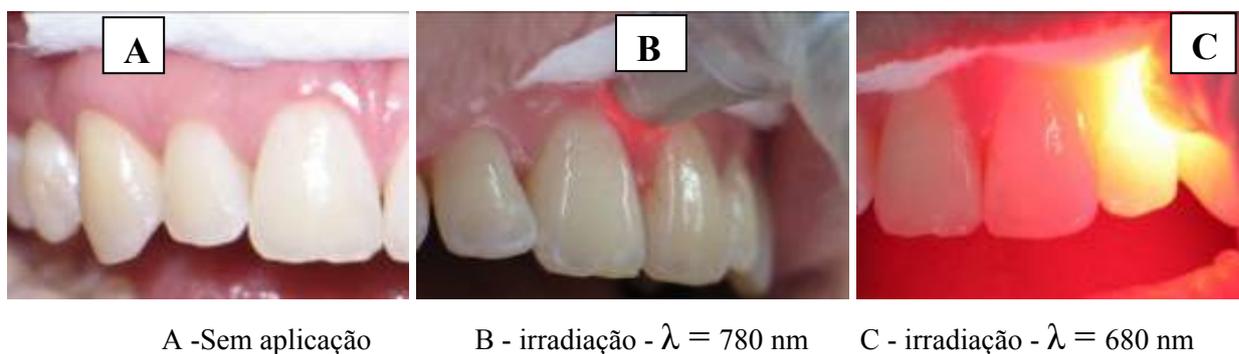


FIGURA 29 - Áreas controle sem laser (A), recebendo laser infravermelho(B) e recebendo laser vermelho(C).

Logo após a irradiação laser sobre as regiões B e C, foi novamente obtida a imagem termográfica da área gengival anterior (termocâmera), incluindo as três áreas A, B e C, e suas imagens posteriormente analisadas e interpretadas pelo programa ThermoCam reporte e comparadas com a foto anterior indicando o quanto a temperatura variou na superfície gengival.

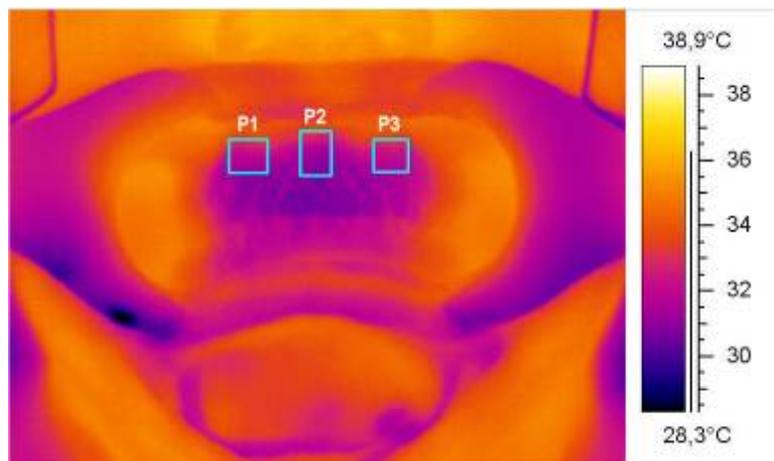
Após as imagens capturadas, os valores de temperatura obtidos pela termocâmera nas três áreas do experimento, em oito voluntários, estão registrados na TABELA 8, nos Resultados .

As imagens termográficas da área anterior gengival antes e após a irradiação laser indicando as medições de temperatura, estão ilustradas na FIG 30.

Regiões definidas

P1 – Sem Laser, P2 – Laser infravermelho $\lambda = 780 \text{ nm}$, P3 – Laser Vermelho $\lambda = 680 \text{ nm}$

ANTES



ϵ : T. Ambiente: Umidade:

0,93 28,3°C 0,50

Data: Hora: Alvo:

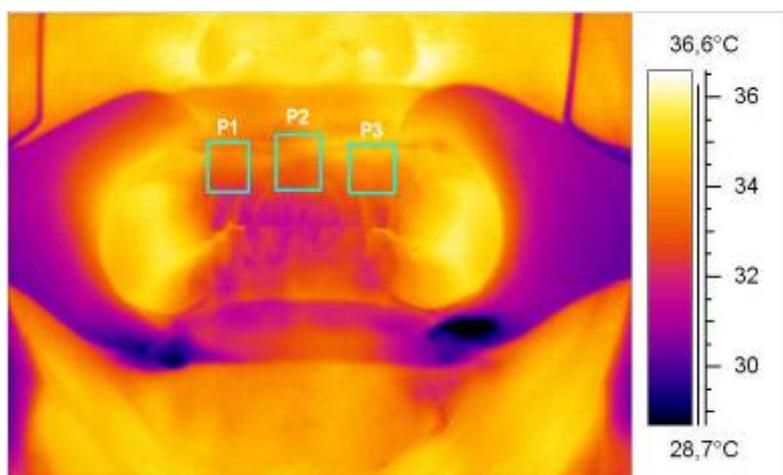
14/02/2008 14:31:02 0,3m

Imagem:

Ir_0064.jpg

Área	T.máxima
P1	33,7°C
P2	33,4°C
P3	33,6°C

APÓS



ϵ : T. Ambiente: Umidade:

0,93 28,3°C 0,50

Data: Hora: Alvo:

14/02/2008 14:38:36 0,3m

Imagem:

Ir_0065.jpg

Área	T. máxima
P1	34,5 °C
P2	34,9 °C
P3	35,0 °C

FIGURA 30 - Imagens termográficas frontais das regiões gengivais antes e após a irradiação laser.

Os relatórios completos elaborado pelo termografista contendo a emissividade do tecido gengival, os dados da medição (data , hora e distância do alvo) e condições ambientais (temperatura ambiente e umidade), estão presentes no ANEXO D.1.

Durante todo o processo, houve uma preocupação com a identificação dos principais pontos de incertezas relacionados a cada fase do experimento referentes a: coleta do fluido, ao laser, ao Periotron e a termocâmara. Estes dados estão relatados a seguir.

4.4 Identificação de incertezas

A medição de uma grandeza é sempre iniciada através da identificação do mensurando, associado aos respectivos métodos e seu procedimento.

De acordo com BUCHMANN e SARKIS (2002) o termo incerteza está intimamente relacionado com a dúvida, podendo concluir que a incerteza de medição nada mais é do que uma dúvida com relação ao valor obtido durante o procedimento.

Normalmente, o resultado de uma medição ou cálculo de uma grandeza representa uma aproximação ou estimativa do valor do mensurando e, portanto, somente é completo quando acompanhado de uma declaração de incerteza associada.

Segundo ainda BUCHMANN e SARKIS (2002), com o objetivo de identificar e analisar as possíveis fontes de incertezas na medição das grandezas avaliadas, os procedimentos adotados em cada etapa devem ser detalhados e estruturados de forma a garantir a máxima abrangência, evitando a duplicidade de fontes de incertezas. Normalmente, esse objetivo pode ser alcançado e melhor visualizado através da utilização de diagramas de causa e efeito, também conhecidos como diagramas de Ishikawa ou de espinha de peixe.

Em qualquer sistema de medição, é necessário identificar as maiores fontes de incertezas associadas aos procedimentos utilizados e compreender seus efeitos sobre o mensurando. A forma mais adequada de visualizar esses efeitos é a elaboração de um diagrama de causa e efeito procurando, dessa forma, evitar o uso duplicado ou a desconsideração das diversas fontes de incerteza.

Vale lembrar que a calibração estabelece a forma com que o sistema responde às alterações no parâmetro medido, enquanto que a rastreabilidade estabelece a exatidão do resultado da medição através dos materiais de referência. (GONÇALVES Jr.,2002).

Essencialmente, a rastreabilidade é uma propriedade do valor do resultado de uma medição ou do valor transportado por um material de referência, nunca podendo ser atribuída a um método, a um instrumento, a um material ou a um instituto de metrologia, mas sempre a outro valor.

Realizou-se uma identificação das principais incertezas relacionadas com o experimento referentes à coleta, ao laser, ao Periotron e à termocâmara.

Coleta do fluido gengival

As coletas foram realizadas sempre pelo mesmo profissional tanto com a lâmina plástica, quanto com o papel absorvente, num mesmo ambiente, para que desse modo diminuísse o risco de interferências.

Aplicação do Laser

Pode-se relatar que pontos de incerteza relacionados ao laser estão relacionadas ao equipamento (tensão elétrica de alimentação, potência gerada, dose aplicada) e ao operador (manuseio, posição da manopla).

Os equipamentos de laser foram previamente monitorados durante o período de dois minutos e meio para verificação da variação de intensidade luminosa por meio de um medidor de potência (Powermeter – NOVA Ophir Optronics®) que comprovou que o equipamento estava calibrado e sua potência em ambas ponteiros ($\lambda = 780 \text{ nm}$ e $\lambda = 680 \text{ nm}$) se mantiveram estáveis durante todo o tempo de irradiação. Na FIG 31 está ilustrado o procedimento anteriormente citado.



FIGURA 31 - Conjunto de fotografias mostrando o ensaio realizado para conferir estabilidade de emissão do laser medido com Powermeter.

Houve uma diferença de 3 mW de potência do infravermelho para o vermelho, mas não considerada significativa para aplicação sobre tecidos vivos.

Durante o experimento todas as aplicações foram realizadas por um único profissional com experiência em aplicação laser, utilizando as mesmas doses, ponteiros idênticas (área de spot de $0,04 \text{ cm}^2$), para os dois comprimentos de onda.

Periotron

As fases e componentes do sistema de medição realizado pelo transdutor eletrônico - PERIOTRON estão ilustradas a seguir:

SISTEMAS/MESURANDO	ELEMENTO SENSÍVEL	ELEMENTO CONVERSOR	ELEMENTO MANIPULADOR	ELEMENTO CONTROLADOR	ELEMENTO DE TRANSMISSÃO	MEMÓRIA	ELEMENTO DE APRESENTAÇÃO
Periotron/ fluido	Sensor - Superfície dos eletrodos	Dois eletrodos	Condutor de corrente elétrica - quanto mais corrente, mais denso o fluido	Dosador periotron	Interno	Resultado em número - escala periotron	Escala Periotron digital

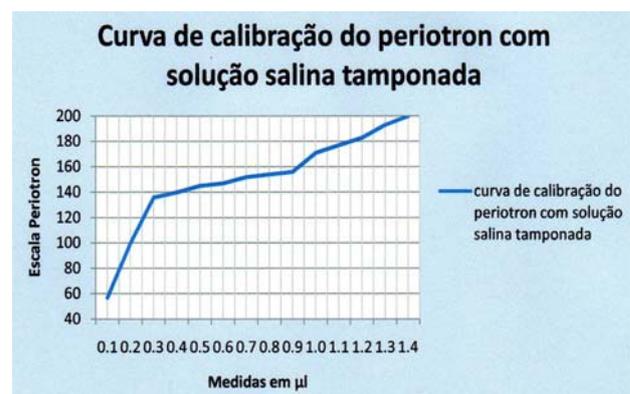
A seguir estão registradas as relações de proporção dos valores de volume em μl com a escala do medidor periotron. Na Tabela A.1.1 está registrada a relação entre o volume de solução salina em μl depositado no periotron por uma micropipeta e o valor expresso no visor pelo periotron. A curva dessa relação de proporcionalidade está ilustrada no gráfico ao lado da tabela.

A.1.1 - Verificação do periotron com tabela de comparação com micropipeta

TABELA e GRÁFICO

Coleta de valores volumétricos de solução salina Tamponada em μl medidos por micropipetas manuais e obtidos pelo Periotron. Gráfico da curva de calibração. Silveira (2003).

MICROPIPETAS (0,0 a 2,5 μl)	PERIOTRON
0.1	57
0.2	100
0.3	136
0.4	140
0.5	145
0.6	147
0.7	152
0.8	154
0.9	156
1.0	171
1.1	177
1.2	183
1.3	193
1.4	200+



Após a identificação do sistema de medição podemos relatar que os principais pontos de incerteza que podem interferir no mensurando e no resultado final do equipamento estão relacionados: ao papel absorvente (temperatura ambiente, umidade do ar e qualidade de absorção e umidade do próprio papel); ao operador (manuseio com o próprio Periotron e tempo

de posicionamento do periopaper no equipamento) e ao equipamento Periotron (impurezas no sensor, perdas de informação do sistema no caminho interno do equipamento, voltagem e interferências eletromagnéticas). Essas incertezas estão ilustradas no esquema espinha de peixe na FIG 32.



FIGURA 32 - Indicativos de incerteza do sistema de medição PERIOTRON esquematizado sobre o desenho espinha de peixe, modificado de BUCHMANN& SARKIS(2002).

Termocâmara

Segundo TAVARES (2006), as fontes de erros que geram incertezas em um processo de medição de temperatura sem contato podem ser divididas em externas (de medição) e internas (intrínsecas), ou ainda, como erros devido a condições radiométricas, erros eletrônicos ou de calibração.

Os dados obtidos e capturados pela termocâmara podem ser influenciados pela emissividade natural da área, temperatura ambiente, distância e umidade relativa do ar. Na intenção de cercar essas diferenças, capturou-se imagens anteriores e três minutos após a irradiação laser, em um mesmo ambiente, livre de interferências externas e este procedimento foi realizado por um mesmo profissional com experiência na utilização e manuseio da termocâmara.

A termocâmara foi operada por um único profissional com experiência no seu manuseio.

Estes registros foram obtidos dentro do laboratório de termometria do Departamento de Engenharia Mecânica da UFMG, com monitoramento de umidade e temperatura ambiente .

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando decidiu-se realizar esta pesquisa, optou-se por utilizar a luz laser gerada de um diodo, monocromática e coerente, (MYRING e KIMMITT, 1984 e SVELTO, 1989), com dois tipos de comprimentos de onda, 680 nm na faixa do espectro eletromagnético vermelho e 780 nm na faixa do espectro eletromagnético do infravermelho. Esses comprimentos de onda foram selecionados por serem muito utilizados nas terapias de alterações patológicas e de estimulação nos mais diversos tipos de tecidos.

O protocolo utilizado para as aplicações do laser foram idênticos para os comprimentos de onda de 680 nm e 780 nm, ambas ponteiros possuíam diodos com potências de 40 mW e áreas de spot de 0,04 cm². O tempo de aplicação por ponto em cada área foi de 2 minutos e meio, a energia depositada de 6 Joules por ponto resultando numa Dose de 150 J/cm², para que realmente só houvesse variação dos comprimentos de onda .

Entre as 6 áreas envolvidas no experimento, respeitou-se uma distância maior que um centímetro e meio (1,5cm), para que os resultados de uma irradiação não interferisse nas outras áreas, seja estimulando ou inibindo a resposta.

Baseado nos trabalhos de BRILL E KRASSE (1958), CARVALHO *et al* (1980), CARRANZA e BULKAZ (1997), que comprovaram a existência do fluido sulcular gengival e sua importância, achamos oportuno a realização desse trabalho.

As regiões escolhidas para coleta foram sulcos gengivais das áreas interproximais anteriores dos elementos dentais 13-12, 11-21 e 22-23 (maxila) e 43-42, 41-31 32-33 (mandíbula) por possuírem maior quantidade de fluido sulcular gengival de acordo com HATIPOGLU *et al* (2007).

Antes da coleta de fluido, não foi realizada nos voluntários nenhum tipo de profilaxia, controle de placa ou qualquer procedimento que pudesse influenciar na composição ou alteração no volume do fluido sulcular gengival.

O obstáculo mais difícil a ser superado quando se coleta o fluido gengival é a escassez de material. Diversos métodos de coleta foram tentados utilizando tiras de papel absorvente, roscas espirais colocadas em torno e dentro do sulco, micropipetas e lavagens intra-sulculares, de acordo com CIMASONI (1983). Ainda o mesmo autor propõe quatro métodos para a coleta de material do sulco gengival: tira de papel absorvente, tubos capilares, Lavagem do sulco gengival e fitas plásticas ou rodas de platina.

No presente estudo algumas tentativas foram feitas para se obter uma quantidade ideal de amostras do fluido sulcular gengival que pudesse ser transferido para uma lâmina. O primeiro foi com o próprio papel absorvente mas ele absorvia e não conseguia transferir o material para a lâmina. Outra tentativa foi após a coleta, o papel foi mergulhado em pontas de Eppendorf estéril contendo solução de soro fisiológico, o que também não houve êxito na obtenção da população celular. Enfim, conseguimos obter um esfregaço posicionando uma fita plástica diretamente no sulco gengival e o material coletado foi imediatamente transferido para as lâminas.

As áreas controle sem laser, foram selecionadas com o objetivo de mostrar se somente o ato de posicionar a fita no interior do sulco poderia alterar a composição do fluido.

Sobre o material coletado, pode-se afirmar que todos os componentes relatados na literatura a respeito da população celular estavam presentes e sabemos que no início o fluido parece conter uma baixa concentração de proteínas representando uma quantidade de líquido intersticial gerado localmente por um gradiente osmótico como resultado de uma permeabilidade aumentada do tecido gengival. Este fluido pode progredir a um exsudato inflamatório clássico, quando contiver quantidades mais altas de proteína; (CIMASONI, 1983).

A composição do fluido inclui: proteínas individuais, anticorpos específicos e antígenos, enzimas de várias especificidades, elementos celulares (bactérias, células epiteliais descamadas e leucócitos), eletrólitos (potássio, sódio e cálcio) e compostos orgânicos (carboidratos e proteínas) estes últimos numa concentração menor que no soro.

BISSON (2001), OZMERIC (2004), SILVA *et al.* (2004); confirmaram a presença de neutrófilos e monócito/macrófago no fluido gengival salientaram que esses são essenciais na resposta inflamatória do hospedeiro. Imagem registrada da fagocitose com presença de macrófago, neutrófilos e colônia bacteriana, FIG 33.

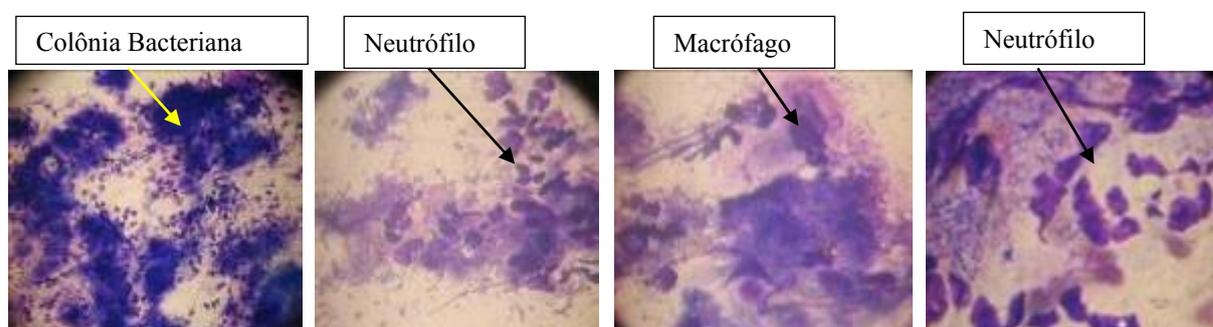


FIGURA 33 -Esfregaço de fluido gengival, coloração Panótico, neutrófilo – macrófago e colônia bacteriana, aumento 100X.

A literatura cita que mais de 90% dos leucócitos observados são PMNs neutrófilos. A maioria deles é viável e possui a capacidade de realizar fagocitose CIMASONI (1983). Esses leucócitos são encontrados nos sulcos, mesmo quando os tecidos estão livres de infiltrado inflamatório.

Neste presente estudo, concentrou-se a atenção na população celular, mais especificamente os neutrófilos e os macrófagos. Abaixo estão as imagens dessas células, obtidas de esfregaços de fluido, coradas pelo Panótico, em diversos aumentos microscópicos, (FIG 34, 35, 36 e 37).

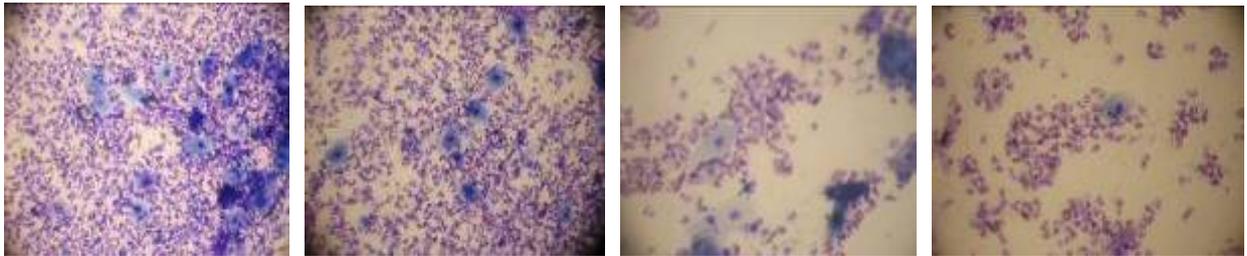


FIGURA 34 - Esfregaço de fluido gengival - coloração Panótico - aumento 40X

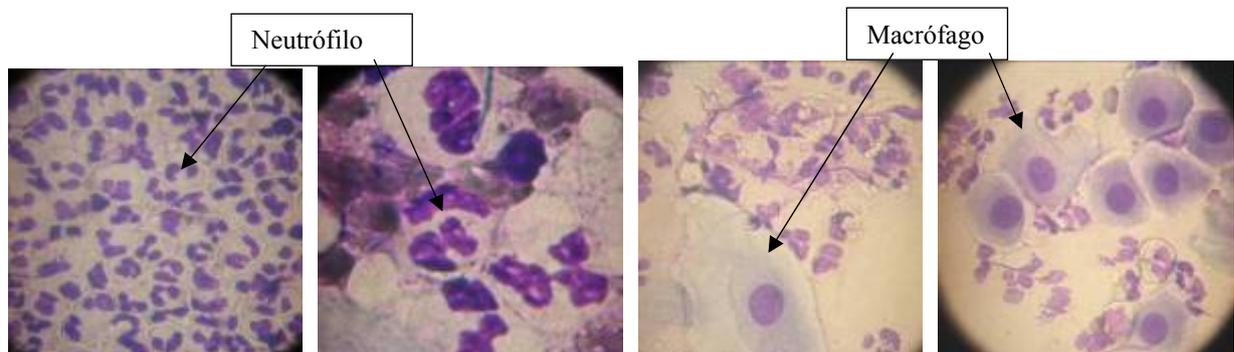


FIGURA 35 - Esfregaço de fluido gengival, coloração Panótico - neutrófilo e macrófago - aumento 400X e 1000X.



FIGURA 36 - Esfregaço de fluido gengival, coloração Panótico, - neutrófilo e macrófago- aumento 1000X.

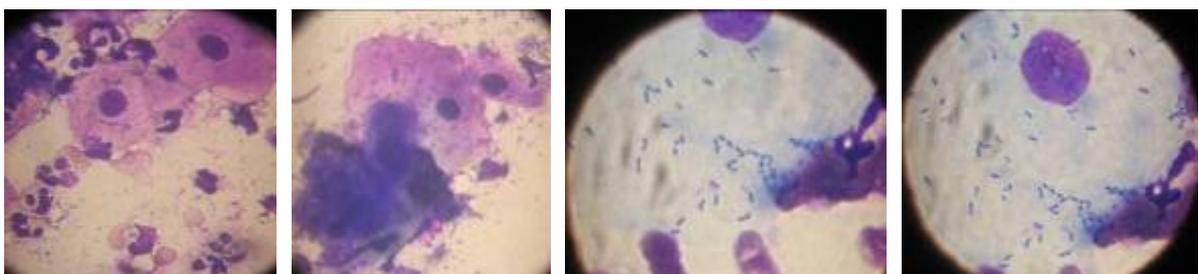


FIGURA 37 - Esfregaço de fluido gengival coloração Panótico - macrófago fagocitose - aumento 400X e 1000X

5.1 Verificação da composição celular do fluido gengival

Para se determinar o número de células observadas no esfregaço optou-se pela metodologia: foram contadas por visualização direta as células sanguíneas (neutrófilos, macrófagos e eosinófilos) presentes no fluido sulcular gengival (FIG 38); observadas em dez campos microscópicos do esfregaço, com ocular 10X e objetiva de 100X, resultando num aumento de 1000X, e os dados foram registrados em tabelas (ANEXO E.1), para análise.

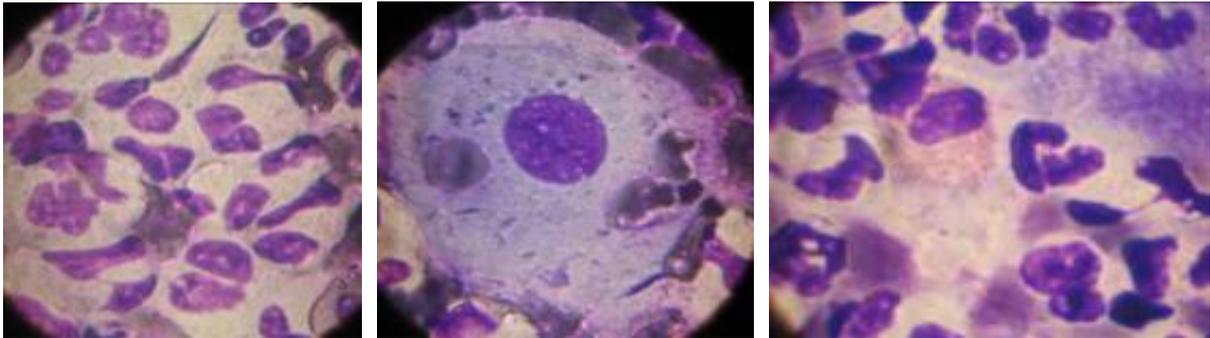


FIGURA 38 - Esfregaço de fluido gengival, coloração Panótico, Neutrófilo, Macrófago e Eosinófilo. Aumento 1000X.

Do ponto de vista estatístico, foram apresentados dados de trinta voluntários com contagens de células inflamatórias (neutrófilos e macrófagos) realizadas em fluido colhido de sulco gengival. Os dados foram apresentados como contagem de células em aproximadamente 20 campos por lâmina, onde 10 representavam a região antes da irradiação (sem laser) e 10 após a irradiação (com laser). O grupo controle não recebeu qualquer irradiação, mas foram efetuadas também duas coletas com mesmo intervalo de tempo das outras áreas. Em cada um dos 30 voluntários, foram realizadas contagens em seis áreas divididas em: A) sem laser – antes e após; B) Infravermelho - antes e após; C) Vermelho – antes e após.

Para cada voluntário, foram contados sessenta campos, totalizando no experimento inteiro um mil e oitocentos (1800) campos contados e registrados nas tabelas do ANEXO E.1.

Pelos dados obtidos, optou-se por trabalhar com as médias e analisar separadamente os dois tipos celulares predominantes: os neutrófilos e os monócitos/macrófagos. Para análise dos valores relativos a cada sítio, foi avaliada uma média dos 10 campos apresentados e os resultados foram expressos em número médio de células por campo.

As médias foram obtidas através da soma do número de células totais contadas dividida pelo número de campos (soma do número médio de células por voluntário) e estes valores de cada

voluntário, foram somados e novamente foi dividido pelo número de voluntários totais do experimento.

Foi excluído desse cálculo o voluntário de número 30 por apresentar presença de hemácias no esfregaço (sangramento) e com isso o número de voluntários utilizado no estudo (n) caiu para 29 como indicado na tabela de médias abaixo.

As médias obtidas dos números de neutrófilos por voluntário e os valores médios totais estão contidos na TAB. 1.

TABELA 1

Contagem de Neutrófilos (média de células por campo)

	Sem Laser		Infravermelho		Vermelho	
	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após
Média	48,0	16,3	40,0	10,3	42,9	7,3
Desvio	31,9	12,7	36,9	17,2	36,2	6,4
N	29,0	29,0	29,0	29,0	29,0	29,0
Erro	5,9	2,4	6,9	3,2	6,7	1,2
Voluntário						
1	39,1	30,4	47,1	0,6	86,9	0,0
2	44,0	22,4	10,5	22,4	8,7	2,4
3	61,0	15,1	134,0	9,7	44,6	4,1
4	14,2	41,7	24,6	4,6	10,2	1,2
5	39,4	10,2	21,9	11,2	10,1	3,5
6	136,2	39,7	23,1	8,3	140,4	24,8
7	14,6	14,0	12,2	1,1	13,1	1,8
8	21,0	6,4	5,0	4,1	30,0	6,4
9	20,6	30,5	14,7	5,4	30,9	12,3
10	14,2	9,7	8,4	1,7	11,1	1,4
11	98,9	4,9	30,7	4,9	86,7	18,5
12	31,9	2,8	11,3	2,7	28,6	3,8
13	24,0	6,5	16,6	8,1	34,1	7,7
14	82,4	12,2	32,1	3,8	44,6	8,6
15	57,0	20,7	89,6	80,4	28,6	8,5
16	57,1	34,2	37,1	4,7	68,3	9,5
17	55,7	11,8	43,7	10,9	56,5	6,3
18	43,5	6,0	8,0	8,6	115,3	6,2
19	72,0	13,7	64,1	5,0	22,0	5,2
20	4,1	0,8	10,5	2,6	25,1	4,8
21	88,1	1,7	18,0	4,4	10,8	1,6
22	82,4	26,4	139,2	57,7	120,7	1,6
23	66,4	37,4	26,7	2,3	39,3	2,1
24	14,6	2,0	26,8	1,4	8,1	0,6
25	78,8	33,4	63,3	4,8	47,4	9,2
26	64,4	18,2	25,2	3,5	7,4	12,2
27	16,4	7,7	86,3	4,0	59,8	10,2
28	7,6	8,6	28,5	14,2	32,4	17,8
29	43,7	2,9	101,5	4,2	22,6	20,8

A média dos valores celulares contadas por voluntário como também as médias gerais por grupo expressas na TAB. 1 e as médias gerais por grupo estão ilustrados no GRA 1 a seguir.

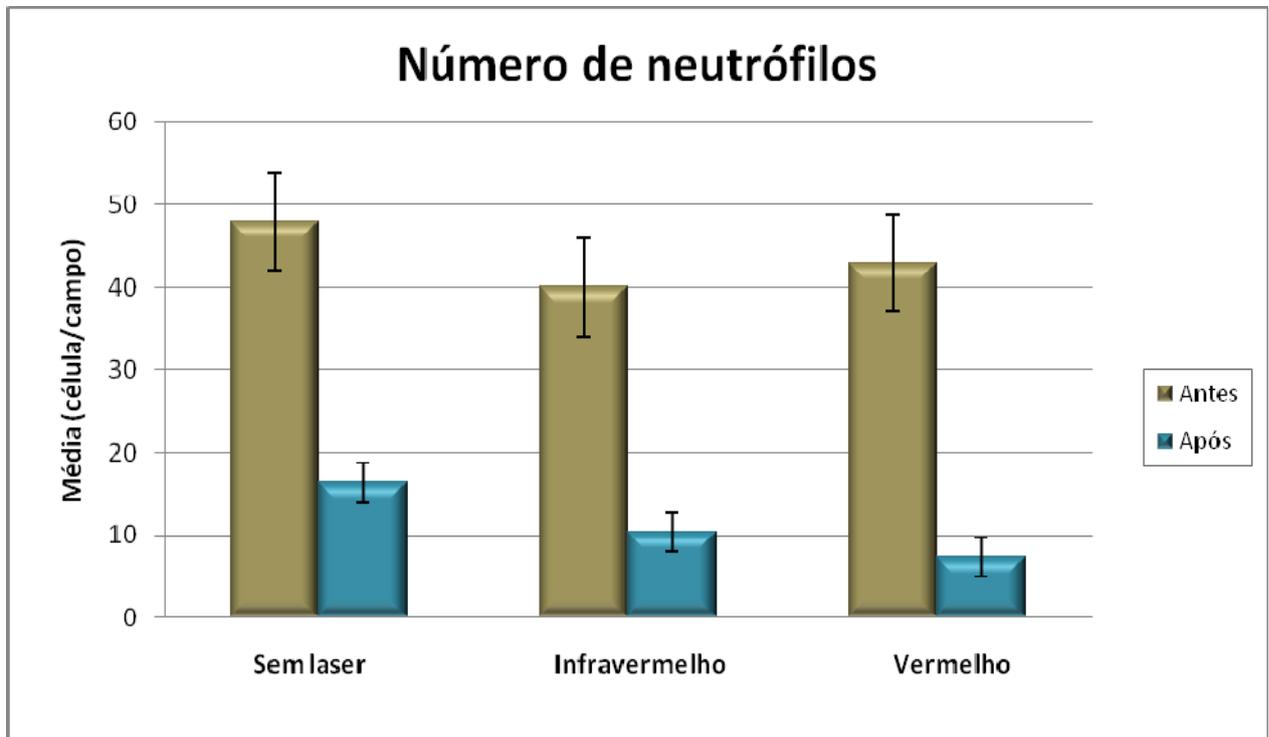


GRÁFICO 1 – Número de neutrófilos por campo nos três grupos antes e após a irradiação. As barras representam o erro padrão.

Observando o GRA 1, os dados mostram que antes da irradiação (coluna marrom), na região referente ao infravermelho (incisivos), o número de neutrófilos foi menor quando comparado com os grupos sem laser e vermelho (caninos), mas os três grupos comportaram da mesma forma. Ainda podemos relatar que antes da irradiação, as três áreas (sem laser, laser infravermelho e laser vermelho) apresentavam uma média similar de neutrófilos.

Após o tempo de irradiação (coluna azul), a área sem laser possui um maior número de neutrófilos seguidos pelo grupo infravermelho e o vermelho, foi o grupo que menos células apresentou.

Nas comparações individuais dos três grupos, no momento antes e após a irradiação (colunas marrom e azul), a área sem laser, como também as áreas que foram submetidas a irradiação laser tiveram um decréscimo no número de neutrófilos, sendo mais acentuado nas áreas que foram submetidas à irradiação laser infravermelho e vermelho. O grupo em que foi aplicado o laser vermelho (antes e depois) foi o que apresentou a maior redução do número de neutrófilos.

Como esta redução ocorreu também no grupo sem laser, poderia estar relacionada aos seguintes fatores: ressecamento das áreas devido a própria evaporação após o isolamento relativo; pela retenção de neutrófilos no interior dos tecidos; tempo relativamente curto entre as coletas que uma vez removida pela fita o fluido não teve um tempo para se recompor totalmente ou pelo aumento de remoção mecânica (lavagem) do sulco gengival provocado pelo posicionamento da fita. Essas possibilidades não podem ser comprovadas pelo presente experimento.

Para diferenciação estatística de cada grupo, foi calculada a co-variância, o valor de z e o valor do p para cada comparação entre os grupos. Os grupos foram considerados diferentes quando $p < 0,05$.

Na análise estatística comparando as regiões, podemos constatar que algumas diferenças entre os grupos foram realmente significantes e estão registradas na TAB. 2.

TABELA 2

Neutrófilos - Valores de p para cada uma das comparações. Para os grupos serem considerados diferentes, $p < 0,05$.

<i>P</i>					
	Sem Laser antes	Sem Laser após	Infravermelho antes	Infravermelho após	Vermelho antes
Sem Laser após	0,000				
Infravermelho antes	0,234	0,008			
Infravermelho após	0,000	0,124	0,000		
Vermelho antes	0,280	0,002	0,403	0,000	
Vermelho após	0,000	0,008	0,000	0,275	0,000

Na TAB. 2 estão contidos os valores expressos de p para comparações entre as médias dos diversos campos de contagem de neutrófilos representados por cores previamente definidas em azul, vermelho e amarelo.

Em azul estão ilustrados os valores de p para as comparações ocorridas entre áreas de uma mesma região, antes e após o tempo de irradiação (sem laser - antes e após $p = 0,000$; infravermelho - antes e após $p = 0,000$; e vermelho - antes e após $p = 0,000$). Todos os valores de p expressos como 0,000 foram resultados iguais ou inferiores a 0,000 portanto diferentes para $p < 0,05$. Concluindo, a redução no número de neutrófilos nos três grupos foi bastante significativa.

Baseados nos dados obtidos, quando comparou-se o grupo sem laser, antes e depois, observamos que $p = 3,5 \times 10^{-05}$ e este foi transformado em 0,000 na TAB.2, significa que os grupos são diferentes e portanto a redução foi significativa. Isso ilustra que, nesse caso, a metodologia

influenciou fortemente no resultado do número médio de neutrófilos por campo e que estes resultados em azul, antes e após a irradiação, nos três campos não poderiam ser avaliados como um efeito somente do laser.

Em vermelho estão ilustrados os valores de p para as comparações ocorridas entre as três áreas antes do tempo de irradiação (sem laser antes e infravermelho antes $p = 0,234$; sem laser antes e vermelho antes $p = 0,280$; e infravermelho antes e vermelho antes $p = 0,403$). Pode-se concluir que antes da aplicação não houve diferença entre os três grupos.

Em amarelo estão ilustrados os valores de p para as comparações ocorridas entre as três áreas depois do tempo de irradiação (sem laser depois e infravermelho depois $p = 0,124$; sem laser depois e vermelho depois $p = 0,008$; e infravermelho depois e vermelho depois $p = 0,275$). Observou-se que apenas o grupo laser vermelho promoveu uma redução significativa sobre a região sem laser.

A seguir nos gráficos estão expressos as colunas comparativas dos valores médios de neutrófilos entre os três grupos antes (GRA 2) e após (GRA 3) o tempo de irradiação constando os valores de p para relações de significância estatística.

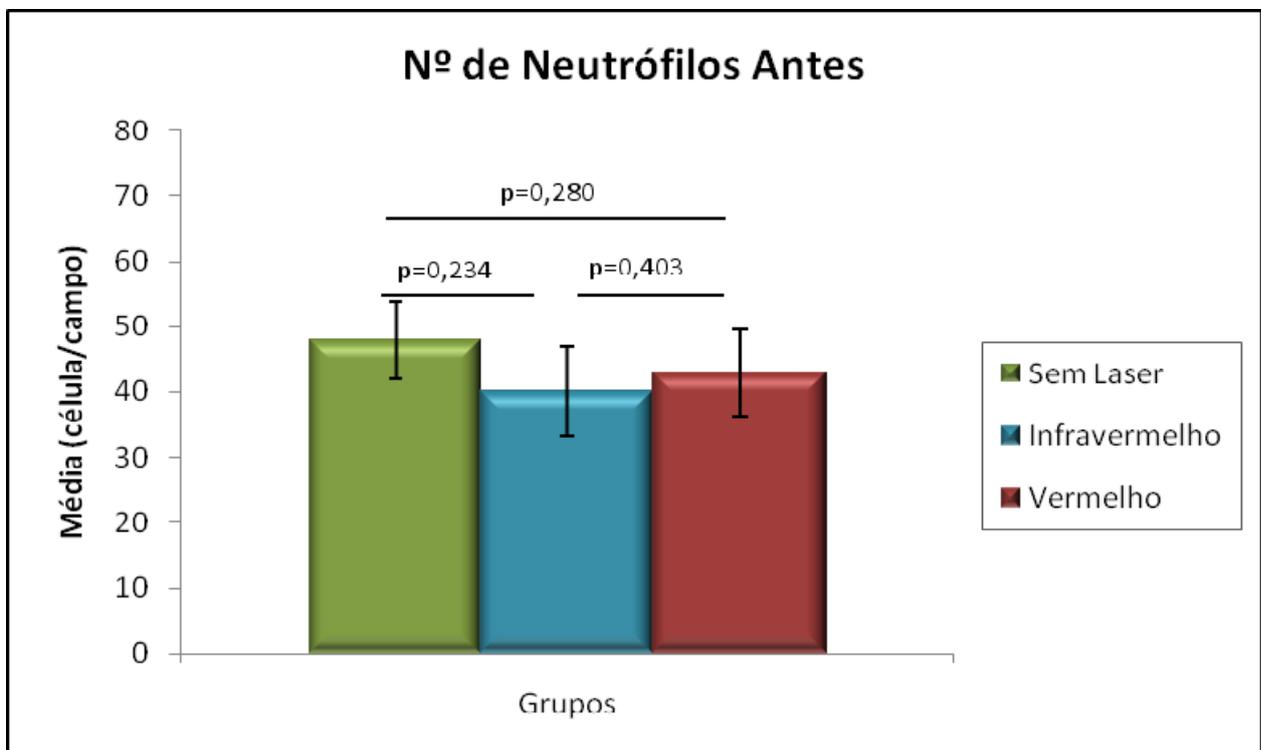


GRÁFICO 2 – Número de neutrófilos antes da irradiação. As barras representam o erro padrão. Os nº de células, por campo, antes da irradiação eram iguais nos três grupos ($p > 0,05$).

Considerando a relação entre as médias resultantes da contagem do número de neutrófilos e analisando os resultados dos três grupos antes da aplicação GRA 2, pode-se dizer que os três grupos não apresentaram diferenças quanto ao n° de neutrófilos e observa-se que os três grupos são estatisticamente iguais com todos os valores de $p > 0,05$.

Neste caso, observa-se que eliminou qualquer interferência com relação à metodologia entre as áreas comparadas e que o modo de coleta e a contagem celular não foi diferente entre as regiões gengivais e as áreas interproximais pré selecionadas, independente do elemento dental (canino ou incisivo), não influenciaram na contagem do número de neutrófilos.

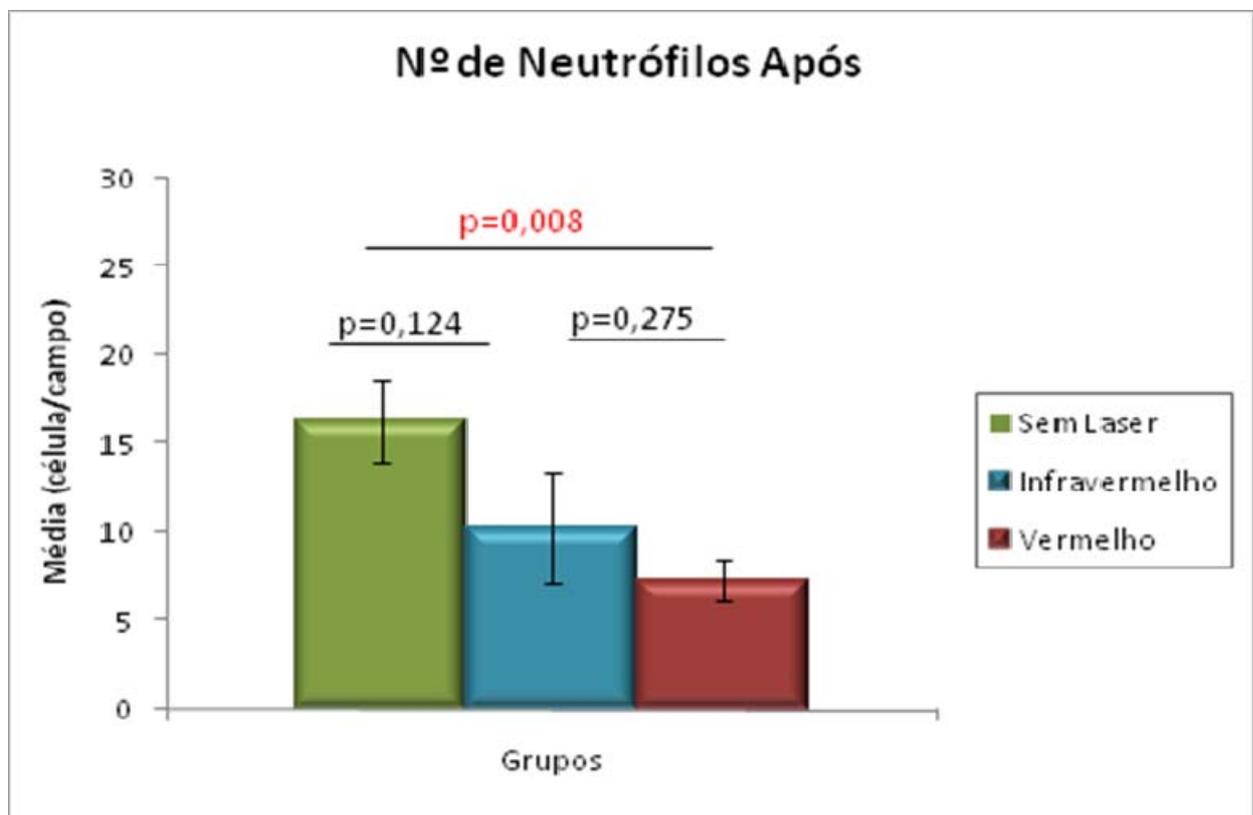


GRÁFICO 3 – Número de neutrófilos depois da irradiação. As barras representam o erro padrão. Os n° de células, por campo, depois da irradiação são diferentes para grupos ($p < 0,05$).

Comparando os três grupos (sem Laser, infravermelho, vermelho) após a segunda coleta, notamos que o número médio de neutrófilos por campo diminuiu (GRA 3). No entanto observando a TAB. 2, estatisticamente comparando os grupos sem laser depois e laser infravermelho depois ($p = 0,124$) como também os grupos infravermelho depois e vermelho depois ($p = 0,275$), não houve diferença entre estes grupos. Por outro lado, quando se compara o

grupo sem laser depois com o grupo laser vermelho depois ($p = 0,008$) observa-se uma diferença significativa na redução do número de neutrófilos.

Pode-se concluir que o laser vermelho de $\lambda = 680$ nm quando aplicado sobre tecidos gengivais, nos parâmetros utilizados nesse estudo, promove a redução de neutrófilos presentes no fluido sulcular gengival coletado dos sulcos nestas regiões.

Em seguida os números médios de macrófagos por voluntário e os valores médios totais estão registrados na TAB. 3.

TABELA 3

Contagem de Macrófagos (média de células por campo)

	Sem Laser		Infravermelho		Vermelho	
	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após
Média	2,0	1,6	2,0	2,5	2,1	2,6
Desvio	1,5	0,9	1,2	2,0	1,2	1,8
N	29,0	29,0	29,0	29,0	29,0	29,0
Erro	0,3	0,2	0,2	0,4	0,2	0,3
Voluntário						
1	3,4	2,2	3,0	1,9	3,8	4,6
2	1,9	1,0	2,3	1,2	0,6	3,7
3	2,9	2,2	2,3	5,4	1,5	3,4
4	1,0	1,3	1,4	0,4	1,0	2,2
5	7,1	2,2	4,3	1,7	0,8	2,3
6	0,4	2,0	0,9	1,7	1,9	3,0
7	6,0	3,1	4,8	9,5	1,7	1,5
8	3,7	1,2	0,5	1,2	1,5	4,1
9	1,2	3,1	1,2	1,3	1,2	2,3
10	1,6	1,5	1,8	2,1	2,2	4,2
11	0,6	0,4	1,0	0,4	1,6	2,4
12	0,9	1,7	0,3	4,8	1,5	5,9
13	0,5	0,2	1,9	2,7	1,5	1,5
14	3,5	3,7	2,2	2,0	3,3	3,7
15	1,2	2,7	2,0	6,2	0,6	1,5
16	0,9	0,9	0,5	1,8	4,9	3,0
17	2,7	1,4	1,4	1,8	1,7	0,7
18	1,4	0,0	0,7	1,0	3,3	0,9
19	2,6	0,8	3,1	1,2	1,8	0,9
20	2,3	3,0	4,3	3,4	2,6	2,2
21	5,5	1,7	3,4	2,9	4,2	3,8
22	1,5	1,4	3,0	2,3	3,3	2,1
23	1,2	0,4	3,8	2,1	4,3	5,5
24	1,0	1,5	2,0	1,6	1,9	0,4
25	1,8	2,0	3,1	3,0	1,6	0,4
26	0,6	1,3	0,6	1,3	0,7	1,2
27	1,3	0,8	2,2	1,4	0,7	0,5
28	2,5	2,7	1,8	2,7	1,5	7,1
29	0,6	0,8	1,0	0,5	1,2	0,8

As médias totais desses valores expressas na TAB. 3 estão ilustradas no GRA 4.

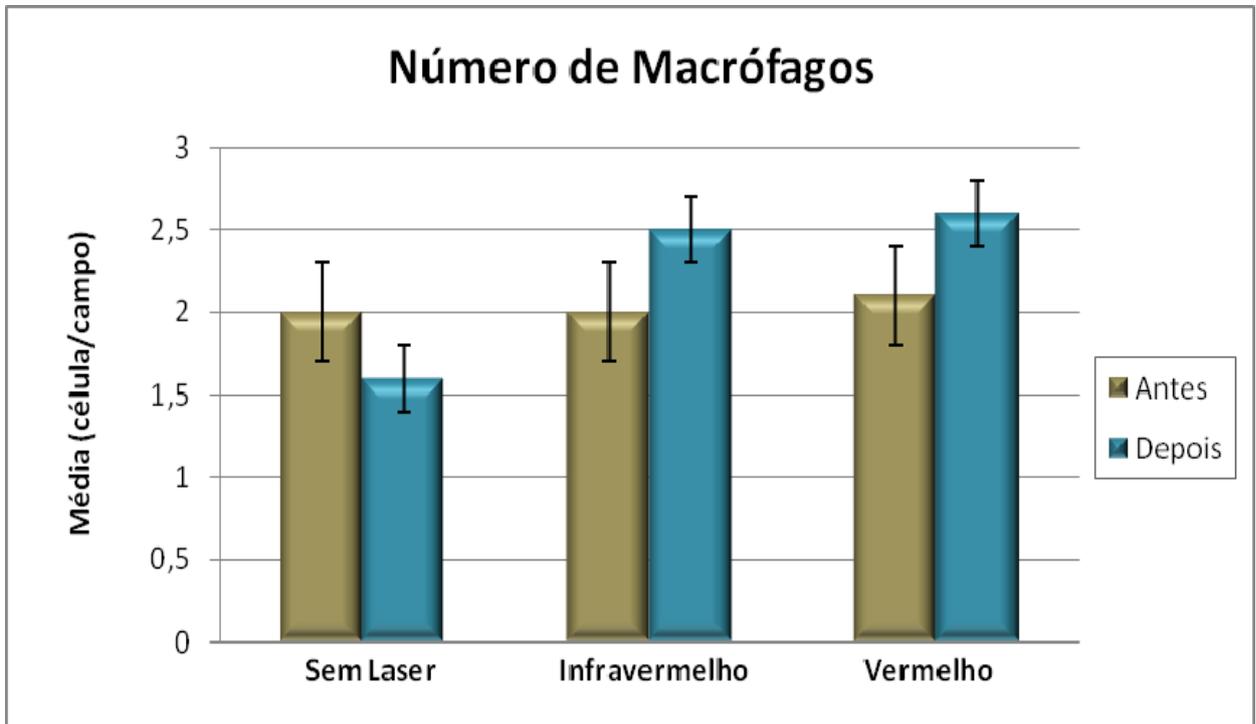


GRÁFICO 4 - Número de macrófagos por campo nos três grupos antes e após a irradiação. As barras representam o erro padrão.

Analisando a imagem do GRA 4 acima, nos três grupos (sem laser, laser infravermelho e laser vermelho) antes da irradiação, representados pela coluna marrom, as médias de contagem celulares eram similares.

Nos três grupos depois da irradiação laser (coluna azul), observa-se que enquanto no grupo sem laser apresentava um número médio de células mais baixo, nos grupos laser infravermelho e vermelho, o número de macrófagos presentes no fluido era maior.

Os mesmos três grupos isolados, percebe-se que: no grupo sem laser quando se compara antes e depois, passado tempo de irradiação, houve uma redução no número de macrófagos justificado pela diminuição de material colido e nos grupos que receberam efetivamente a irradiação laser infravermelho e vermelho houve um aumento no número de macrófagos;

Analisando os dados para diferenciação estatística de cada grupo, foi calculada a co-variância, o valor de z e o valor p para cada comparação entre grupos. Os grupos foram considerados diferentes quando $p < 0,05$.

Na análise estatística comparativa das médias, pode-se constatar que algumas diferenças entre os grupos foram realmente significantes e estão registradas na TAB. 4.

TABELA 4

Macrófagos - Valores de p para cada uma das comparações. Para os grupos serem considerados diferentes, $p < 0,05$.

<i>P</i>					
	Sem Laser antes	Sem Laser após	Infravermelho antes	Infravermelho após	Vermelho antes
Sem Laser após	0,100				
Infravermelho antes	0,399	0,064			
Infravermelho após	0,173	0,024	0,198		
Vermelho antes	0,410	0,099	0,461	0,274	
Vermelho após	0,123	0,014	0,156	0,399	0,134

Na TAB. 4 estão contidos os valores expressos de p para comparações entre as médias dos diversos campos de contagem de Macrófagos representados por cores previamente definidas em azul, vermelho e amarelo.

Em azul estão ilustrados os valores de p para as comparações ocorridas entre mesmas áreas antes e após o tempo de irradiação (grupo sem laser antes e após $p = 0,100$; grupo infravermelho antes e após $p = 0,198$; e grupo vermelho antes e após $p = 0,134$), mostrando que entre estes grupos não houve diferença.

Em vermelho estão ilustrados os valores de p para as comparações ocorridas entre as três áreas antes do tempo de irradiação (sem laser antes e infravermelho antes $p = 0,399$; Sem laser antes e vermelho antes $p = 0,410$; e infravermelho antes e vermelho antes $p = 0,461$). Estes valores mostram que os três grupos foram idênticos.

Em amarelo estão ilustrados os valores de p para as comparações ocorridas entre as três áreas após o tempo de irradiação (sem laser após e infravermelho após $p = 0,024$; sem laser após e vermelho após $p = 0,014$; e infravermelho após e vermelho após $p = 0,399$).

Os valores relatam que os grupos laser foram diferentes do grupo sem laser.

Nos GRA 5 e 6 respectivamente, estão expressas as colunas comparativas dos valores médios do número de macrófagos entre os três grupos antes e após o tempo de irradiação constando os valores de p para as relações de significância estatística.

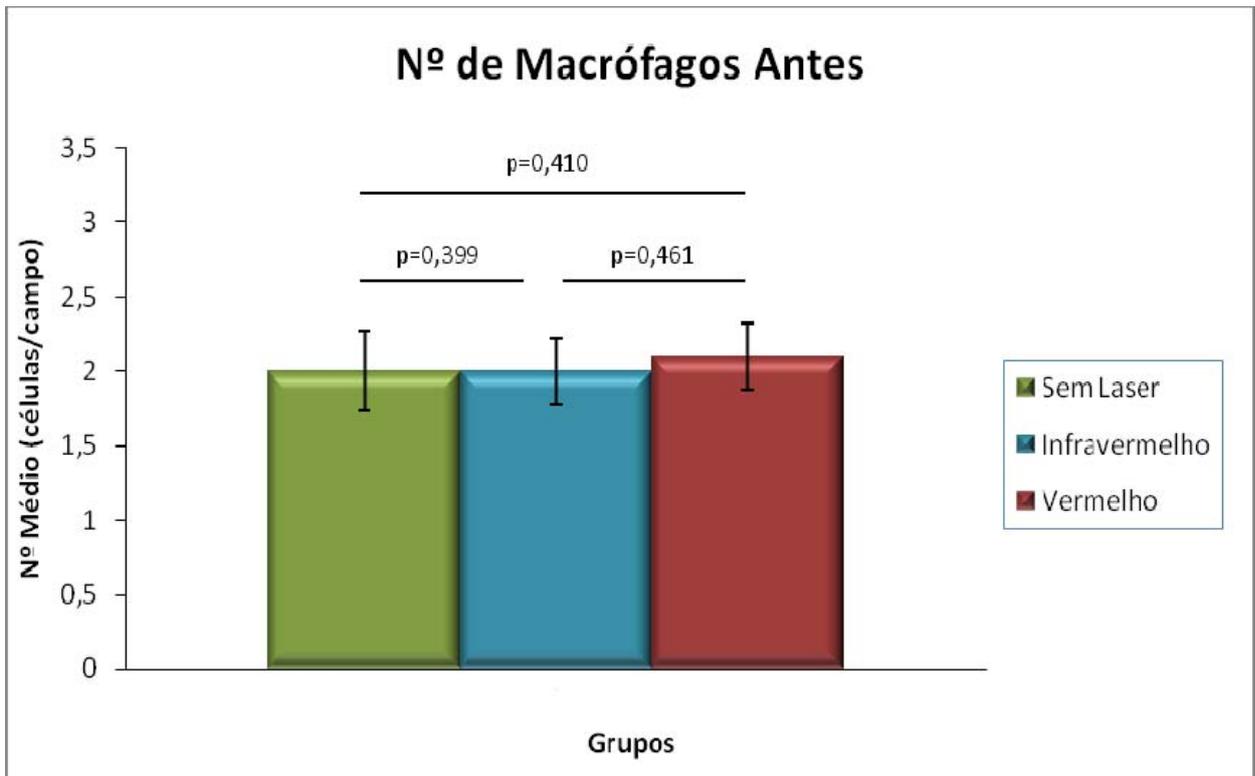


GRÁFICO 5 – Número de macrófagos antes da irradiação. As barras representam o erro padrão. Os nº de células, por campo, antes da irradiação eram iguais nos três grupos ($p > 0,05$).

De acordo com o GRA 5, quando se compara os valores dos três grupos (sem laser, infravermelho e vermelho) antes da irradiação, observamos que os três grupos são estatisticamente iguais com todos os valores de $p > 0,05$.

Neste caso pode-se relatar que foi eliminada qualquer interferência com relação à metodologia entre as áreas comparadas, demonstrando que o modo de coleta e a contagem celular não foi diferente entre as regiões gengivais e que as áreas interproximais pré selecionadas, independente do elemento dental (canino ou incisivo), não influenciaram no número médio de macrófagos por campo.

É fato que os três grupos antes da irradiação não apresentaram diferenças quanto ao número de macrófagos.

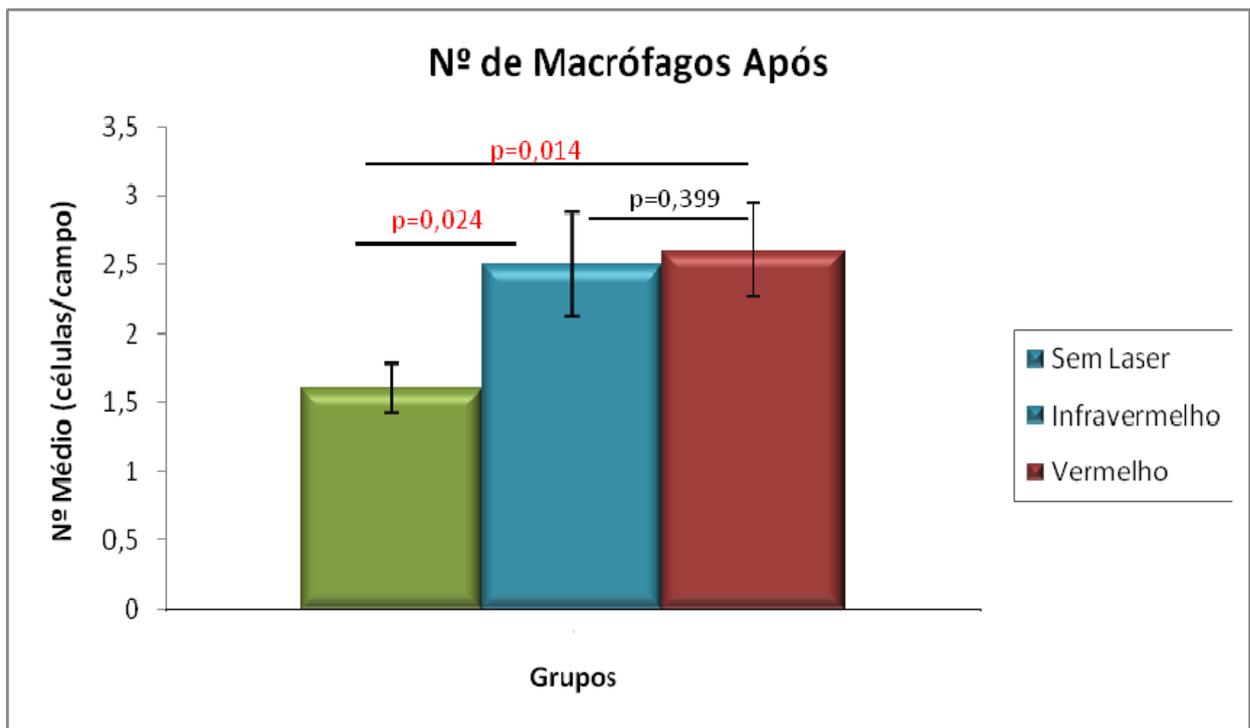


GRÁFICO 6 – Número de macrófagos após a irradiação. As barras representam o erro padrão, os valores são diferentes entre grupos ($p < 0,05$).

Comparando os valores médios de número de macrófago obtidos após a irradiação nos três grupos GRA 6, percebe-se que houve uma diferença no número de macrófagos entre o grupo sem laser em relação aos grupos que receberam a irradiação laser mostrando um aumento significativo da população celular de macrófagos (sem laser/Infravermelho $p = 0,024$ e sem laser/vermelho $p = 0,014$), pois os valores de p foram inferiores à 0,05.

No entanto, entre os grupos laser infravermelho e laser vermelho não houve diferença neste valor após a irradiação ($p = 0,399$), onde se pode concluir que os dois comprimentos de onda resultaram no mesmo aumento da população de macrófagos.

Este comportamento leva a crer que ambos os lasers infravermelho ($\lambda = 780\text{nm}$) e vermelho ($\lambda = 680\text{nm}$) aplicados sobre os tecidos gengivais, nos parâmetros utilizados no presente estudo, estimulam o aumento do número de macrófagos presentes no fluido sulcular potencializando seu poder de fagocitose no interior do sulco gengival.

5.2 Verificação das medidas volumétricas do fluido gengival

Antes da coleta e medição do fluido, não foi realizada nos voluntários nenhum tipo de profilaxia, controle de placa ou qualquer procedimento que pudesse influenciar na composição ou alteração no volume do fluido sulcular gengival.

O período de coleta foi realizado entre 9:00 horas e 17:00 horas pois sabe-se que o aumento do fluido é notado no horário de 06 horas às 22 horas, por estímulo da mastigação, massagem gengival, influência de hormônios sexuais femininos (ovulação, gravidez, contraceptivos hormonais) relacionados à progesterona e estrógeno, que aumentam a permeabilidade vascular, fumo e após terapia periodontal (processo de cicatrização). (CARRANZA Jr.e BULKAZ, 1997).

A drenagem do fluido do sulco gengival tem sido alvo de pesquisas nos mais variados aspectos. Para medir os volumes desse fluido, vários métodos e técnicas foram idealizados.

SIEGEL *et al.* (1972) desenvolveram técnica para simular, “in vitro”, a coleta de fluido gengival utilizando para isto micropipetas, papel absorvente em tiras e solução de Ninidrina. Por sua vez SUPPIPAT e SUPPIPAT (1977) procederam à avaliação eletrônica (PERIOTRON) do volume de fluido sulcular conjugada com coloração de Ninidrina das tiras de papel absorvente.

Em seguida GARNICH *et al.* (1979), SPRANGER (1980) e TSUCHIDA e HARA (1981) efetuaram estudos de avaliação sobre drenagem do fluido sulcular, eletronicamente, com o auxílio do Periotron.

O PERIOTRON (Harco eletronic, Winnipeg, Manitoba, Canadá) micro-unidade metro é um instrumento eletrônico que foi projetado para permitir maior uso de uma variedade de tiras de papel absorvente para fluido sulcular gengival (GCF), fluido da bolsa periodontal (PPF), fluxo salivar e medidas de espessura de saliva. A unidade da tira de papel afeta o fluxo de uma corrente elétrica e fornece uma leitura digital (mensurando) que pode ir de 0 a 200 (referente às medidas em frações de microlitros observados em 10 segundos).

As áreas correspondentes ao grupos sem laser, foram utilizadas com o objetivo de mostrar se somente o ato de posicionar a fita no interior do sulco (coleta), poderia alterar a composição do fluido.

Os valores das medidas volumétricas de fluido gengival coletados com papéis absorventes (Periopaper) de sulcos pertencentes às áreas gengivais, antes e após a irradiação laser, foram registradas na TAB. 5 e analisadas estatisticamente.

TABELA 5

Dados de medições volumétricas realizadas com o auxílio do Periotron nas três áreas – sem laser, Infravermelho(IV) e Vermelho(V) .

Nº	NOME	GÊNERO	IDADE	Periotron -µl SEM LASER		Periotron -µl LASER IV- λ=780nm		Periotron -µl LASER V- λ=680nm	
				Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após
1	BGN	M	29	52	50	39	51	25	61
2	GRS	M	44	31	22	26	82	26	80
3	MVLF	M	31	114	111	134	183	36	98
4	AJMV	F	25	64	62	16	48	25	41
5	DML	M	28	73	61	30	52	16	38
6	EMO	F	37	94	45	46	71	77	88
7	PDM	F	31	88	67	71	86	40	68
8	KCDF	F	28	89	85	22	32	31	54
9	ABM	F	20	61	50	27	52	40	45
10	DLS	F	36	59	22	41	68	36	90
11	LAS	M	54	123	95	150	176	55	109
12	RVSJ	M	25	62	30	40	58	55	89
13	LMTV	F	50	59	59	43	46	45	48
14	ATV	M	21	59	58	80	130	58	116
15	RVS	M	50	53	23	23	50	42	115
16	MVAA	M	38	30	20	42	49	54	58
17	EPR	M	29	58	41	72	80	72	91
18	TPFN	F	28	75	86	49	97	56	86
19	ALRB	F	24	67	74	29	46	30	36
20	KOL	F	29	52	19	33	34	18	19
21	CGA	F	44	17	13	10	15	15	25
22	BLJ	F	36	32	10	28	40	25	31
23	AFB	M	40	34	22	18	33	44	55
24	EBMF	F	23	30	35	54	74	26	32
25	EC	M	46	37	29	37	68	61	85
26	ABT	F	25	25	10	32	53	29	39
27	LLSS	M	27	66	64	76	86	47	52
28	MMML	F	59	151	70	23	38	30	35
29	FGS	F	26	75	93	28	90	68	83
30	OAA	M	36	67	25	22	26	20	54
Soma total				1897	1451	1341	2014	1202	1921
Médias (Periotron)				63,23	48,37	44,70	67,13	40,07	64,03
Desvio padrão (DP)				30,11	28,29	31,98	39,03	17,14	28,07
Erro				5,49	5,16	5,83	7,12	3,13	5,12

Os dados a respeito das medidas volumétricas de fluido gengival realizadas pelo Periotron contidos na TAB. 5 estão ilustrados no GRA 7. A coluna marrom representa as médias volumétricas nos três grupos no instante antes da irradiação e a coluna azul representa as médias volumétricas obtidas no instante após o tempo de irradiação.

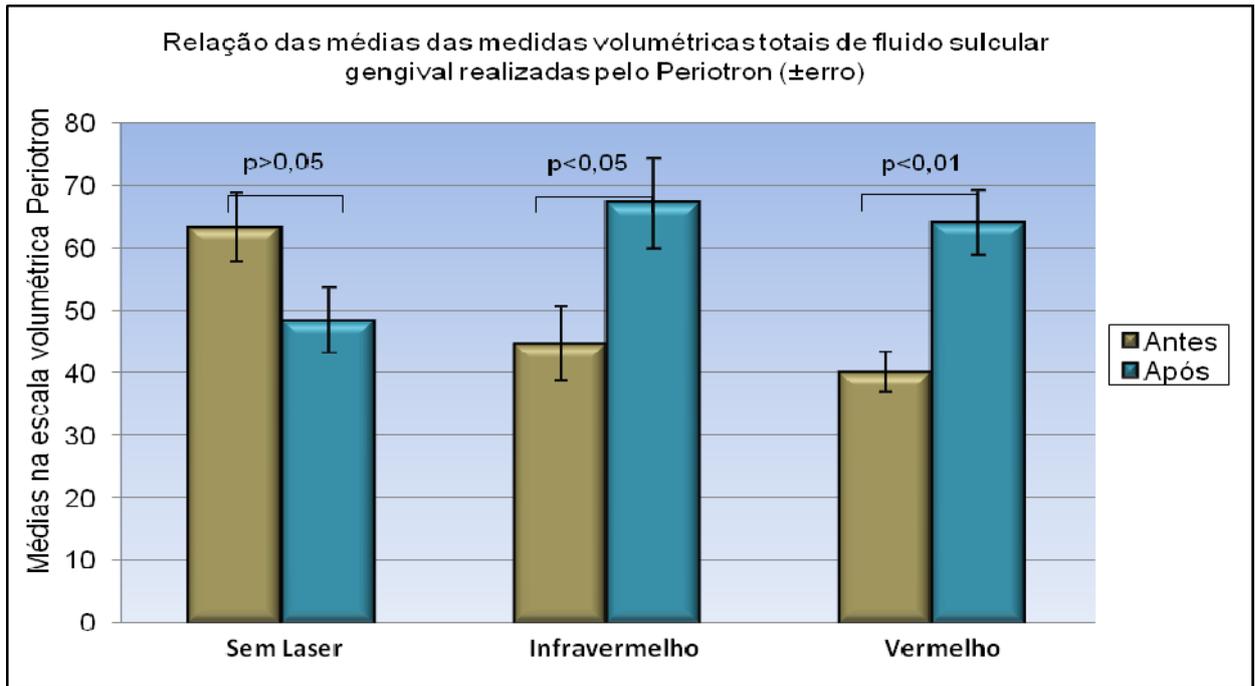


GRÁFICO 7 Relação das diferenças entre as médias das medidas totais de quantidades de fluido sulcular gengival antes e após a irradiação laser realizadas pelo Periotron nos três grupos.

Após somados os valores totais de cada área do experimento e dividirmos pelo número de voluntários, obtém-se as médias de cada grupo antes e após a irradiação. A relação das diferenças das médias volumétricas nos três grupos entre o instante antes e o instante após, está ilustrada no GRA 8.

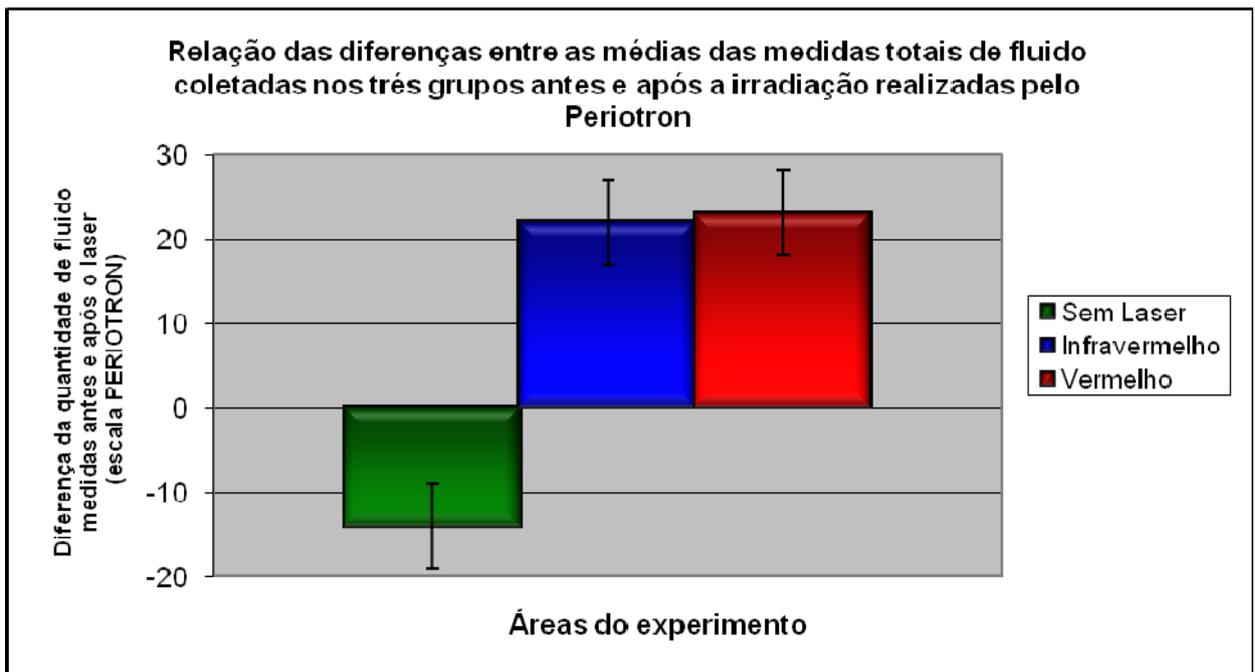


GRÁFICO 8 Relação das diferenças entre as médias das medidas de quantidades de fluido sulcular gengival antes e após a irradiação laser realizadas pelo Periotron.

Observou-se que pelas diferenças obtidas na área sem laser, o simples posicionamento do papel absorvente (Periopaper) no sulco gengival reduziu em quase 1/3 a quantidade de fluido drenado acusando uma diferença negativa representada pela coluna verde. As demais áreas laser Infravermelho (coluna Azul) e vermelho (coluna Vermelha) acusaram um aumento de mais de 50% na quantidade de fluido drenado sem mostrar entre elas uma diferença visual discrepante GRA 8.

O GRA 9 ilustra o comportamento do grupo sem laser antes e após decorrido o tempo resultando numa redução da quantidade de fluido sulcular gengival . Observando o grupo sem laser, nota-se que a coleta não interferiu nos dados do experimento ($p = 0,54$), ou seja, maior que 0,05. O fluido gengival apresentou uma média maior em volume na primeira coleta, no entanto, não houve diferenças estatísticas significativas comparando a primeira e a segunda coleta.

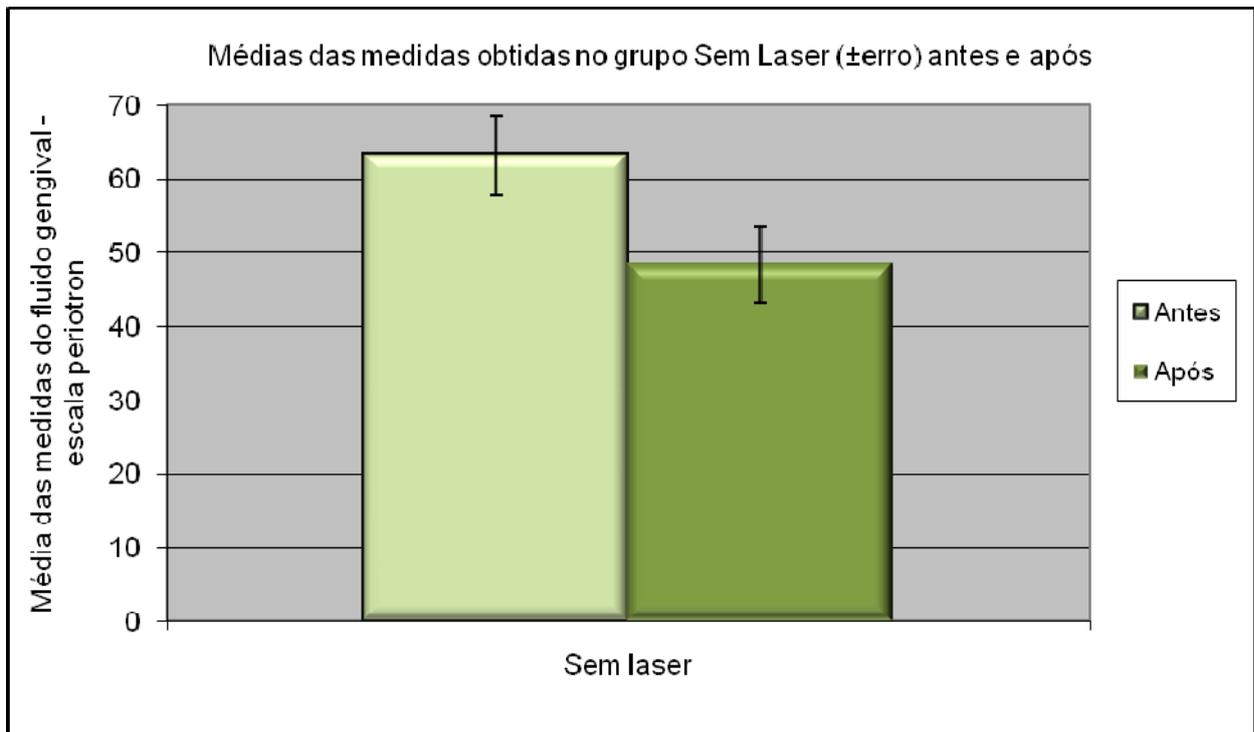


GRÁFICO 9 - Grupo sem laser. A figura ilustra as médias para o conjunto de dados apresentados, referentes à coleta de fluido gengival. Neste grupo o fluido foi colhido duas vezes, e não foi realizada nenhuma irradiação entre as duas coletas.

Após comparar a média volumétrica coletada antes e após a irradiação laser dentro do mesmo grupo (primeiro no grupo vermelho e após o grupo infravermelho) e analisar estatisticamente os dados, os valores de P foram registrados na TAB. 6. O nível de significância escolhido foi de 95% e os grupos são considerados diferentes quando $p < 0,05$.

TABELA 6
 Teste-t pareado para duas amostras

Sample	N	Média	Desvio padrão	Erro padrão	P Value
Vermelho Antes	30	40,07	17,14	3,13	1,31E-06
Vermelho Depois	30	63,37	27,79	5,07	
Infravermelho Antes	30	44,70	31,98	5,84	2,67E-08
Infravermelho Depois	30	67,13	39,03	7,13	

De acordo com a análise estatística, observa-se que realizando comparações entre os valores médios dentro de um mesmo grupo antes e depois da irradiação, no grupo laser vermelho ($\lambda = 680 \text{ nm}$), ocorreu um aumento de volume de fluido estatisticamente significativo ($p = 1,3 \times 10^{-6}$) e no grupo laser infravermelho ($\lambda = 780 \text{ nm}$), também ocorreu um aumento de volume estatisticamente significativo ($p = 2,7 \times 10^{-8}$) ambas registradas logo após a aplicação.

Estas variações que ocorreram nos grupos laser infravermelho ($\lambda = 780 \text{ nm}$) e vermelho ($\lambda = 680 \text{ nm}$) antes e após a irradiação com seus respectivos valores de P estão ilustradas abaixo no GRA 10.

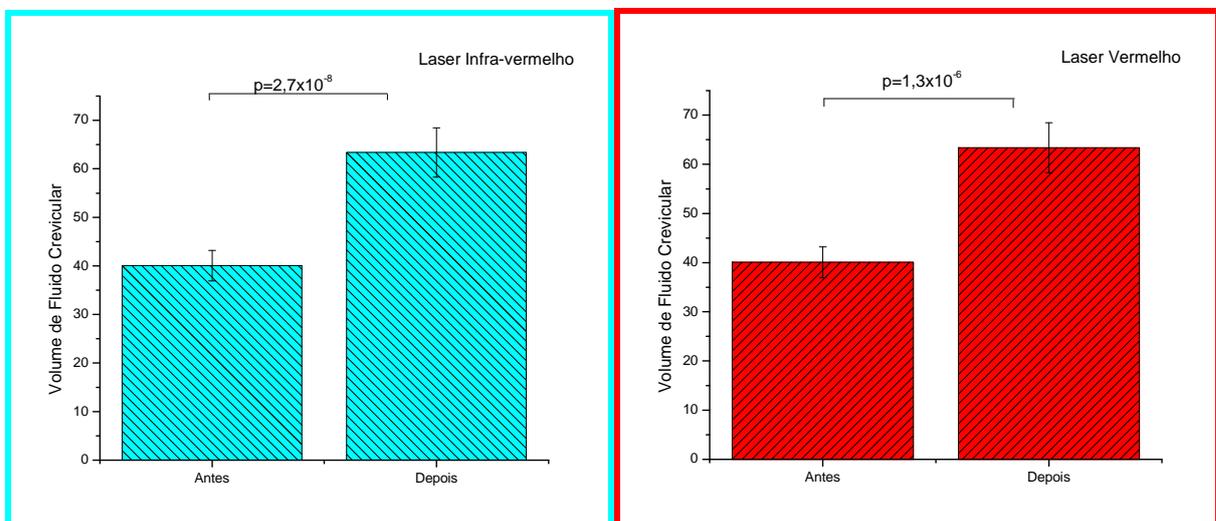


GRÁFICO 10 – Medidas do volume do fluido sulcular gengival antes e após aplicação do laser no grupo infravermelho e no grupo vermelho contendo a significância estatística.

Após comparar as médias volumétricas coletadas antes e após a irradiação em grupos diferentes (vermelho e infravermelho) e analisar estatisticamente os dados, os valores de p estão registrados na TAB.7. O nível de significância escolhido foi de 95% e os grupos são considerados diferentes quando $p < 0,05$.

TABELA 7

Teste-*t* não pareadas para duas amostras

Sample	N	Média	Desvio padrão	Erro padrão	P Value
Vermelho Antes	30	40,07	17,14	3,13	
Infravermelho Antes	30	44,70	31,98	5,84	0,5
Vermelho Depois	30	63,37	27,79	5,07	
Infravermelho Depois	30	67,13	39,03	7,13	0,7

De acordo com a análise estatística, observa-se que nas comparações realizadas entre os grupos laser vermelho e infravermelho antes da irradiação ($p = 0,5$), como também nas comparações realizadas entre os grupos laser vermelho e infravermelho após a irradiação, ($p = 0,7$), não houve diferença entre as médias dos valores volumétricos registrados;

Isto leva a concluir que ambos os grupos laser se comportaram da mesma forma estimulando um aumento do fluido sulcular gengival na mesma proporção.

No GRA 11 estão expressos as colunas comparativas dos valores médios das medições de volume de fluido sulcular gengival entre os dois grupos laser, antes e após o tempo de irradiação, constando os valores de p para as relações de significância estatística.

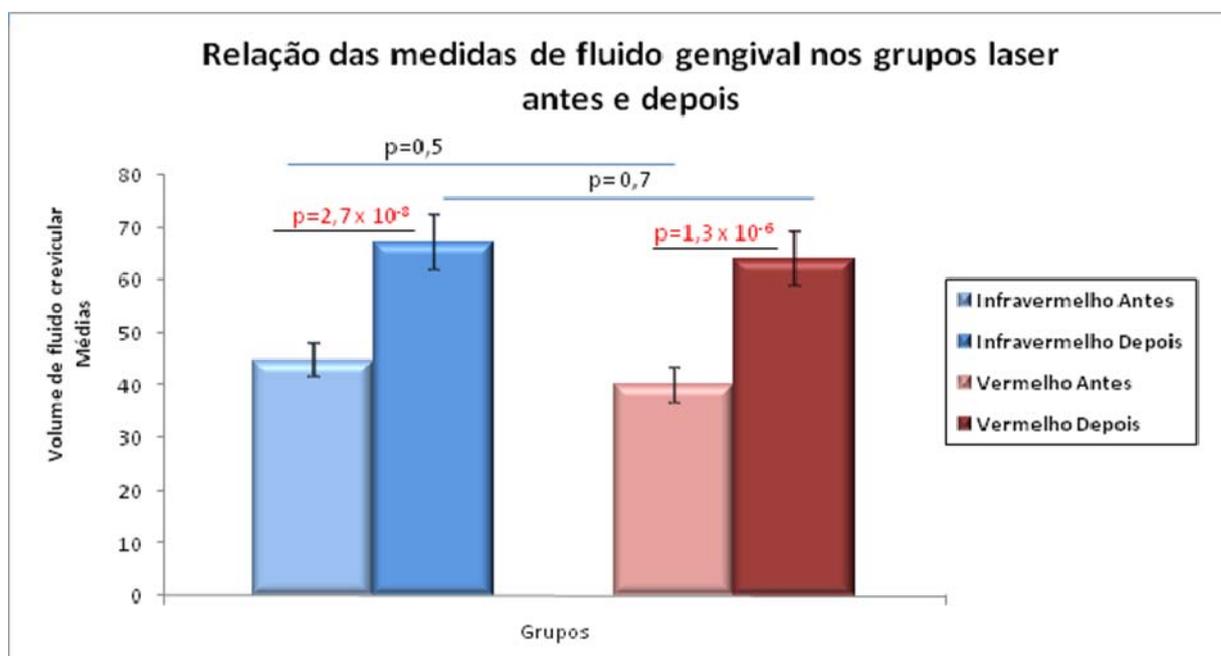


GRÁFICO 11 - Relação de todas as medidas de volume do fluido realizadas pelo Periotron com sua significância estatística.

Para análise da variância foi utilizado o teste ANOVA.

A variância das populações não é significativamente diferente ao nível de 0,05.

No GRA 11 são representadas as médias dos volumes de fluido sulcular mensurados nos diversos grupos e as barras representam o erro padrão. Podemos observar que os valores para ambos os grupos antes do laser ($p = 0,5$) e após o laser ($p = 0,7$) são considerados estatisticamente iguais. Ambos os grupos apresentaram um aumento significativo do fluido gengival, quando analisados individualmente nos instantes antes e após, pois tanto no grupo infravermelho quanto no vermelho os valores de p foram menores que 0,05.

O nível de significância escolhido foi de 95% e os grupos são considerados diferentes quando $p < 0,05$, (AMORIM *et al.*2006).

Entre as amostras do mesmo grupo antes e depois foi utilizado o teste- t pareado.

Entre as amostras de grupos diferentes entre áreas vermelho antes e infravermelho antes, e para vermelho depois e infravermelho depois, foi utilizado o teste- t não pareado.

De acordo com a análise estatística podemos concluir que: entre os três grupos antes da aplicação do laser, as medidas dos volumes não apresentaram diferenças; o laser de emissão infravermelha ($\lambda = 780$ nm), durante 2 minutos e meio, com potência de 40 mW e, portanto dose de $150\text{J}/\text{cm}^2$ aplicado sobre tecidos gengivais estimula o aumento de volume de fluido sulcular gengival na mesma proporção que o laser de emissão vermelha ($\lambda = 680$ nm), utilizando o mesmo protocolo.

Esses achados vão de encontro aos trabalhos de SILVEIRA e SILVEIRA (1992) que comprovaram o aumento na quantidade de fluido drenado do sulco gengival, em gengivas humanas clinicamente normais, após aplicação laser de AsGa ($\lambda = 904$ nm) e SILVEIRA *et al*, também em (1992) que verificaram a ativação da drenagem do exsudato de bolsas periodontais após aplicação de laser de AsGa ($\lambda = 904$ nm) também em gengivas humanas, comprovando a importância do mesmo na indução do aumento da circulação sanguínea na área onde ocorreu a aplicação, promovendo uma diminuição de agentes nocivos aos tecidos periodontais e renovando a celularidade, imunoglobulinas e sistema de complemento reforçando a defesa orgânica local.

No caso específico do sulco gengival a irradiação pelo laser de baixa intensidade pode torna-se uma técnica auxiliar para promover, quando necessário, a limpeza do mesmo e conseqüentemente, renovar de maneira prática todos os elementos nutritivos e imunológicos da área melhorando o estado de saúde periodontal. (SILVEIRA e SILVEIRA,1992).

Desse modo, pode-se dizer que os dois comprimentos de onda lasers de emissão infravermelha ($\lambda = 780$ nm) e vermelha ($\lambda = 680$ nm), foram capazes de aumentar a quantidade da drenagem de fluido sulcular gengival e baseado nos conhecimentos anteriores de que o fluido possa: lavar o

sulco de substâncias, conter proteínas plasmáticas que podem melhorar a adesividade do epitélio ao dente, possuir propriedades antimicrobianas e iniciar a atividade dos anticorpos na defesa da gengiva, é oportuno levar em consideração que este fato pode ser benéfico para o restabelecimento do equilíbrio e da normalidade gengival.

5.3 Termografia no tecido gengival

Na terceira etapa, após capturadas as imagens pela termocâmara da região anterior da cavidade oral incluindo as três áreas superiores (maxila) da pesquisa (sem laser, infravermelho e vermelho) antes e logo após a irradiação laser e interpretadas pelo programa de computador Therma-Cam Reporte, os dados sobre variação de temperatura estão registrados na TAB 8.

TABELA 8

Dados de medições de temperatura em °C realizadas com auxílio de uma termocâmara.

Nº	NOME	SEXO	IDADE	Temperatura °C SEM LASER (P ₁)		Temperatura °C LASER IV- λ=780nm (P ₂)		Temperatura °C LASER V- λ=680nm (P ₃)	
				Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após
1	LBS	M	40	33,7	34,5	33,4	34,9	33,6	35,0
2	GRS	M	44	34,1	34,1	33,6	34,4	34,1	33,7
3	MVLF	M	32	33,4	33,5	33,6	33,8	33,5	34,3
4	BPMC	M	22	33,5	33,5	33,0	33,2	34,3	34,2
5	BGN	M	30	33,9	34,8	32,6	34,0	32,6	34,5
6	MVAA	M	39	33,6	33,3	33,2	33,5	32,6	33,1
7	FRFR	M	23	32,1	32,8	32,1	32,2	32,4	32,7
8	DML	M	28	33,0	33,8	33,1	34,2	32,8	34,5
Soma				267,3	270,3	263,6	270,2	265,9	272
Médias				33,41	33,79	32,95	33,78	33,24	34
Desvio Padrão				0,62	0,66	0,62	0,83	0,73	0,78
Erro				0,22	0,23	0,22	0,29	0,26	0,27
diferença				0,38		0,83		0,76	

Na TAB 8 pode-se observar que na área sem laser (P₁) a média das medidas de temperaturas da superfície gengival ficou em 33,41° C e com o afastamento gengival e o aguardo do tempo de aplicação, sem receber nenhuma irradiação, a temperatura elevou para 33,79° C ou seja, houve um aumento de 0,38° C.

No grupo que recebeu o laser infravermelho (P₂) a média das medidas de temperaturas da superfície gengival antes da aplicação ficou em 32,95° C e após a aplicação, a temperatura elevou para 33,78° C ou seja, houve um aumento de 0,83° C.

No grupo que recebeu o laser vermelho (P_3) a média das medidas de temperaturas da superfície gengival antes da aplicação ficou em $33,24^\circ\text{C}$ e após a aplicação, a temperatura elevou para 34°C ou seja, houve um aumento de $0,76^\circ\text{C}$.

Estes dados da TAB 8 referentes aos valores das médias nas áreas (P_1) (P_2) (P_3) antes e após o tempo de irradiação com desvio padrão e erro estão ilustrados nos GRA 12 e 13, como também a variação das médias ocorridas em cada grupo isolado representadas no GRA 14.

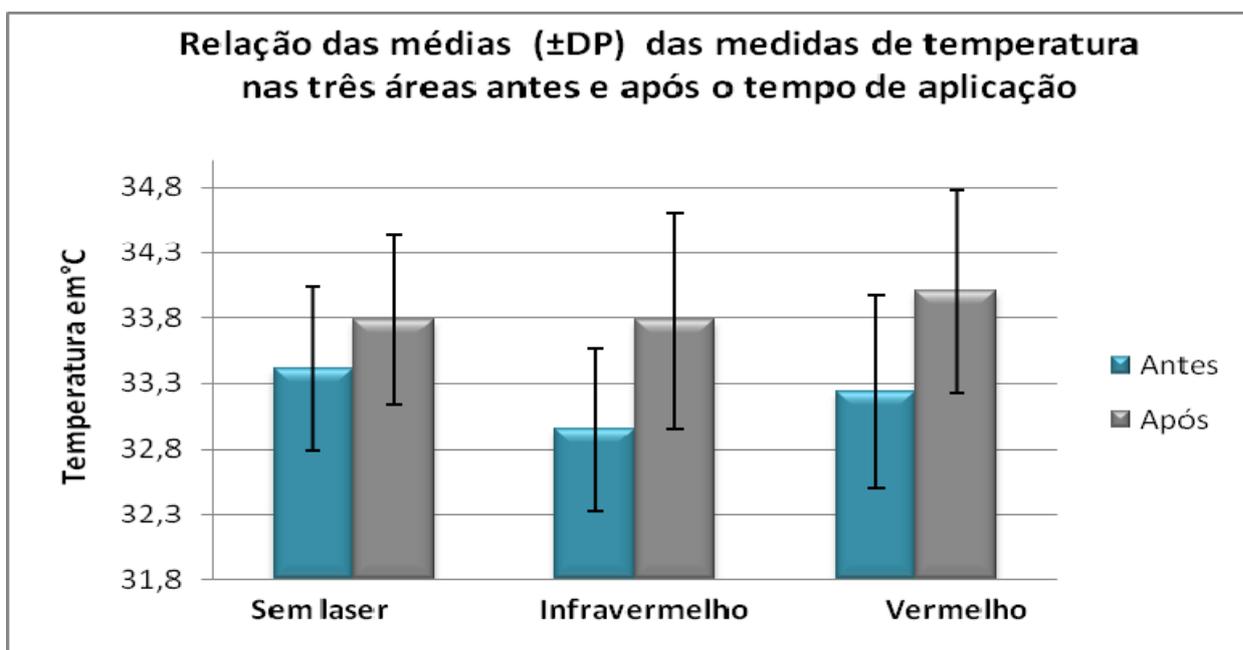


GRÁFICO 12 - Relação de todas as médias das medidas de temperatura nas três áreas (sem laser, infravermelho e vermelho) antes e após o tempo de aplicação laser constando **desvio padrão**.

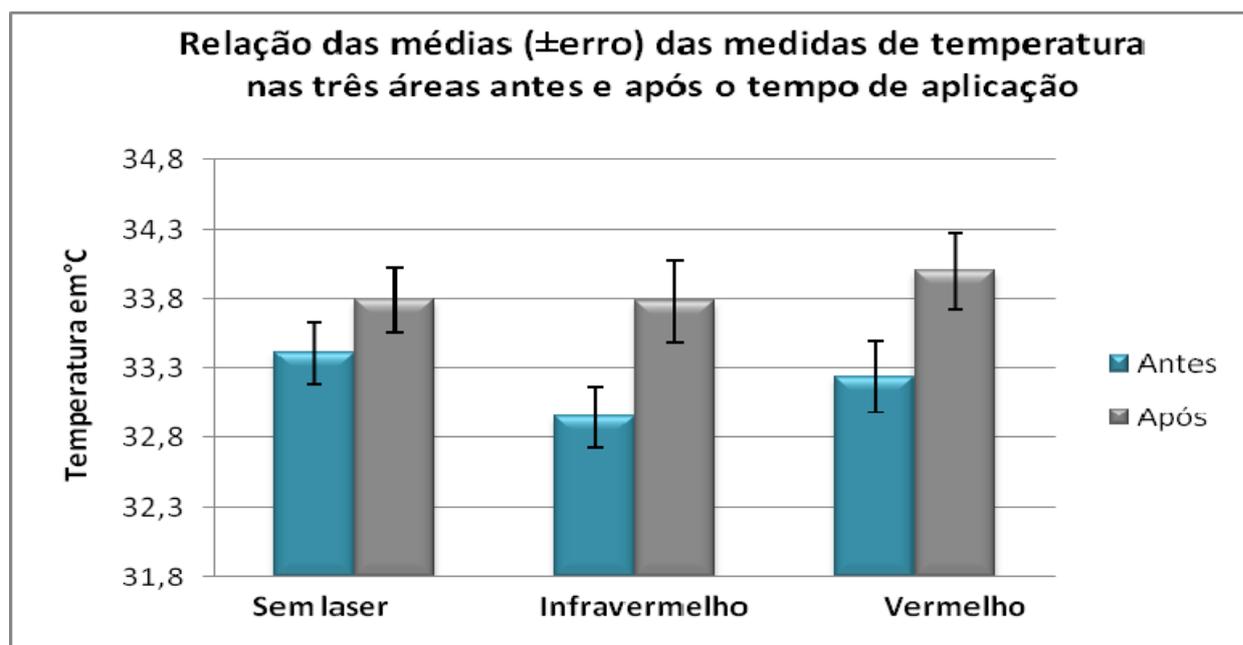


GRÁFICO 13 - Relação de todas as médias das medidas de temperatura nas três áreas (sem laser, infravermelho e vermelho) antes e após o tempo de aplicação laser constando **erro**.

O GRA 14 ilustra as variações de temperaturas ocorridas em cada grupo nos momentos antes e após o tempo de irradiação, contidas na TAB 8 e pode-se perceber que nos três grupos houve um aumento de temperatura que não passou e 1°C e nos grupos laser (Colunas azul e vermelha) houve um aumento de temperatura sempre maior que no grupo sem laser (coluna verde).

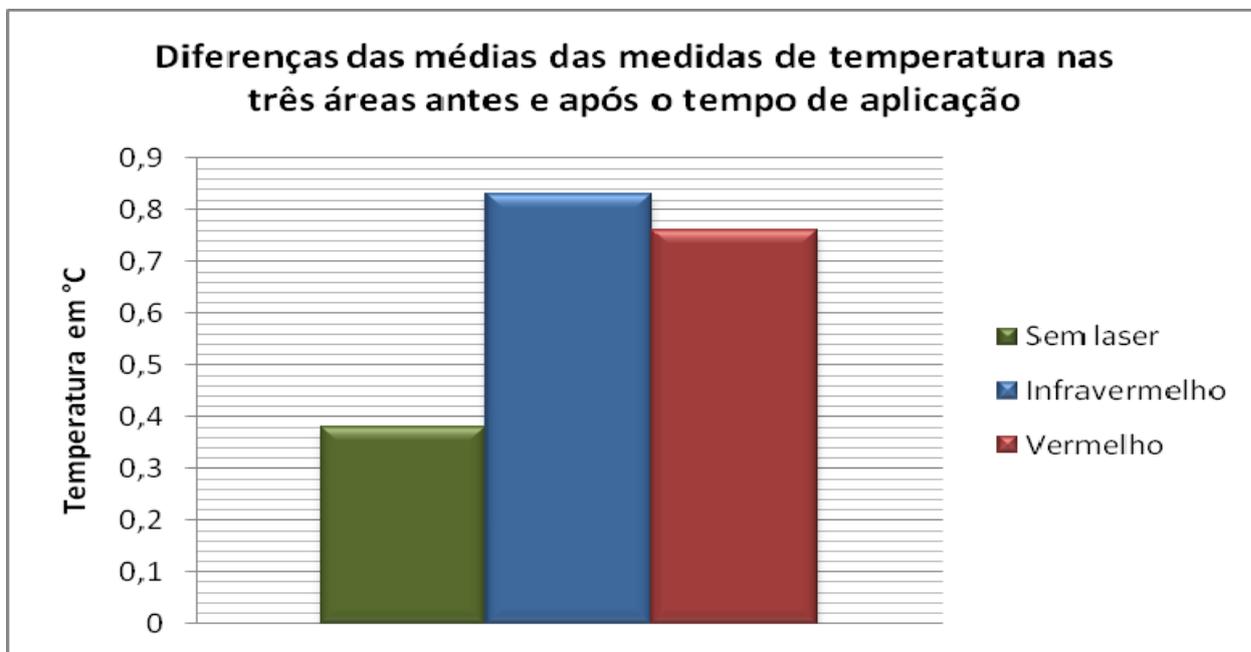


GRÁFICO 14 – Diferenças das médias das medidas de temperatura nas três áreas individuais (Sem Laser, Infravermelho e vermelho) antes e após o tempo da aplicação laser.

A seguir os dados da TAB 9 representam às variações das diferenças médias de medidas de temperatura entre os diferentes grupos estudados.

TABELA 9

Variação das diferenças das médias das medições de temperatura em $^{\circ}\text{C}$ realizadas antes e após a irradiação entre os três grupos.

Grupos (diferença média $^{\circ}\text{C}$)	Sem Laser ($0,38^{\circ}\text{C}$)	Infravermelho ($0,83^{\circ}\text{C}$)
Infravermelho ($0,83^{\circ}\text{C}$)	($0,45^{\circ}\text{C}$)	
Vermelho ($0,76^{\circ}\text{C}$)	($0,38^{\circ}\text{C}$)	($0,07^{\circ}\text{C}$)

Este cálculo serve para eliminar qualquer interferência do procedimento na medição uma vez que a intenção é eliminar a diferença de medida de temperatura ocorrida no grupo sem laser .

No GRA 15 estão ilustrados os dados da TAB 9 referentes às variações das diferenças de medidas de temperatura entre os diferentes grupos.

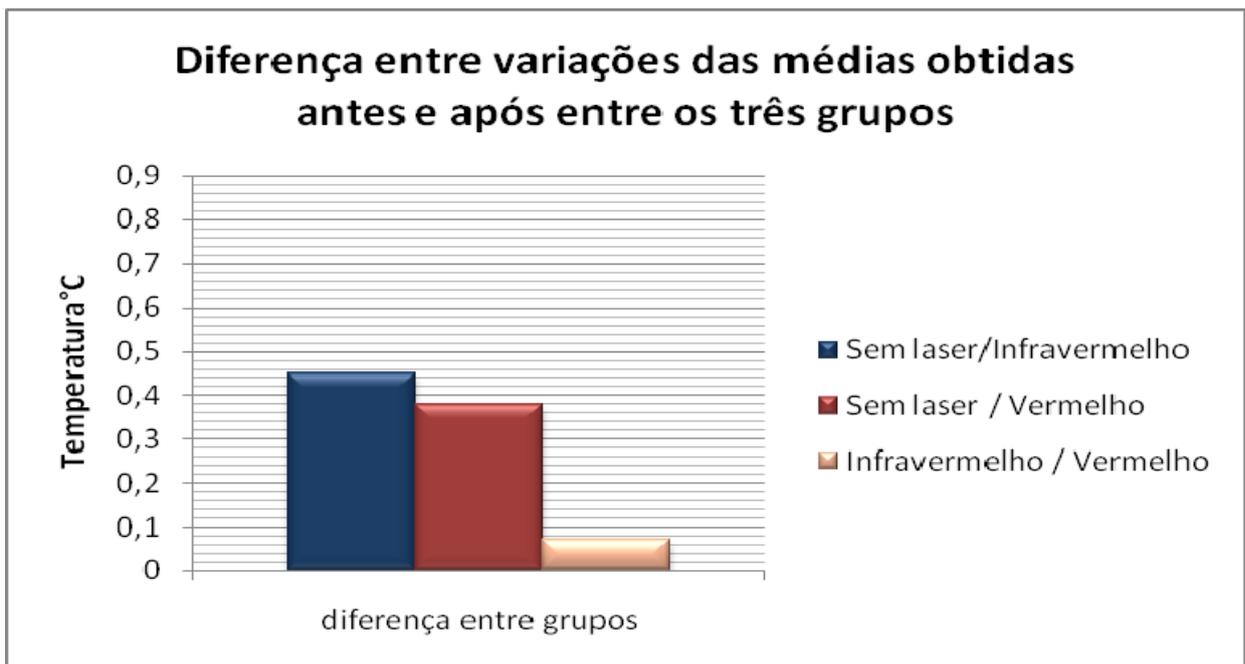


GRÁFICO 15 – Diferença entre as variações das médias de temperatura obtidas antes e após o tempo de aplicação, entre os três grupos.

Baseados nesses dados pode-se observar que a variação de temperatura promovida pela aplicação do laser em baixa intensidade não ultrapassa a 0,45 °C e que nas áreas submetidas a irradiação laser com os dois tipos de comprimento de onda usados 780nm infravermelho e 660nm vermelho, a variação de temperatura foi similar.

Vale a pena lembrar que como citado anteriormente, o calor irradiado pelo corpo humano, quando observado externamente, será sempre uma somatória dos efeitos vasculares (microcirculação sanguínea), neurológicos e metabólicos (oxidação de glicogênio) e dependendo de cada situação o profissional poderá analisar a possível causa do aquecimento ou resfriamento de uma determinada área da pele ou tecido. Portanto a variação de temperatura do tecido gengival pode ser resultante do estímulo da microcirculação, tecidual ocasionando um maior aporte sanguíneo da área.

Para finalizar, nas comparações entre variações de volume e presença celular, os lasers de baixa intensidade de emissão infravermelha ($\lambda = 780 \text{ nm}$) e vermelha ($\lambda = 680 \text{ nm}$), nas condições do presente estudo, promoveram o aumento de volume do fluido sulcular gengival drenado como também o aumento do número de macrófagos presentes em sua composição, mas na análise de neutrófilos, somente o laser vermelho ($\lambda = 680 \text{ nm}$) promoveu uma redução significativa no número de células presentes em sua composição; Os testes de variação de temperatura indicaram

que aplicação do laser de baixa intensidade sobre os tecidos gengivais ocasionou uma mudança média menor que 0,5° C não ocasionando dano térmico e não houve diferença entres os tipos de laser utilizados.

O QUADRO n° 3 representa um resumo do comportamento de todo o experimento realizado e relatado acima.

QUADRO 3 – Ilustração do resumo total do experimento

Comprimento de onda	Composição celular		Volume de fluido drenado	Temperatura Tecidual ° C
	N° de Neutrófilos 	N° de Macrófagos 		
$\lambda = 780\text{nm}$ - Infravermelho	–	↑	↑	0,45
$\lambda = 680\text{nm}$ - vermelho	↓	↑	↑	0,38
				

6 CONCLUSÕES

Nas condições do presente estudo podemos concluir que :

1) A aplicação do laser de baixa intensidade de emissão vermelha ($\lambda = 680$ nm), durante 2 minutos e meio, com potência de 40 mW e portanto Dose de $150\text{J}/\text{cm}^2$, sobre os tecidos gengivais promoveu uma redução significativa do número de neutrófilos presente no fluido sulcular gengival;

2) A aplicação dos lasers de baixa intensidade sobre os tecidos gengivais com diferentes comprimentos de onda, emissão infravermelha ($\lambda = 780$ nm) e vermelha ($\lambda = 680$ nm), promoveram aumento significativo do número de macrófagos presentes no fluido sulcular gengival estatisticamente igual;

3) Ambos os lasers de diferentes comprimentos de onda de emissão infravermelha ($\lambda = 780$ nm) e vermelha ($\lambda = 680$ nm) irradiados sobre os tecidos gengivais, promoveram um aumento similar do volume drenado do fluido sulcular gengival;

4) Os testes de variação de temperatura indicaram que aplicação do laser de baixa intensidade sobre os tecidos gengivais ocasionaram um aumento médio de temperatura menor que $0,5^\circ\text{C}$, não ocasionando dano térmico;

7 PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Linha de pesquisa para prosseguimento

- 1) Repetir o experimento com somente um comprimento de onda, mas variando a potência e o tempo com o objetivo de verificar se a dose interfere no resultado;
- 2) Investigação do laser atuando coadjuvamente como estimulante de produção de fluido sulcular gengival, proporcionando um aumento da concentração de medicação sistêmica (metronidazol ou tetraciclina) presentes no interior do sulco gengival, utilizada no tratamento periodontal;
- 3) Utilização da termografia como possível colaborador no diagnóstico de maneira não invasiva para identificar através de mudança de temperatura áreas com maior atividade inflamatória e relacioná-las com medições de profundidade de bolsas e presença de doença periodontal.

ABSTRACT

In periodontology the gingival tissue, peripheral blood flow and crevicular gingival fluid (which normally comes out of the gingival socket) are the most important immune barriers acting as defense mechanisms at the front door for periodontal disease. The purpose of this study is to present a non invasive and safe activation of the immune system during the beginning process of periodontal disease associated to dental plaque, by stimulating the gingival tissue through low intensity laser at two different waves lengths and observing the changes in the gingival crevicular fluid drained from normal gingival tissues. Thirty volunteers were selected for this study, with ages between 18 and 60 years old, with clinically normal dental and periodontal structures. Six frontal interdental gingival areas were selected from each patient being 3 areas at the jawbone and 3 areas at the mandible. At the jawbone, one area did not receive any kind of radiation, one area was submitted to low intensity laser irradiation of $\lambda = 780$ nm and one area submitted to laser irradiation of $\lambda = 680$ nm. The same procedure was repeated for the mandible. The protocol used 40mW of power (spot area of $0,04 \text{ cm}^2$) for the different types of laser, with irradiation time of two and a half minutes resulting on a dose of 150 J/cm^2 . The changes of the gingival tissues after the laser irradiation with 2 different wave lengths where observed and analyzed: the cellular components of the gingival crevicular fluid (neutrophils and macrophages) the volume change of the fluid measured by Periotron and temperature variations (due to the increase of the blood flow) registered by a thermocamera. Based on the results we can conclude that: about variations of volume and cellular presence, the lasers of low intensity emission infrared ($\lambda = 780$ nm) and red ($\lambda = 680$ nm), at the conditions of the present study, promoted an increase of the drained gingival crevicular fluid and an increase of number of macrophages present in its composition, but only the red laser promoted a decrease of the neutrophils present in its composition. The temperature variation tests indicated that the use of the low intensity laser on the gingival tissues caused an average change of only $0,5^\circ \text{ C}$, not causing thermal damage.

Key words: Low Level Laser intensity, gingival crevicular fluid, macrophages, neutrophils, Periotron, thermography.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ACANFORA, M.A., GRASCHINSKY, C., OSTOICH,C., SCARANO, J. **Laserterapia en ortopedia y traumatologia**.In: Congreso Argentino de ortopedia e traumatología, 23 ,1986, Buenos Aires. Temas livres seleccionados. Buenos Aires: asociación Argentina de ortopedia y traumatologia , 1986.8p.
- 2 ACANFORA,M.A.,GRASCHINSKY,C.,OSTOICH,C.,SCARANO,J. Laser clinico en ortopedia y traumatologia. **Rev. Laser en Med y Odont**, set/dic.1988, v.1,n.1,p.2-6.
- 3 ALMEIDA-LOPES, L..**Análise in vitro da proliferação celular de fibroblastos de gengiva humana tratados com laser de baixa potência**.(Dissertação para obtenção para o titulo de mestre em ciências) São José dos Campos SP Brasil 1999.116p
- 4 ALMEIDA-LOPES, L. e PINHEIRO, A.L Aplicações clínicas do laser não Cirúrgico In: BRUGNERA A.AJR.; PINHEIRO,AL.**Lasers Na Odontologia Moderna** , São Paulo: Pancast,1998 356p.
- 5 AMORIM, J. C. F.; SOUSA, G. R; SILVEIRA, L. B; PRATES, R. A ; PINOTTI, M.; RIBEIRO, M.S; Clinical Study of the gingiva Healing after gingivectomy and Low-Level Laser Therapy. **Photomedicine & Laser Surgery**, 2006, v.24,p.588-594.
- 6 ARAS, H.; ÇAGLAYAN, F; GUNCU, G. N.; BERBEROGLU, A.; KILINÇ, K. Effect of systemically administered Naproxen Sodium on Clinical Parameters and Myeloperoxidase and elastase – Like activity Levels in gingival sulcular Fluid. **J Periodontol**, 2007 ,78: 868-873. 2007
- 7 AZZIMONTI RENZO, J. C. **Bioestatística aplicada a bioquímica y farmácia**: Arroi_pss° ciudad.com.ar.

- 8 BRILL, N., KRASSE, B. The passage of tissue fluid into the clinically healthy gingival pocket. **Acta Odontol. Scand.**, 1958, v.16,. p. 233-245.
- 9 BRILL, N., KRASSE, B. Effect of mechanical stimulation on flow of tissue fluid through gingival ' pocket epithelium. **Acta. Odontol. Scand.** 1959, v.17 , p.11 5-130.
- 10 BISSON-BOUTELLIEZ, C .;MILLER, N.; DEMARCH, D.; BENE, M. C. CD9 and HLA-DR expression by sulcular epithelial cells and polymorphonuclear neutrophils in periodontal disease. **J Clin Periodontol** 2001;28:650-656
- 11 BOULNOIS, J. L.Física do laser. In MAILLET,H. **O laser: princípios e técnicas de aplicação.**São Paulo. Manole, 1987, 538 p.
- 12 BRUGNERA JUNIOR, A.; SANTOS A. E. C. G.; BOLOGNA, E. D. LADALARDO, T. C. C. G. P. **Atlas de laserterapia aplicada a clínica Odontológica.** livraria Santos editora 2003, 120p.
- 13 BENEDICENTI, A. **Manuale di laser terapia del cavo orale** .Castello: Maggioli, 1982. 157p.
- 14 BUCHMANN, J. H.& SARKIS, J. E. S. O conceito de incerteza aplicado aos processos de medição associados à preparação de uma solução de referência para calibração. **Quim.Nova** IPEN São Paulo SP.Vol25, Nº1, 111-116, 2002
- 15 BUTLER, J. K. **Semiconductor injection lasers.** New York: IEEE Press, 1980.395p
- 16 CARRANZA,Jr. F. A e BULKAZ, A Gengiva. In: CARRANZA Jr.F.A.& NEWMAN, M. G. **Periodontia clínica**,Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A. ,1997 cap.1 832p

- 17 CARVALHO, J. M. C.; TODESCAN, L. H.; UNTERKIRCHER, C. S. Fluido gengival e doença periodontal. **Ars Cvrandi em odontologia**. Jun.1980,V.3, N6, 102-109 p.
- 18 CECCHINI, S. C. M. Estudo in vitro das aplicações do laser de Hólmio:YLF em esmalte e dentina, visando a realização de cirurgia de acesso endodôntico e preparo cavitário.**Dissertação (Mestrado)** – Universidade de São Paulo, São Paulo 1995.
- 19 CHIOCA, L. R; CHAIM, O. M; VEIGA, S. S; PILLATI, G. L.SANTOS, A. S. Análise do volume e de glicoproteínas presentes no fluido gengival como um indicador de inflamação gengival. **Periodontia** Setembro 2005,Vol 15,nº3, 59- 65 p.
- 20 CIMASONI, G. Sulcular fluid update 2^a ed – **Monographs in Oral science** – Basel , New York, Karger , 1983
- 21 CORTEZ, M. F & ANDRADE, R. M – **Prática científica na engenharia: Método científico na análise de sistemas técnicos** - departamento de engenharia mecânica da UFMG 2002.
- 22 CORTIZO, E. C. **Avaliação da técnica de termografia infravermelha para identificação de estruturas ocultas e diagnóstico de anomalias em edificações: ênfase em edificações do patrimônio histórico**. Belo Horizonte; 2007. Tese: Apresentada ao programa de pós graduação em Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Minas Gerais. para obtenção do Título de Doutor em Engenharia Mecânica 2007, 175pag.
- 23 CRUANES, J. C. **La terapia láser , hoy**. Barcelona:Centro de Documentación Laser de Meditec S.A, 1984. 164p.1^a ed.Barcelona.
- 24 DYSON, M. Cellular and subcellular aspects of Low level laser therapy. In OHSHIRO, T.; CALDERHEAD, R. D. **Progress in laser therapy**. J Wiley & Sons.1991 . p 221.

25 EL-SAYED, S. O.; DYSON, M. Comparison of the effect of multiwavelength light produced by a cluster of semiconductor diodes and each individual diode on mast cell number and degranulation in intact and injured skin. **Lasers Surg Med.** 1990; 10: 559-568.

26 EL-SAYED, S. O.; DYSON, M. Effect of laser pulse repetition rate and pulse duration on mast cell number and degranulation. **Lasers Surg Med.** 1996; 19(4): 433-437

27 EMBERY, G.; WADDINGTON, R. Gingival sulcular Fluid: Biomarkers of Periodontal tissue activity. **Adv Dent Res.** July, 1994, 8 (2):329-336

28 EMINGIL, G.; TERVAHARTIALA, T.; MANTYLÄ, P.; MAATTA, M. SORSA, T. Gingival Sulcular fluid matrix metalloproteinase(MMP)-7, Extracellular MMP inducer, and tissue inhibitor of MMP-1 Levels in Periodontal disease. **J Periodontal** 2006; 77: 2040-2050.

29 FANTONE, J. C. & WARD, P. A.; Inflamação. In RUBIN, E.& FARBER, J. L. **Patologia**. Philadelphia, Pennsylvania. Rio de Janeiro:interlivros, 1990 1381p.

30 GARNICK, J. J., PEARSON, R., HARREL, D. The evaluation of periotron. **J.Periodontology**, Aug.1979, V.50, n8, p 424-426.

31 GARROCHO, A. A. ; LOPES, E. E..Estudo histopatológico da parede não mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea.Belo Horizonte, **Arq. Cent. Estud.** 1990:27(1/2):27-38.

32 GENOVESE, W. J. **Laser de Baixa intensidade – Aplicações terapêuticas em odontologia**. São Paulo: Lovise,2000. 170p.

33 GENOVESE, W. J. **Laser de Baixa intensidade – Aplicações terapêuticas em odontologia**. São Paulo: Santos,2007. 130p.

34 GLICKMAN, I. **Periodontia clínica de Glickman**. Cap14. a Bolsa periodontal . Rio de Janeiro: Editora interamericana Ltda. 1983 967p.

35 GOLDMAN, L. **The biomedical laser: technology and clinical applications**. New York: Springer Verlag, 1981. 342p.

36 GOLDMAN, L. Historia do laser em medicina.In PIMENTA,L.H.M. **Laser em medicina e biologia** São Paulo: Roca, 1990 v.1.85p;

37 GONÇALVES JR., A. **Metrologia**. Laboratório de metrologia e Automatização - departamento de engenharia mecânica da UFMG 2002;

38 GRIFFITHS, G. S. Formation, Collection and significance of crevice fluid. **Periodontol** **2000**, 2003; 31:32-42 . 2003;

39 HATIPOGLU, H; YAMALIK. N.; BERBEROGLU, A.; ERATALAY, K. Impact of the distinct sampling area on volumetric features of gingival sulcular fluid. **J Periodontol** 2007; 78:705-715;

40 HECHT, R.; **The laser guidebook**.New York: MacGraw-Hill,1986.380p.

41HERRERO, C. **La pratica aplicada en la terapeutica Laser**. Barcelona Centro de documentacion Laser, 1986.

42 HOLST, G. C. Common Sense approach to thermal imaging. **Winter Park (FL): JCD Publishing**, 2000. 377p.

43 ITOIZ,M.E. & CARRANZA,Jr.F. A.A Gengiva. In: CARRANZA Jr.F.A.& NEWMAN,M.G. **Periodontia clínica**,Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A. ,1997 cap.1 832p.

44 INCROPERA; F. P.& DEWITT; P. D. Cap 12: Radiação – processos e propriedades In: **Fundamentos de transferência de calor e de massa** 2003, 495-558p.

45 JOHANNSEN, A.; RYLANDER, G.; SODER, B.; ASBERG, M.. Dental plaque, gingival inflammation, and elevated levels of interleukin-6 and cortisol in gingival sulcular fluid from women with stress-related depression and exhaustion. **J Periodontol** 2006; 77: 1403-1409.

46 KARASU, H. A.; BRADLEY, P. F. The evolution of a method of investigating the vascular effects of Low Intensity Laser Therapy. **6th International congress on lasers in dentistry**, 1998.p166 – 168.

47 KARU, T. Photobiology of Low-Power Laser effects. **Health Physics** Vol.56.Nº5, May, 1989 pp 691-704.

48 KARU, T. .Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. **J Photochem. Photobiol. B: Biol.**49 , 1999, 1-17.

49 KARU, T. Low Power Laser therapy. cap48 IN: **Biomedical Photonics handbook**. 2003, Pag 1 -25

50 KARU, T.; PYATIBRAT, L. V.; RYABYKH, T. P. Nonmonotonic behavior of the dose dependence of the radiation effect on cells in vitro exposed to pulsed Laser radiation at $\lambda=820\text{nm}$.**Lasers Surg Med**. 1997, v21, p.485-492.

51 KERT, J. & ROSE, L. **Clinical laser therapy - Low level laser therapy**. Copenhagen, Dinamarca: Rosenberg Bogtryk. Ballerup. 1989. p. 116-119.

52 KINDLOVA, M. e PLACKOVA, A. The ultrastructure of the gingivodental junction in rat molars. Part1 The capillaries.**Folia Morphologica**, 1973, .Prague, v.21, n.1,p.85-90.

53 KOMPA, K. L.; WARNNER, J. **Laser applications in chemistry**. New York Plenum Press 1984, 273p.

54 KURTIS, B; TUTER, G.; SERDAR, M.; AKDEMIR, P.; UYGUR, C.; FIRATLI, E. Gingival sulcular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 and tumor necrosis factor-alpha in patients with chronic and aggressive periodontitis. **J Periodontol** 2005; 76: 1849-1855.

55 LIEVENS, P. Effects of laser treatment on the lymphatic system and wound healing **Laser. J Eur Med Laser Ass.** 1988, v.1n.2p12.

56 LIEVENS, P. C. The effect of a combined HeNe and I.R. Laser treatment on regeneration of the lymphatic system during the process of wound healing. **LaserNews**. 1990 , V.3. n.3. p 3-9.

57 LIEVENS, P. C. The effect of I.R. laser irradiation on the vasomotricity of the lymphatic system. **Laser. med. Sci**, 1991.v.6 .p 189-191.

58 LIMIA, C. H. Aplicacion de la energia laser en odontologia y estomatologia. **Rev. Laser e Med. Odontol**. 1988. v.1, n.1, p.8-9.

59 LINDHE, J & KARRING, T. Cap1 A anatomia do periodonto . In: LINDHE,J. **Tratado de periodontologia clínica** . Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1992 493p.

60 LÕE, H.; HOLM-PEDERSEN, P.: Absence and presence of fluid *from* normal and inflamed gingivae. **Periodontics** 1965. 3: 171-177.

61 LOE, H., LISTGARTEN, M. A., TERRANOVA, V.P. A Gengiva In: GENCO, R.B.; COHEN, D.W.; GOLDMAN, H.M. **Periodontia contemporânea**. São Paulo: Santos livraria editora ,1997 726p.

62 LOPES, P. N.; GUIMARÃES, M. C. M.; ARAÚJO, V. M.; GONZALEZ; M. K. S; AVENA, M. R. L Utilização do laser em bolsas periodontais – revisão de literatura – **Periodontia** Março 2006, vol16 nº1, 46 - 50

63 LUNDY, F. T.; O'HARE, M. M. T.; McKIBBEN,B.M.; FULTON,C.R.; BRIGGS,J.E.; LINDEN,G.J. Radioimmunoassay quantification of adrenomedullin in human gingival sulcular fluid. **Archives of oral biology**, 2006, 51, 334-338

64 MAILLET, H. **O laser: princípios e técnicas de aplicação**.São Paulo. Manole, 1987. 538 p.

65 MALDAGUE, X. Infrared and Thermal testing: Nondestructive testing handbook. **3th ed**, Columbus, OH: Patrick O. Moore, 2001.

66 MANN, W. V.; STOFFER, H. R.: The identification of protejo components in fluid from gingival pockets. **Periodontics** 1964. 2: 263-266.

67 MARSHALL, S L. **Laser: Tecnologia y aplicaciones** Barcelona: Reverté,S.A. San Magin 1972, 304p.

68 MASSLER, M., SCHOUR, I. : The PMA index of gingivites. **J. dent. Res.** 1949. 28:634

69 MAYAYO, E. Mastócitos y radiaciones láser.**Inv y Clínica Laser** 1984 1/ 24-25

70 MAYAYO, E; TRELLES,M.A.;Láser e inmunidad.**Inv Cin laser III.**, 1986.v.2,p.73-74.

71 MELLO, J. B.; MELLO G. P. S. MELLO, L. S. Laser de baixa potência In: MELLO,J. B.; MELLO G.P.S. **Laser em odontologia**. São Paulo: Santos,2001, 1ªedição,174p.

72 MIRO, L.; COUPE, M.; CHARRAS, C.; JAMBON, C; CHEVALIER, J. M. Estudio capiloscópico de la acción de un laser de AsGa sobre la microcirculación. **Inv.Clin Laser**. 1984.V.1,n.2,p.9-14.

73 MISERENDINO, L. J. **Laser in dentistry**. Chicago;Quintessence,1995. Cap1 The History and development of Lasers in dentistry,p17-26.

74 MYRING , L.; KIMMITT, M.- **LASERS** - Lisboa : usborne Publishing Ltda 1984. 48p.

75 MUNCHERYAN, H. M. **Principles and practice of laser technology**.Blue Ridge Summit: TabBooks,1983. 298p.

76 NEIBURGER, E. J. The effect of low-power lasers on intraoral wound healing. **N.Y. State Dent. J.**, v. 61, n. 3, p. 40-43, 1994.

77 NEIBURGER, E. J. Accelerated healing of gingival incisions by helium-neon diode laser: A preliminary study. **General Dentistry**.. p. 166-170, 1997.

78 OLIVEIRA, C. M. C. P; TUNES,U. R; CORREIA, S. M. B; Enzimas do hospedeiro no fluido gengival como potenciais indicadores de atividade de doença periodontal.UFES **Rev.Odontol**. 2001,Vitória.V3,n.2,pág 52-58.

79 OZMERIC, N Advances in periodontal disease markers Review. **Clinica Chimica Acta** 343p, 2004 1-16

80 PIMENTA, L. H. M. **Laser em medicina e biologia** São Paulo: Roca, 1990 v.1.85p

81 PINTER, D. L.**Tratamiento con terapia laser**.dic.1987.15p.(mimeogr).

82 QADRI, T. MIRANDA, L.; TURNER, J; GUSTAFSSON, A. The short-term affects of low-level lasers as adjunct therapy in the treatment of periodontal inflammation. **J.Clin Periodontol** 2005; 32: 714-719.

83 QADRI, T; BOHDANECKA, P; TURNER, J; MIRANDA, L.; ALTAMASH, M.; GUSTAFSSON, A. The importance of coherence length in laser phototherapyof gingival inflammation—a pilot study. **Lasers Med Sci** Received: 7 May 2006 / Accepted: 11 December 2006 -Springer-Verlag London Limited 2007

84 RATCLIFF, P. A Permeability of healthy gingival epithelium by microscopically observable particles. **J.Periodontol.** 1966,37:28/291-29/292.

85 RAUDALES, J. C. , ZAGO, A. C; ZAGO, A. J; CAMPOS, M. R.; CASCO; M. F.;; WACHLESKI, J. Placa Coronária Aterosclerótica Vulnerável: Estado Atual. **Rev Bras Cardiol Invas** 2006; 14(3): 314-323.

86 REDDY, G. K. Photobiological basis and clinical role of low-intensity lasers in biology and medicine. **Journal of clinical laser medicine e surgery** 22, 2 , 2004. 141-150p.

87 RUIZ; A. R. **Principios físicos para el uso del Láser odontológico.** <http://www.itav.com.mx/articulos/fundamentalslaser/fundamentoslaser.html>. Jun 2006 pag 2-6.

88 SAFFORD, E. L. **Introduccion a la fibra Óptica Y el laser.** Madrid: Paraninfo,1988.282p.

89 SAFKAN-SEPPALA, B.; SORSA, T; TERVAHARTIALA, T, BEKLEN, A.; KONTTINEN, Y .T.; Collagenases in gingival sulcular fluid in type 1 diabetes mellitus. **J Periodontol** 2006;77: 189-194.

90 SCHENKEIN, H. A; Patogênese da periodontite agressiva,In: **BIMSTEIN, H. Periodontal and gingival Health and Diseases** 2003; 147- 167.

- 91 SHIMODA, K. **Introduction to laser physics**. 2ed. Berlin: Springer-Verlag, 1986. 233p
- 92 SIEGEL, K. L.; MANDEL, I. D., FINE, D. The measurement of gingival fluid. **J. periodontology**, Nov. 1972., V.43 , n11, p 682-684.
- 93 SILVA, C. O.; SALLUM; A. W.; NOGUEIRA FILHO; G. R. Contribuição dos Biomarcadores do fluido gengival no diagnóstico periodontal. **Periodontia**. 2004,Vol4 , N°04, pág 44-47.
- 94 SILVEIRA, J. C.DA & LOPES, E. E. Alguns aspectos do comportamento do Mastócito sob ação do raio Laser de Ga As 904 nm (Estudo Experimental em cobaias "Cavia porcellus") Belo Horizonte, **Arq.Cent.Estud.** 1991:28:73-96.
- 95 SILVEIRA, J. C.DA, LOPES, E. E. & SILVEIRA, L. DE B. Avaliação quantitativa da drenagem do exsudato de Bolsas periodontais supra-ósseas antes e após a aplicação do Raio Laser Ga As 904 nm (Estudo em humanos) **Arq. Centro Estud.** Curso Odontol; , jan.-jun. 1992, 29(1):57-68.
- 96 SILVEIRA, J. C.DA & SILVEIRA, L.DE B. Da influência do raio Laser Ga As 904nm na drenagem do fluido do sulco fisiológico gengival em humanos. **Periodontia**,1992:1/3-13
- 97 SILVEIRA, L.DE B. **Verificação do comportamento do mastócito na Parede não mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea submetida à radiação laser de baixa intensidade"**(*Estudo in Anima nobile*) (Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre profissional em lasers em Odontologia) . IPEN – USP ;São Paulo 2001.
- 98 SILVEIRA, V. J. M. **Alguns aspectos do comportamento dos mástócitos No tecido conjuntivo das duas vertentes da parede não mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea**. Belo Horizonte; s.n; 1985. 50 p. Dissertação - Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia para obtenção do grau de Mestre. BR365.1; D047, S587a, 1985.

99 SMITH; Q. T.; AUG. S.; FREESE, P. L.; OSBORN, J. B.; STOLTENBERG, J. L. Five parameters of gingival sulcular fluid from eight surfaces in periodontal health and disease. **J Periodont Res** 1992;27: 466-475.

100 SIMUNOVIC, Z.; IVANKOVICH, A. D.; DEPOLO, A. Wound healing of animal body sport traffic accident using low-level laser therapy treatment: a randomized clinical study of seventy-four patients with control group. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery**. 2000, v. 18, n. 2, p. 67-73.

101 SLINEY, D. H. Radiometric Quantities and Units Used in Photobiology and Photochemistry: Recommendations of the Commission Internationale de l'Eclairage (International Commission on Illumination). **Photochemistry and Photobiology**. 2007, 83: 425–432.

102 SOARES, J. F.; SIQUEIRA, A. L. **Introdução à estatística médica**. 2002 Cooperativa e Editora e de cultura Médica Ltda. ISBN:85-85002-55-7. 2002, 300 Pag.

103 SOUSA; G. R. **Reparação óssea de lesões perirradiculares tratadas ou não com laser em baixa intensidade ($\lambda=904$ nm): estudo radiográfico em humanos**. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares; 2001.

104 SPRANGER, H. Indication y metodologia de la higrometria Del surco Gengival em la praxis odontológica. **Eletro medica**, 1980.n4 , p 143-148.

105 SUPPIPAT,N. e SUPPIPAT; N: Evaluation of a eletronic device for gengival fluid quantitation, **J. Periodontology**. 1977, v 48, n7, p 388-394.

106 SVELTO, O. - **Principles of Lasers** New York; plenum press - 1989 494p

107 TAVARES, S. G. **Desenvolvimento de uma metodologia para aplicação de ensaios térmicos não destrutivos na avaliação da integridade de obras de arte.** 123 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica. – Escola de engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais), Belo Horizonte, 2006.

108 TAYLOR , J. R.; FRENCH, P. M. W. **How Lasers Are Made** –New york: Facts on file publications Treshold Books Limited 1987 32p.

109 TRELLES, M. A. Laser Clínico aplicações em várias especialidades-In PIMENTA,L.H.M. **Laser em medicina e biologia** São Paulo: Roca, 1990 v.1.85p

110 TRELLES, M. A. & MAYAYO, E. Mast cell are implicated in low Power Laser effect On tissue. A preliminary study.**Laser in Medical Science**1992:7:73-77

111 TRELLES, M. A., MAYAYO, E., MIRO, L., RIGAU, J. BAUDIN, G. & LAPIN, R. Histamine& low power laser.The Jour. **Bloodless Med. & Surg.** n1, 1988: 6:15 -16.

112 TRELLES, M. A., MAYAYO, E., MIRO, L., RIGAU, J., BAUDIN,G. & CALDERHEAD, R. G. The action of low reactive level laser therapy (LLLT)on mast cells: possible pain relief mechanism examined. **LLLT.**1989v1, n1:27-30

113 TSUCHIDA, K.; HARA, R. Clinical significance of gingival fluid measurement by “PERIOTRON” **J. Periodontology**, 1981, 52, 11, pag 697-700.

114 TURNÉR, J.& HODE, L. **Low Level Laser Therapy – Clinical Practice and Scientific Background.** Estocolmo: Suécia. Prisma Books.1999. p. 59-60.

115 UVNAS, B. Release processes in mast cells and their activation by injury. **Ann.Ny. Acad.Sci.**, 1964 116:880-9.

116 VELOSO, A. L. Aula em seminário de medidas elétricas disponível , 2008 , www.eletrica.ufpr.br/marlio/medidas/seminarios/Altamir.pps

117 ZECELL, D. M.; MALDONADO, E. P.; RIBEIRO, M. S.; “**Lasers em odontologia – interação da luz laser com tecidos biológicos: Aplicações**” Instituto de pesquisas energéticas e nucleares – São Paulo – SP, 1999; pag 71.

118 WALSH, L. J. The current status of low laser therapy in dentistry.Part1. Soft tissue applications. **Australian Dental Journal**. 1997;42:(4):247-54.

119 WALSH, L. J. The current status of low laser therapy in dentistry.Part2. Soft tissue applications. **Australian Dental Journal**. 1997;42:(5):302-6.

120 WEINSTEIN, E.; MANDEI, I. D.; SALKIND, A.; OSHRAIN, H.; PAPPAS, G. D.: Studies on gingival fluido **Periodontics**. 1967.5: 161-166 .

121 WOLBARSHT, M. L. **Laser applications in medicine and biology**.New York: Plenum Press. 3, 1987, 302 p.

122 WOLBARSHT, M. L. **Laser applications in medicine and biology**.Ney York: Plenum Press. 5, 1991,371 p.

Sites

<http://www.oraflow.com>

<http://www.labgeminis.com/publicidad/principal-pipetman-2-minute.htm>

http://www.thermotronics.com.br/galeria_medicina.html

http://www.termografia.com/br/aplicaciones/medicina_e_veterinaria.html

<http://www.eletrica.ufpr.br/marlio/medidas/seminarios/Altamir.pps>

<http://pt.wikipedia.org/wiki/Termografia>

<http://it.wikipedia.org/wiki/Termocamera>

ANEXOS A

A.1 – Termo de consentimento livre e esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA MECÂNICA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA, PATOLOGIA E CIRURGIA ODONTOLÓGICAS

Belo Horizonte, ____ de _____ de 2008.

Prezado paciente Voluntário,

Eu, Lívio de Barros Silveira CROMG 17775 juntamente com os professores Marcos Pinotti e Roberto Márcio de Andrade, Estamos realizando uma pesquisa, com objetivo de investigar a composição do liquido que sai normalmente da gengiva após aplicar a luz laser de baixa intensidade nesta gengiva. Utilizaremos o seguinte recurso: Aplicação de laser em baixa intensidade sobre o tecido gengival durante 2 minutos e meio, no consultório particular. Gostaria de poder contar com sua colaboração para participar desta pesquisa como paciente voluntário, esclarecendo que:

A pesquisa consiste em comparecer uma única vez no consultório onde realizaremos preenchimento de ficha clínica, leitura e assinatura do Termo de consentimento livre e esclarecido, exame Visual clínico periodontal, a) posicionamento de um papel absorvente e uma fita plástica no espaço entre a gengiva e o dente (sulco gengival) para a coleta do fluido durante 5 segundos, b) uma aplicação de luz laser de baixa intensidade sobre a gengiva durante dois minutos e trinta segundos, procedimento esse, que será realizado somente por mim. C) logo após será novamente posicionado um papel absorvente e uma fita plástica no sulco gengival para coleta do fluido durante 5 segundos. A Fita será colocada nas áreas superiores e o papel absorvente nas áreas inferiores. Tempo total do experimento é de 35 minutos e realizado uma única vez dentro de consultório particular situado a av. Raja Gabaglia 2680 sala 902 bairro Estoril. O experimento não incomoda, não dói e não traz nenhum risco a saúde.

Somente serão utilizados os pacientes voluntários que aceitarem, concordarem e assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido, emitido em duas vias (pesquisador e paciente voluntário).

Esse experimento é feito com material descartável, individual (para aplicação do laser na cavidade bucal, serão utilizadas luvas e gazes, película de PVC magipack e para o ensaio, lâminas plásticas e papéis absorventes descartáveis) tudo fornecido pelo profissional sem custo para o paciente voluntário.

O examinador Lívio de Barros Silveira é dentista e pesquisador, Mestre e doutorando e está apto a fazer esse exame e as aplicações de Laser.

Cada paciente voluntário participará uma única vez por num período Total de 35 minutos (entre exame, coleta de fluido com Fita, aplicação de laser, coleta de fluido com Fita novamente na área superior e Coleta com papel absorvente, aplicação de laser, coleta de fluido com papel absorvente na área inferior). Durante o tempo do procedimento não haverá risco algum para o tecido ou para o paciente.

Todos os seus dados obtidos serão confidenciais, sua identidade não será revelada publicamente, em hipótese alguma, e somente os pesquisadores envolvidos nesse projeto terão acesso a essas informações, que serão utilizadas somente para fins de pesquisa.

Essa pesquisa foi aprovada no Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP). Qualquer dúvida entre em contato com a COEP (Av Presidente Antônio Carlos, 6627 – Unidade administrativa II, 2º Andar, Sala 2005- Belo Horizonte – MG , CEP: 31270-901), no telefone (31) 3499 4592 – Fax: 31 3499-4027 – coep@prpq.ufmg.br. Endereço se encontra também no rodapé das páginas.

Não será prevista qualquer forma de remuneração para o paciente voluntário, e todo e qualquer ressarcimento das despesas relacionadas com o estudo são de responsabilidade do Pesquisador.

Todos os participantes poderão, a qualquer momento, recusar ou desistir de fazer parte dessa pesquisa, sem penalização alguma.

Desde já, agradeço sua colaboração.

O telefone do pesquisador para quaisquer esclarecimentos é: **Lívio de Barros Silveira CROMG 17775** – 33781806, 32970886, 99710886. Marcos Pinotti 31 34995242 - e Roberto Marcio - 31 34995242

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Ficha Pessoal Belo Horizonte, _____ de _____ de 2008

Nº _____ Nome: _____

Sexo: _____ Idade: _____ TEL: _____

Área Seleccionada: **13-12--- 11-21 --- 22-23** **Fita plástica**

43-42--- 41-31 --- 32-33 **Periopaper(papel absorvente)**

Região interproximal

Informe consciente:

Após as devidas informações fornecidas pelo profissional sobre o tipo de experimento a ser realizado, aplicando irradiação laser em baixa intensidade na minha gengiva e que não traz absolutamente risco nenhum de dor, injúria, agressão ao meu organismo e a minha gengiva, e ser consultado a respeito do aproveitamento do meu material (fluido gengival) coletado para investigação científica através de fita e papel absorvente, eu concordo em participar da pesquisa e autorizo que as amostras de fluidos e dados coletados sejam aproveitados para estudo e posteriormente avaliados uma vez que esses seriam dispensados.

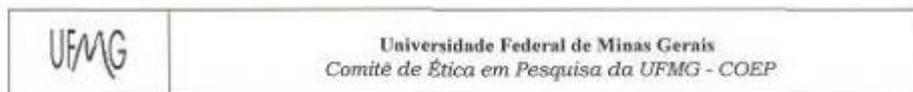
ASS _____
Voluntário

CD Lívio de Barros Silveira – CROMG 17775

Prof.Dr. Marcos Pinotti Barbosa

Prof.Dr. Roberto Márcio de Andrade

Este documento consta de duas paginas e emitido em duas vias 1ª Pesquisador e 2ª paciente voluntário.

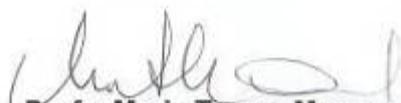
ANEXO B**B.1 – Parecer do comitê de ética da UFMG****Parecer nº. ETIC 373/07**

Interessado(a): Prof. Marcos Pinotti Barbosa
Departamento de Engenharia Mecânica
Escola de Engenharia-UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 21 de novembro de 2007, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Verificação das alterações de quantidade e qualidade do fluido do sulco gengival drenado de tecidos gengivais clinicamente normais submetidos à radiação laser em baixa intensidade**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO C

C.1 – Modo de utilização do kit coloração panótico

O Procedimento se baseia em submeter o esfregaço hematológica a ação de um fixador e duas soluções corantes, por meio de imersões de 5 segundos em cada, e ao final da última imersão encontra-se pronta para leitura. Sua composição possui três reagentes: Panótico rápido n' 1: compõe-se por uma solução de triarilmetano a 0,1%, - Panótico rápido n' 2: compõe-se por uma solução de xantenos a 0,1% e -Panótico rápido n' 3: compõe-se por uma solução de tiazinasa 0,1% .

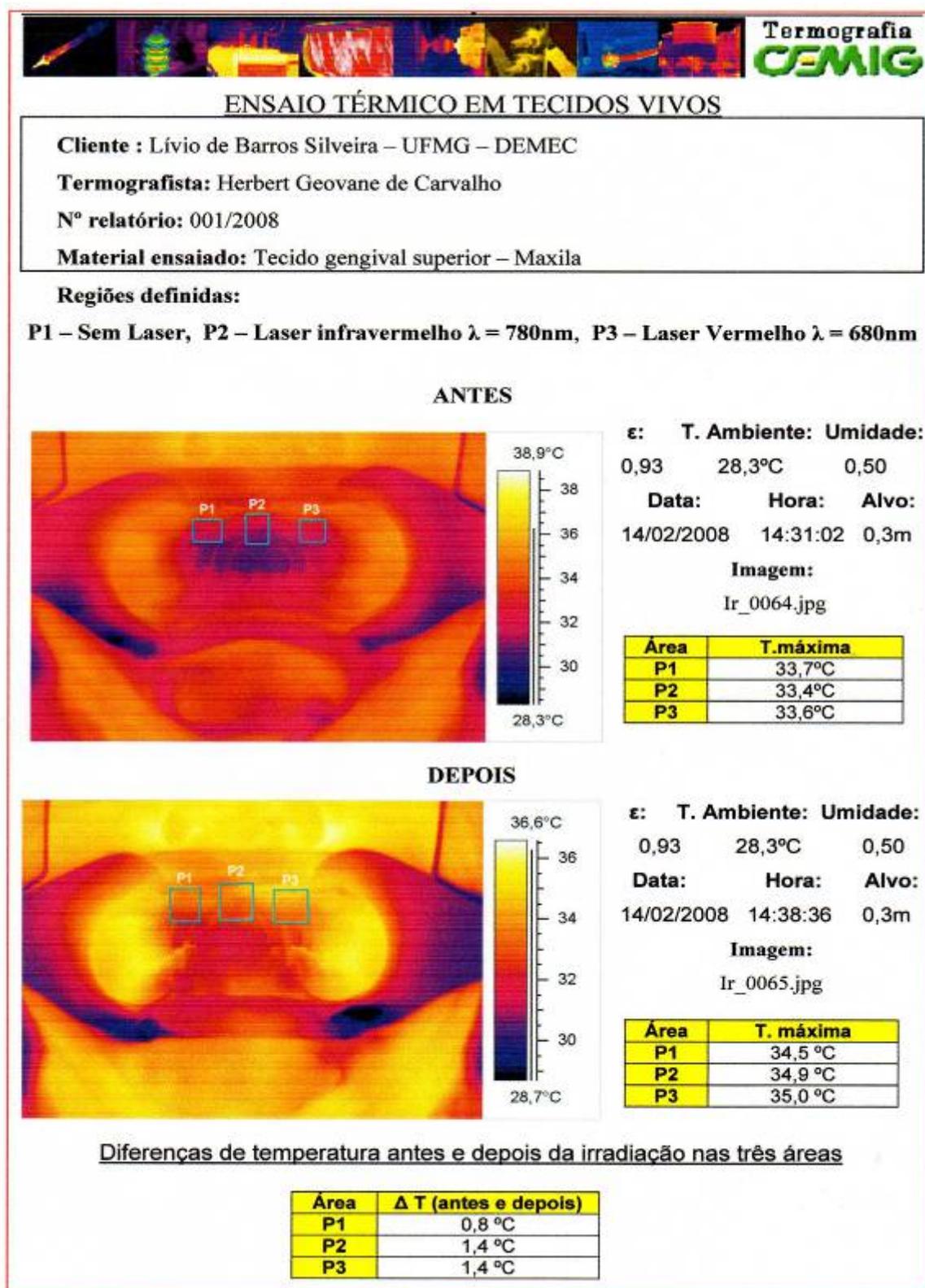
PROCEDIMENTO TÉCNICO

- A - Preparar as extensões sanguínea e deixar secar em temperatura ambiente;
- b - Preencher 3 recipientes (cubeta de Wertheim, cuba de Coplin ou similar) com As soluções n' 1, 2 e 3 respectivamente;
- c - Submergir as lâminas na solução n' 1 mantendo-se um movimento contínuo de cima para baixo ou para os lados durante 5 segundos (5 imersões de 1segundo cada) e deixar escorrer bem;
- d - Submergir as lâminas na solução n' 2 mantendo-se um movimento contínuo de cima para baixo ou para os lados durante 5 segundos (5 imersões de 1 segundo cada) e deixar escorrer;
- E - Submergir as lâminas na solução n' 3 mantendo-se um movimento contínuo de cima para baixo ou para os lados durante 5 segundos (5 imersões de 1segundo cada) e deixar escorrer bem;
- f - Lavar com água deionizada recente (de preferência tamponada a pH 7,0),secar ao ar na posição vertical e com o final da extensão voltado para cima.

Macroscopicamente a coloração deve apresentar uma tonalidade rosa-mate e microscopicamente, as plaquetas devem se apresentar púrpuras com um ponto em vermelho visível. Lâminas muito vermelhas indicam acidez excessiva, e muito azuladas alcalinidade excessiva.

ANEXOS D

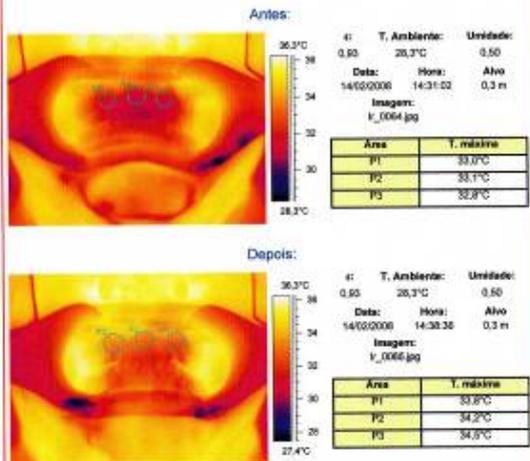
D.1 – Relatório emitido pelo termografista constando as medições de temperatura baseado no ensaio realizado nos tecidos gengivais de oito voluntários.





Ensaio Térmico em Tecidos Vivos

Cliente: Livio de Barros Sílveira - UFMG/DEMEC
 Termografista: Herbert Geovane de Carvalho
 Relatório: 0012006
 Material ensaiado: Tecido gengival superior - Maxila



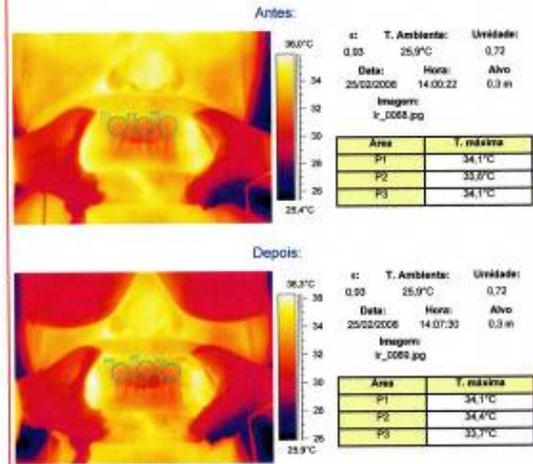
Varição de temperatura após a aplicação do Laser

Área	ΔT
P1	0,8°C
P2	1,1°C
P3	1,1°C



Ensaio Térmico em Tecidos Vivos

Cliente: Livio de Barros Sílveira - UFMG/DEMEC
 Termografista: Herbert Geovane de Carvalho
 Relatório: 0012006
 Material ensaiado: Tecido gengival superior - Maxila



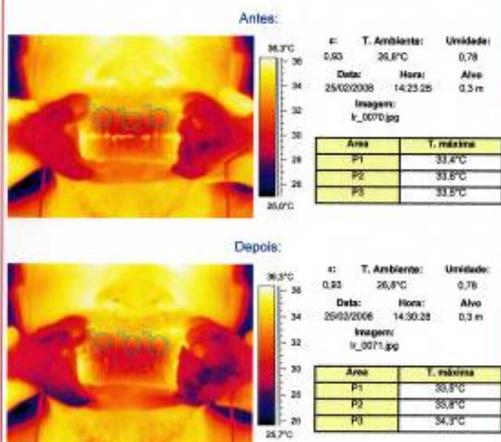
Varição de temperatura após a aplicação do Laser

Área	ΔT
P1	0,1°C
P2	0,6°C
P3	0,3°C



Ensaio Térmico em Tecidos Vivos

Cliente: Livio de Barros Sílveira - UFMG/DEMEC
 Termografista: Herbert Geovane de Carvalho
 Relatório: 0012006
 Material ensaiado: Tecido gengival superior - Maxila



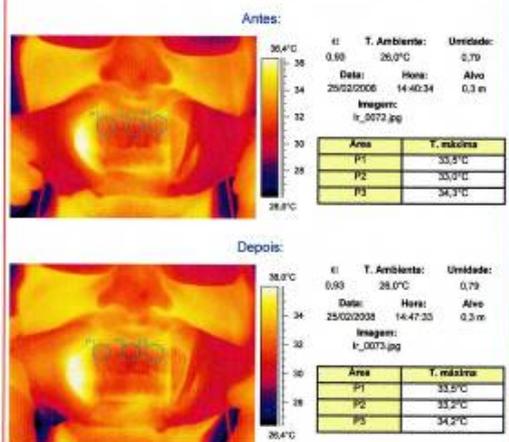
Varição de temperatura após a aplicação do Laser

Área	ΔT
P1	0,4°C
P2	2,0°C
P3	0,8°C



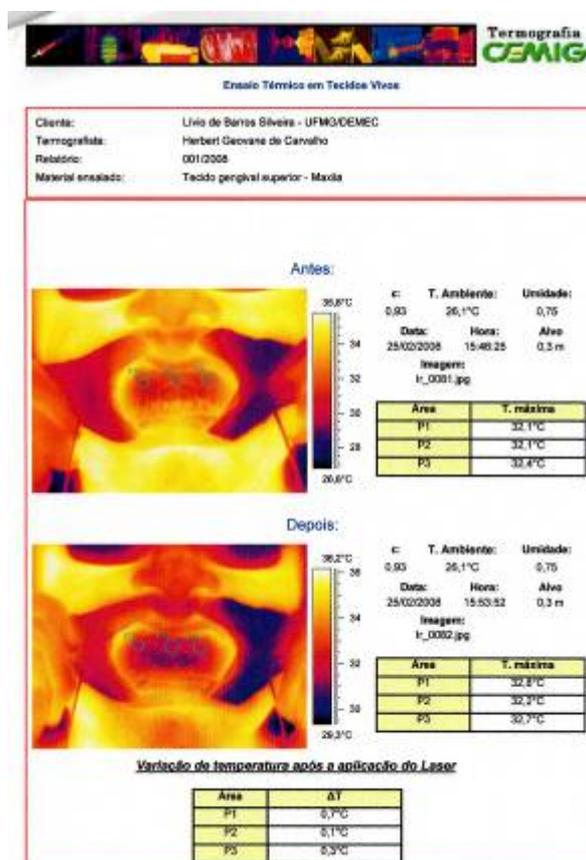
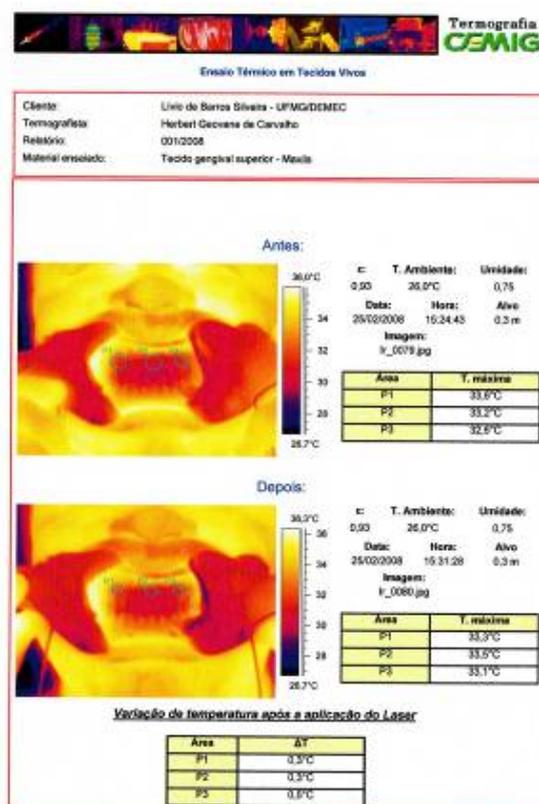
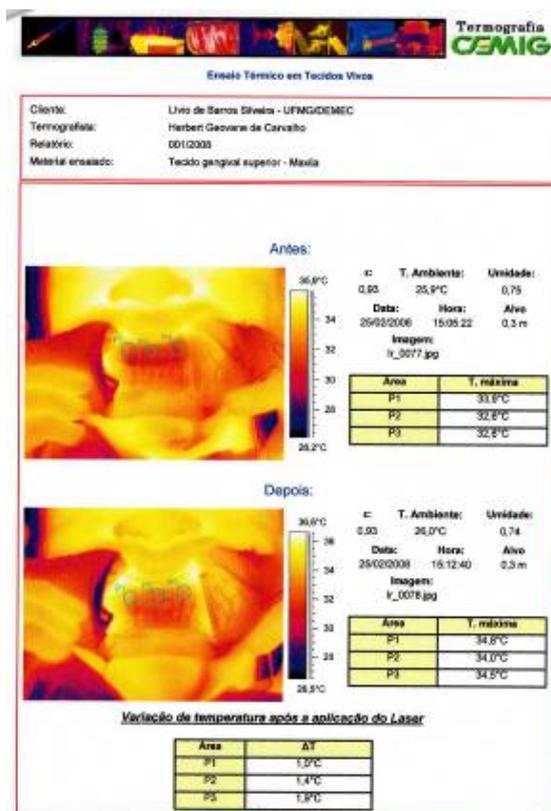
Ensaio Térmico em Tecidos Vivos

Cliente: Livio de Barros Sílveira - UFMG/DEMEC
 Termografista: Herbert Geovane de Carvalho
 Relatório: 0012006
 Material ensaiado: Tecido gengival superior - Maxila



Varição de temperatura após a aplicação do Laser

Área	ΔT
P1	0,1°C
P2	0,2°C
P3	0,1°C



N 07

Sem laser

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	17	1							5	3
2	11	6							10	3
3	X	9							6	3
4	27	20							4	2
5	28	8							3	2
6	19	5							7	1
7	X	49							7	8
8										
9										
10										

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	8	3							4	7
2	5	4							3	7
3	22	X							7	9
4	9	X							7	14
5	16	X							8	11
6	7	X						3	5	7
7	8	1							2	9
8	4	3							2	4
9	28	X							6	15
10	15	X							4	12

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	29	2					4		2	X
2	16	1					1		1	1
3	20	5							3	1
4	8	1							1	1
5	7	1						1	1	X
6	5	X							1	1
7	12	X						4	X	1
8	11	4							6	1
9	9	1							2	3
10	14	3					1		X	6

N 08

Sem laser

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	15	6							5	2
2	7	7							2	2
3	22	8							3	1
4	32	4							5	1
5	47	7					1		6	1
6	26	8							3	3
7	11	7							4	X
8	20	5							2	X
9	16	9							2	1
10	14	3							5	1

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	4	6							1	2
2	5	5						1	X	2
3	2	3							X	1
4	2	5					1		X	1
5	2	6							1	1
6	15	1					1		2	3
7	10	3					1	1	1	X
8	1	3					1		X	X
9	3	5							X	1
10	6	4							X	1

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	32	X							2	10
2	18	14							1	11
3	20	20							1	3
4	39	9							3	3
5	37	4							1	2
6	18	3							1	1
7	29	2							X	3
8	16	2							3	X
9	44	4							X	4
10	47	6						1	3	4

N 11

Sem laser

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	67	2							X	2
2	62	2						1	X	X
3	72	8						1	X	1
4	118	4							X	X
5	93	6							X	X
6	108	12						1	2	X
7	182	X							1	1
8	112	3					2		1	X
9	119	7							X	X
10	56	5							2	X

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	43	1							2	1
2	12	3							1	1
3	8	10					1		1	1
4	42	6					2		2	X
5	10	2					1		X	X
6	17	1							1	X
7	28	2							X	X
8	42	5							1	X
9	40	10					2		1	X
10	65	9							1	1

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	89	18							4	2
2	82	17						1	1	1
3	118	38							2	5
4	50	20						1	1	2
5	198	9						1	X	3
6	58	3							2	4
7	92	15							1	1
8	25	9							1	3
9	67	24						1	2	1
10	88	32						1	2	2

N 12

Sem laser

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	16	3							X	2
2	13	2						1	1	X
3	24	3							X	X
4	29	3							1	1
5	143	X							7	3
6	26	1							X	X
7	11	2							X	4
8	28	4							X	3
9	10	5							X	2
10	19	5						1	X	2

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	10	X							X	11
2	13	X							1	13
3	11	X							2	7
4	3	X							X	6
5	13	6							X	X
6	15	5							X	3
7	12	2							X	3
8	8	3							X	4
9	18	5							X	1
10	10	6							X	X

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	41	3							2	X
2	33	7							2	3
3	32	2							3	1
4	20	4							X	6
5	36	5							2	9
6	40	9							1	6
7	27	2							X	12
8	16	1							2	11
9	17	X							1	5
10	24	5						1	2	6

N 13

Sem laser

Campo	Neutr3f3lo		Eosin3f3lo		Bas3f3lo		linf3cito		Mon3cito/Macr3f3go	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	20	9							X	2
2	14	6							3	X
3	39	8							X	X
4	30	10							X	X
5	22	5							X	X
6	14	11							2	X
7	33	4							X	X
8	31	5							X	X
9	16	2							X	X
10	21	5							X	X

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutr3f3lo		Eosin3f3lo		Bas3f3lo		linf3cito		Mon3cito/Macr3f3go	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	6	26							X	3
2	13	9							3	X
3	18	2							1	2
4	17	X							3	4
5	22	2							5	3
6	16	5							2	1
7	20	10							X	3
8	22	22							1	4
9	20	4							2	5
10	12	1							2	2

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutr3f3lo		Eosin3f3lo		Bas3f3lo		linf3cito		Mon3cito/Macr3f3go	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	27	8							X	1
2	33	3							1	5
3	39	3							2	3
4	52	7							X	1
5	44	7							2	X
6	24	12							3	X
7	15	10							3	X
8	43	2							2	1
9	29	17							X	2
10	35	8							2	2

N 14

Sem laser

Campo	Neutr3f3lo		Eosin3f3lo		Bas3f3lo		linf3cito		Mon3cito/Macr3f3go	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	93	X							3	7
2	69	44							5	X
3	75	7							5	1
4	65	26							3	X
5	49	23						2	X	X
6	131	5					3		6	7
7	89	8					2		5	11
8	70	1							4	3
9	79	5					1		3	6
10	104	3					2		1	2

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutr3f3lo		Eosin3f3lo		Bas3f3lo		linf3cito		Mon3cito/Macr3f3go	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	40	4					2	1	4	2
2	36	4					1		3	2
3	38	10							2	X
4	50	6					1	1	2	5
5	19	3						4	1	X
6	13	5					1		1	X
7	30	1					1	2	1	3
8	22	2							2	6
9	26	3						1	3	X
10	47	X					4		3	2

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutr3f3lo		Eosin3f3lo		Bas3f3lo		linf3cito		Mon3cito/Macr3f3go	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	74	10					3		5	X
2	38	X					4	1	7	7
3	57	8					8		4	2
4	34	3					3		2	2
5	23	7					1		X	2
6	22	6					3	1	2	2
7	24	11							1	3
8	112	4					6	3	8	2
9	37	11					3		3	5
10	25	26					2	5	1	12

N 15

Sem laser

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	95	20							2	1
2	55	14						1	2	4
3	67	19							3	X
4	59	6							2	1
5	27	30							X	4
6	54	37							1	4
7	49	22							1	1
8	48	28						1	X	2
9	63	14							1	2
10	53	17						1	X	8

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	58	75						7	3	1
2	87	88						1	4	12
3	76	30							1	6
4	42	106							2	8
5	59	185							1	8
6	55	40							1	4
7	168	52						9	3	2
8	175	63							2	3
9	119	87							1	7
10	57	78						3	2	11

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	16	17						1	X	X
2	21	7							1	1
3	31	2							X	4
4	36	5							1	1
5	32	8							X	1
6	27	11							1	3
7	39	5							1	2
8	28	10						2	1	1
9	44	4							X	2
10	12	16							1	X

N 16

Sem laser

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	87	85							1	3
2	68	83							X	2
3	57	45						1	X	X
4	74	30							X	X
5	63	18							3	3
6	58	16							X	X
7	31	9							2	X
8	38	29							X	X
9	22	12							X	1
10	73	15							3	X

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	6	3							X	2
2	16	5							X	X
3	28	2							1	2
4	42	11							1	1
5	43	9							X	2
6	46	7						3	1	X
7	39	1							2	4
8	58	4							X	X
9	55	3							X	2
10	38	2							X	5

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	77	16							8	1
2	48	10							1	4
3	57	9							4	1
4	58	11						1	6	3
5	73	13							7	3
6	44	9						1	4	2
7	47	8							8	2
8	3	4							3	X
9	84	2							3	6
10	112	3						1	5	8

N 19

Sem laser

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	59	17						2	3	X
2	61	14							1	X
3	77	11						2	3	X
4	83	10						1	3	1
5	110	21						2	2	X
6	76	12						1	4	2
7	74	17							1	1
8	19	19							2	X
9	79	9							4	4
10	82	7							3	X

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	89	2							2	3
2	55	9							5	X
3	60	3							3	1
4	87	6							X	X
5	44	10							X	1
6	84	3							4	X
7	24	5							3	X
8	59	4							6	6
9	65	2							5	1
10	74	6							3	X

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	8	4						1	2	X
2	17	9							1	X
3	23	3							5	1
4	17	6							2	1
5	19	10							3	1
6	35	3						1	1	X
7	41	5							2	X
8	26	4							1	3
9	19	2							1	3
10	15	6						2	X	X

N 20

Sem laser

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	X	X							5	4
2	4	2						1	3	2
3	9	1							X	1
4	8	1							X	2
5	9	1							2	1
6	8	X							2	3
7	3	1							1	5
8	X	2							6	1
9	X	X							3	4
10	X	X							1	7

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	22	15							11	14
2	27	X							4	4
3	7	X							3	1
4	4	1							6	2
5	8	2							1	3
6	15	4							7	2
7	7	X							4	3
8	6	X							6	4
9	2	X							1	1
10	7	4							X	X

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	28	2						6	2	1
2	33	X						4	1	1
3	38	X						4	1	1
4	26	3						5	1	1
5	29	23						2	4	5
6	35	9						1	6	1
7	46	4						1	2	2
8	4	7						2	1	2
9	3	X						3	1	1
10	9	X						1	X	7

N 21

Sem laser

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	75	X					2		2	10
2	59	3							4	1
3	78	4							3	1
4	79	6							6	X
5	63	X					1		7	1
6	94	X					7		8	1
7	122	1					3		9	1
8	98	1							7	2
9	119	1							7	X
10	94	1							2	X

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	13	3							4	2
2	41	6					2	1	6	1
3	19	6						1	X	1
4	7	9						2	1	2
5	18	4							6	1
6	1	5							3	1
7	6	1							3	10
8	X	5							5	4
9	44	5					1		5	1
10	31	X						1	1	6

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	11	X							3	7
2	8	X							5	9
3	15	3							10	X
4	14	1							9	3
5	7	2							7	5
6	5	3							X	6
7	15	X							2	3
8	18	X							2	1
9	8	5							2	3
10	7	2							2	1

N 22

Sem laser

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	144	29						1	3	3
2	60	45							1	4
3	43	13							1	X
4	64	14						4	X	2
5	76	41						2	X	1
6	73	10							1	1
7	104	29						3	X	X
8	87	33							3	1
9	84	29							5	1
10	89	21							1	1

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	102	25					3	1	3	1
2	128	49					6	1	3	X
3	111	52					2	2	3	2
4	161	64					1		4	4
5	158	55						3	4	2
6	167	120					5	5	2	4
7	182	90					3	2	3	1
8	144	28						1	4	2
9	142	43						1	2	4
10	97	51							2	3

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	139	4					4	1	7	4
2	96	X					2		5	3
3	149	X					2		4	2
4	116	X					2		3	3
5	89	X					X		2	1
6	150	X					3		4	2
7	108	X					1	3	2	X
8	93	3					2		2	6
9	123	6					3		1	X
10	144	3					1	1	3	X

N 23

Sem laser

Campo	Neutr3f3lo		Eosin3f3lo		Bas3f3lo		linf3cito		Mon3cito/Macr3f3ago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	63	48							1	X
2	48	28						1	X	X
3	79	42							3	X
4	62	75					1	1	2	X
5	75	71						1	X	X
6	67	4					1	1	2	X
7	58	37							X	1
8	67	3							2	X
9	97	8							X	1
10	48	58							2	2

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutr3f3lo		Eosin3f3lo		Bas3f3lo		linf3cito		Mon3cito/Macr3f3ago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	54	X						1	2	1
2	35	X							1	4
3	98	X					1	1	6	5
4	36	X					2		3	2
5	X	X							5	2
6	X	X							6	1
7	X	X							9	3
8	6	8							3	1
9	13	6							3	X
10	25	9						2	X	2

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutr3f3lo		Eosin3f3lo		Bas3f3lo		linf3cito		Mon3cito/Macr3f3ago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	21	6							6	15
2	18	X							3	3
3	19	X					1		1	5
4	72	X					3	2	4	2
5	59	X							6	9
6	25	X							3	3
7	22	X							5	8
8	71	X							5	5
9	33	12						3	6	1
10	53	3					2		4	

N 24

Sem laser

Campo	Neutr3f3lo		Eosin3f3lo		Bas3f3lo		linf3cito		Mon3cito/Macr3f3ago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	49	2							2	2
2	9	6					2	2	2	X
3	13	1					1		1	3
4	7	X							X	2
5	12	3							2	1
6	11	X							X	1
7	9	5							X	2
8	18	3							X	4
9	10	X						1	2	X
10	8	X							1	X

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutr3f3lo		Eosin3f3lo		Bas3f3lo		linf3cito		Mon3cito/Macr3f3ago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	48	3							3	1
2	36	1							X	3
3	23	X						1	X	1
4	27	1					1	3	3	X
5	28	4							2	2
6	30	X					2	3	5	X
7	27	2							1	X
8	32	1					1		3	1
9	8	2						1	1	X
10	9	X							2	8

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutr3f3lo		Eosin3f3lo		Bas3f3lo		linf3cito		Mon3cito/Macr3f3ago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	3	1							1	1
2	X	1							4	X
3	X	X							5	1
4	2	2							X	2
5	3	1							1	X
6	14	1							2	X
7	47	X							5	X
8	7	X					2		X	X
9	1	X							X	X
10	4	X					1		1	X

N 29

Sem laser

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	38	X							X	6
2	19	5							X	X
3	67	7							X	1
4	59	3							X	X
5	55	2							X	X
6	44	3	1						X	X
7	46	9							X	1
8	58	X	1						1	X
9	26	X							2	X
10	25	X							3	X

Laser Infravermelho 780nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	148	4	3						X	1
2	99	7	2						1	X
3	53	5							X	X
4	139	5	2						2	X
5	105	3	2				1	1	2	X
6	43	4	1						X	X
7	45	4	1				2		X	1
8	126	2						2	2	1
9	172	3	4					5	2	1
10	85	5							1	1

Laser Vermelho 680nm

Campo	Neutrófilo		Eosinófilo		Basófilo		linfócito		Monócito/Macrófago	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
1	18	28						2	X	1
2	22	38					3		X	2
3	25	26						6	2	X
4	27	16							1	X
5	20	58							2	X
6	28	9					2		2	X
7	22	9							X	1
8	21	10						1	2	1
9	24	11							2	1
10	19	3					1		1	2

APÊNDICE

A-1 Do Laser

A palavra laser é uma abreviação de “light amplification by stimulated emission of radiation”, que significa amplificação da luz por emissão estimulada de radiação, RUIZ (2006).

Ainda RUIZ (2006) comenta que para entendermos a emissão estimulada, é necessário que se compreenda a natureza quântica ou descontínua dos estados energéticos dos constituintes microscópicos de sistemas físicos (tais como: núcleos, átomos, moléculas, redes cristalinas, etc.). Um átomo possui seus elétrons distribuídos em diferentes níveis energéticos, definidos pela quantização de suas variáveis de movimento, e esses se comportam dando saltos de níveis de acordo com trocas energéticas, absorvendo ou emitindo quantidades de energia ressonantes compatíveis com cada mudança de estado ou configuração do elétron.

Este átomo em estado fundamental, ou seja, em seu estado de menor energia, pode receber uma certa quantidade de energia ressonante e uma vez absorvida, um elétron deste átomo salta para uma configuração mais energética, tornando esse átomo dito, excitado. Como há sempre uma tendência a um retorno desse elétron a seu estado fundamental, essa diferença energética entre estados é liberada em forma de fótons que são pequenos pacotes de energia eletromagnética (luz).

Em 1917, Einstein descreveu a emissão estimulada de forma teórica definindo que sob certas condições, um átomo pode estar excitado e ser estimulado a emitir um fóton, provocado ou induzido por um fóton externo, de mesma energia. Em outras palavras, o fóton indutor possui a mesma frequência e comprimento de onda que o fóton cuja emissão ele vai induzir. Esse é um exemplo de emissão estimulada. Em geral, os materiais absorvem mais os fótons incidentes do que são estimulados a emitir fótons adicionais ressonantes, MAILLET (1987).

Em 1950, A. K. Krastler e Brossel aperfeiçoaram o bombeamento óptico, que nada mais é do que a forma de fornecimento de energia externa adequada para um determinado material, promovendo desta maneira a excitação do mesmo, o que irá resultar na produção de fótons, MAILLET (1987). Um estado de inversão de população pode ser obtido por um curto intervalo de tempo devido a esse bombeamento, o que pode ser aproveitado para se obter mais emissão estimulada do que absorção, pelo material, levando ao efeito de amplificação da luz.

Ainda MAILLET (1987), relata que a amplificação de ondas ultracurtas (maser- Microwave amplification by stimulated emission of radiation) proposta por Townes em 1951, foi mais um passo para que em 1958 Schalow e o próprio C.H.Townes publicassem um artigo pioneiro de grande valia sobre laser, o que culminou na construção do primeiro laser de rubi por Theodore Maiman, físico da Hughes Research Laboratories em Malibu, Califórnia, em Julho de 1960, segundo MARSHALL (1972), BUTLER (1980), KOMPA e WARNNER (1984), HECHT (1986), SHIMODA (1986) e SAFFORD (1988).

Os elementos fundamentais constituintes de um laser simultaneamente necessários são: meio ativo; bombeamento e câmara de ressonância ou ressonador; FIG39.

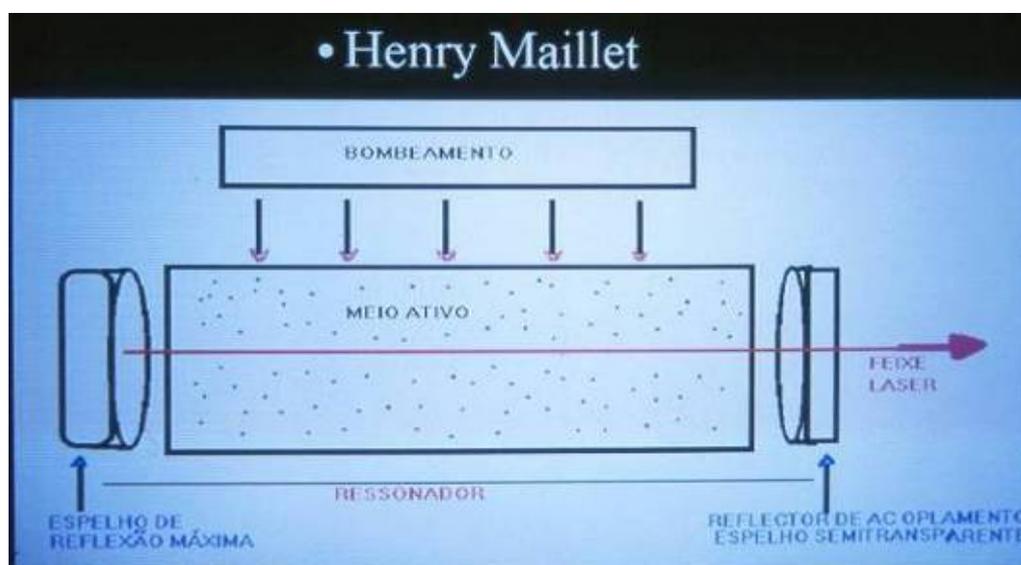


FIGURA 39 - Desenho esquemático de um laser constando todos os seus componentes, (BOULNOIS,1987).

O meio ativo de um laser é constituído pelo material que vai ser excitado, podendo ser sólido, líquido ou mesmo gasoso e é responsável pela definição do comprimento de onda e pelo nome do determinado tipo de laser. O comprimento de onda de um laser é extremamente importante, pois é ele que define a profundidade de penetração do feixe laser no tecido alvo. Diferentes comprimentos de onda apresentam diferentes coeficientes de absorção para um mesmo tecido, ALMEIDA-LOPES (1999) e SOUSA(2001).

As principais formas de bombeamento utilizadas são: óptica (muito utilizada para lasers sólidos), por descarga elétrica (mais utilizada em lasers gasosos e semicondutores), térmica e química, embora existam outras formas de bombeamento, BOULNOIS (1987).

O mecanismo de funcionamento de um laser se resume em excitar (pelo tipo de bombeamento externo) um meio ativo que está em repouso dentro de um ressonador ou cavidade ressonante. O ressonador é constituído em geral, por um espelho totalmente refletor em um dos lados e na outra extremidade, por um espelho parcialmente refletor, que são responsáveis pela reincidência de fótons já formados sobre o meio ativo, resultando no fenômeno definido como emissão estimulada, promovendo amplificação dos feixes. Essa câmara é responsável pela saída de um feixe altamente colimado em uma das extremidades, constituído de fótons idênticos definidos como feixe laser.

As propriedades físicas da luz laser são: monocromaticidade, coerência e direcionalidade, MYRING e KIMMITT (1984), TAYLOR e FRENCH (1987) e SVELTO, (1989) FIG 40.

A monocromaticidade é a propriedade física que representa a pureza da luz, justificada pelo feixe de laser ser composto por apenas um único comprimento de onda, de forma que se atravessarmos essa luz por um prisma ela sairá do outro lado da mesma forma como incidiu. Os lasers utilizados nas áreas biomédicas possuem comprimentos de onda situados no espectro eletromagnético variando entre a faixa do ultravioleta passando pelo visível e chegando até o infravermelho SVELTO (1989).

A coerência é a propriedade representada pelo alinhamento das ondas luminosas com mesma frequência, com características de possuir coincidências de cristas e vales destas mesmas ondas luminosas que compõem o feixe permitindo que caminhe de forma paralela e ordenada no tempo e espaço TAYLOR e FRENCH (1987)FIG 42,CECCHINI (1995).

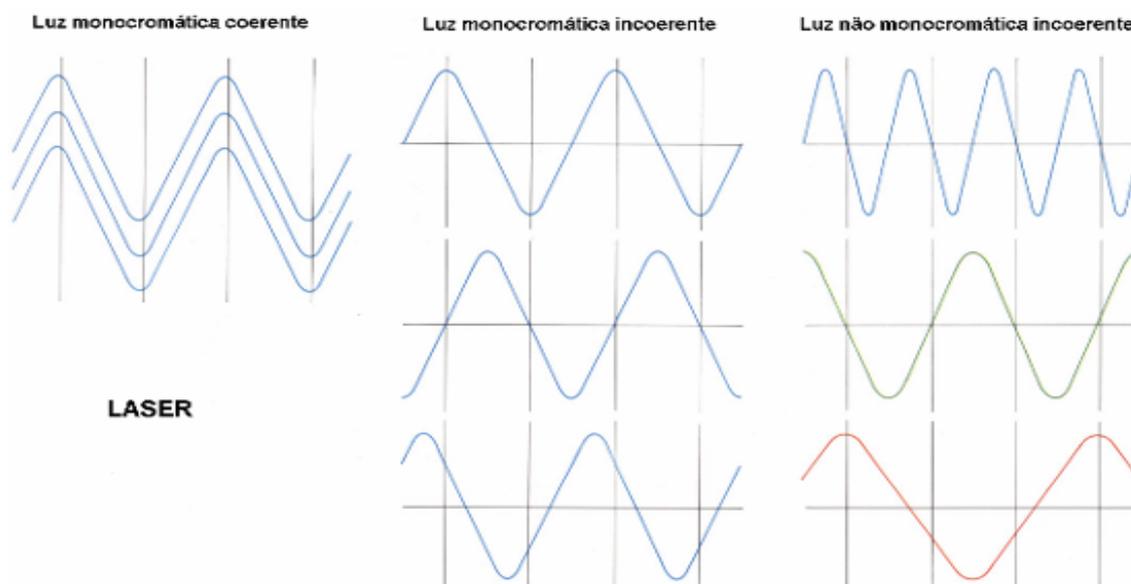


FIGURA.40 - Composição da luz: monocromaticidade e coerência, TAYLOR e FRENCH (1987) reproduzido por SILVEIRA (2001).

A direcionalidade é definida pela capacidade que essa luz possui de se propagar em uma única direção.

Quando a luz laser incide em um tecido biológico, uma parte da luz é refletida e o remanescente é transmitido, espalhado e absorvido por algum cromóforo absorvedor. Absorção, reflexão, transmissão e espalhamento são mecanismos resultantes da interação da luz com a matéria, ZEZZELL(1999).

INCROPERA e DEWITT (2003) definem a absorção como sendo um processo de conversão da irradiação interceptada pelo meio em energia térmica; a reflexão como redirecionamento da radiação incidente na superfície podendo ser especular e difusa e a transmissão como processo de radiação térmica passando através de um meio.

Depois de idealizada a teoria da emissão estimulada por Albert Einstein em 1917 que seria utilizada na construção do primeiro laser por Theodore Maiman em 1960, Goldman em 1961 fundou o laboratório de laser em Cincinnati, onde as primeiras experiências em animais foram realizadas, GOLDMAN (1990). A partir daí, diversos tipos de lasers foram construídos e hoje são classificados em dois grandes grupos: lasers de baixa intensidade e lasers de alta intensidade diferenciando-se basicamente no modo de atuação e quais efeitos podem resultar nos materiais ou tecidos.

Os lasers de alta intensidade também conhecidos como *Power Laser* ou laser cirúrgico (HILT – High intensity laser treatment), podem ser usados para coagulação, corte, vaporização e carbonização de acordo principalmente, com o efeito térmico promovido após a absorção do feixe pela matéria.

Os lasers de baixa intensidade, também conhecidos como *Soft Lasers* ou lasers terapêuticos (LLLT- Low level laser therapy or LILT – Low intensity laser therapy) são utilizados levando a uma interação que exclui a possibilidade de manifestação dos efeitos térmicos mensuráveis clinicamente sobre os tecidos, CRUANES (1984) e TRELLES (1990), resultando basicamente em efeitos fotoquímicos e fotofísicos.

Dentre os tipos de lasers de baixa intensidade mais utilizados estão os lasers de meio ativo sólido de diodo semiconductor (AsGa e AsGaAl) desenho esquemático na FIG 41; e os lasers de meio ativo gasoso (He-Ne).

Esses diodos são pequenos cristais, definidos como tipo P e N (FIG 41). Pequenos cristais tipo P (positivo) são compostos de mesmo material, mas dopado de um componente que, apesar de não tirar a sua estabilidade, cria uma série de ausências de elétrons definida como lacunas e se encontra na ordem de 10^{18} , enquanto que no cristal tipo N (negativo) a dopagem permite que

fiquem livres elétrons na ordem de 10^{19} que podem ser deslocados, MUNCHERYAN (1983) .Os dois cristais tipo P e N são posicionados, alinhados por um espaço muito pequeno denominado junção P e N. Quando se passa uma corrente elétrica neste componente P e N, elétrons livres transitam do cristal negativo para o positivo, ocupando temporariamente as lacunas , emitindo fótons a cada vez que cruzam a junção P-N.

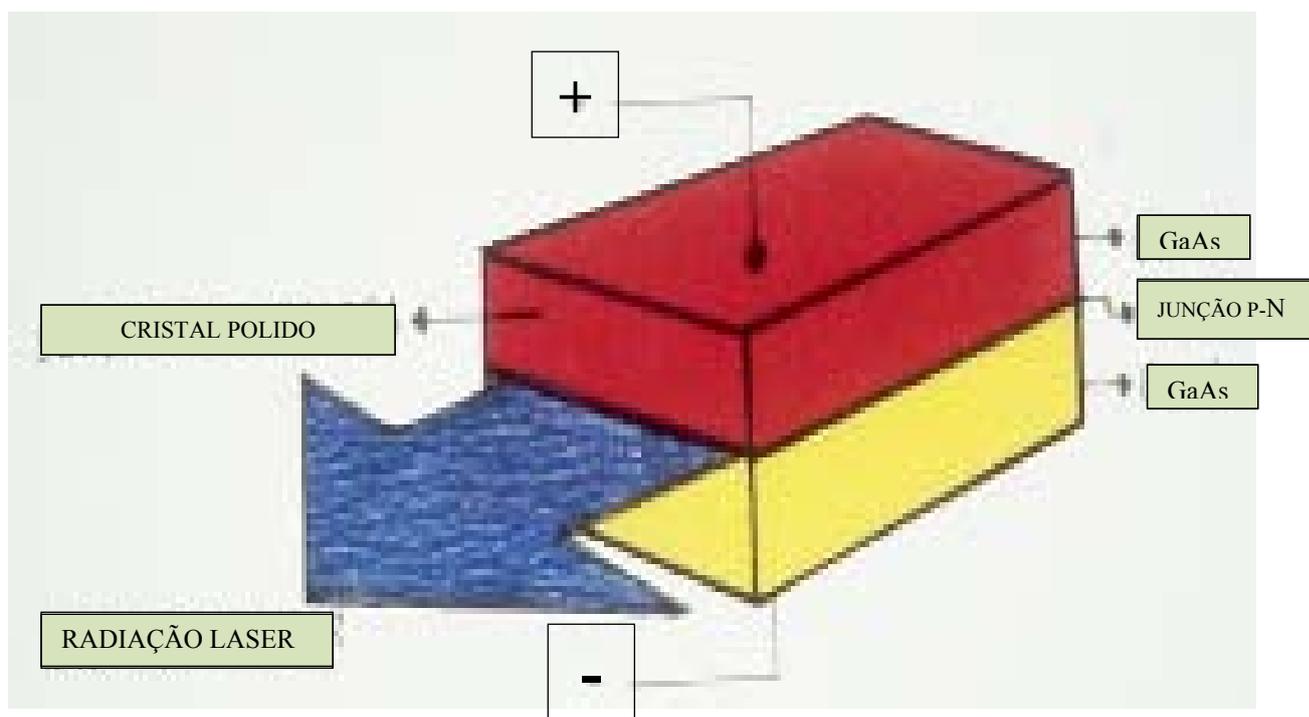


FIGURA 41 - Desenho esquemático de um Cristal laser semiconductor de diodo GaAs, CRUANES (1984), colorido por Silveira 2001.

A-2 Da Termocâmara

Os equipamentos de imageamento termal infravermelho geram imagens que são os termogramas. Para a análise dos termogramas é necessário ter conhecimentos básicos e fundamentais de temperatura, transferência de calor e do sistema de imageamento termal infravermelho (programa de obtenção e tratamento da imagem térmica),CORTIZO(2007).

Os sistemas infravermelhos tem por objetivo transformar a radiação infravermelha captada em informação térmica. Diversos tipos de sistemas foram desenvolvidos diferindo entre si, na forma de realizar a varredura da cena, no tipo de detector utilizado e na apresentação da informação. Esses sistemas podem ser radiômetros ou termovisores, VELOSO(2008).

Os termovisores são sistemas imageadores dotados de recursos para a análise e medição de distribuições térmicas e são compostos, em geral, de uma unidade de câmera e de uma unidade de vídeo (display).

A termocâmara é uma videocâmara, sensível à radiação infravermelha, capaz de ler à distância e de convertê-la em um sinal eletrônico, que posteriormente é elaborado sendo capaz de adquirir imagens e transferi-las de volta para ser impressa em termografia, produzir imagens de vídeo e realizar cálculos de temperatura.

O calor capturado por uma termocâmara pode ser quantificado com extrema precisão permitindo ao usuário o monitoramento da performance térmica e ao mesmo tempo identificar e quantificar a importância de problemas de natureza térmica. A técnica de medição de temperatura utilizada é sem contato.

As termocâmeras podem ser divididas em dois tipos: de observação (operações em escuridão absoluta e condições ambientais adversas, menos definição de imagem) e de medição,TAVARES (2006).

Capturando a radiação de superfície, são adquiridos os mapas de temperatura das áreas superficiais expostas (Termogramas) e é uma técnica freqüentemente utilizada em áreas científicas e também no exército. As termocâmeras são divididas entre radiométrica e não radiométrica. A primeira imagem permite medir o valor absoluto de temperatura em todo ponto. Na realidade, a imagem em uma matriz de um certo número de pixel é construída para um certo número de linhas. A eletrônica produz uma imagem em preto e branco ou em projeções de cores do objeto observado.

A escala monocromática de GREY vai do preto ao branco através de suaves variações de tonalidades de cinza e um tipo de escala policromática que vai do preto ao branco através de suaves variações de tonalidades de cores (violeta, azul, rosa, vermelho, laranja e amarelo) é a escala de IRON, VELOSO (2008). O mesmo autor relata ainda que o imageamento térmico é a forma de apresentação da informação térmica que permite a observação direta da distribuição de calor nos corpos estudados.

Entre as características que distinguem as Termocâmeras estão o campo fantasmagórico, tipo de sensor, resolução geométrica, sensibilidade e frequência.

O **Campo fantasmagórico** relaciona o comprimento de onda com tipos de objetos a serem observados, podendo ser classificado em: VIR- Infravermelhos próximos ao visível (não termométrico, usado para fotografia infravermelha e refletografia); SW- Infravermelho distante de onda longa (medidas de temperaturas elevadas, usadas para monitorar combustão de fornos); MW- Infravermelho médio (comparação de outras frequências para identificação dos objetos, usado em interpretação de imagens de satélites); LW- Infravermelho distante (medidas das variações de temperaturas ambientais, utilizadas em todas as aplicações terrestres); XLW- Infravermelho para microondas (temperaturas inferiores 250°K, usado para observações astronômicas).

Tipo de sensor: influencia diretamente em todas as características da termocâmera. Para aplicações comuns é atualmente usado um sensor tipo matriz microbolométrico claro embora existam sensores com maiores desempenhos de separação da matriz (esquadrinhamento mecânico) ou para matriz de pontos.

Resolução geométrica: como para as câmeras fotográficas digitais, a resolução geométrica da termocâmera influencia na qualidade da imagem e quantidade de informação adquirida. De acordo com as características podemos relacionar as indicações com as seguintes resoluções: 4x4 Pixels - próprio para substituir um pirômetro ótico; 120x140 a 160x160 pixels - próprio para medidas indicativas de manutenção preditiva ; 240x240 a 324x324 pixels - para manutenção e a maior parte das aplicações e de 500x500 ou superior quando há necessidade de resolução alta.

Sensibilidade: habilidade para distinguir menores diferenças de temperatura entre 2 pontos adjacentes, diretamente influenciadas pela cadeia de sensor de medida eletrônica de controle.

Frequência: aquisição de operação da aplicação, responsável pelas diferentes características das termocâmeras: 1) inferior a 20Hz - capaz de analisar fenômenos estáticos; 2) 20 Hz a 60 Hz - análise de sumário e eventos rápidos; 3) 60Hz a 2kHz - termocâmera para análise particular como lockin, estruturas de análise; (<http://it.wikipedia.org/wiki/Termocamera>) 2007.

Algumas termocâmeras incorporam muitas funções para facilitar o uso da ferramenta em ambientes industriais e civis, com possibilidade de memorizar comentários de texto, comentários vocais e fotografias na faixa do visível, FIG 42.



FIGURA 42 – Alguns modelos de termocâmeras.

Depois de capturada a imagem, ela é tratada por um programa de computador e interpretada de forma a identificar as mudanças de tonalidades da imagem, FIG 43. As diferenças de tonalidades acusam a variação de temperatura.

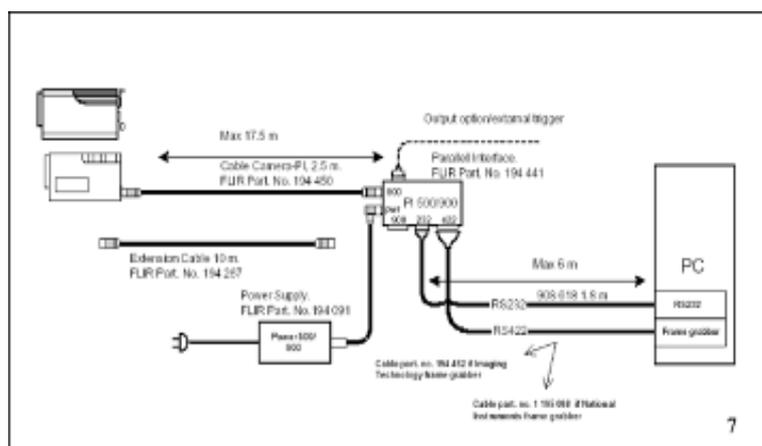


FIGURA 43 - Desenho esquemático do funcionamento de captura e transporte da imagem ao computador.

Considerando-se toda revisão de literatura realizada, para o experimento, utilizou-se a técnica de coleta do fluido através: da fita plástica (para realização de esfregação com objetivo de verificar a composição celular); do papel absorvente (para coleta e medição de volume de fluido com auxílio do Periotron); oriundo de tecidos gengivais que foram submetidos a irradiação laser de baixa intensidade com dois comprimentos de onda diferentes (vermelho e infravermelho). Finalmente a termografia foi utilizada para realizar a medição de temperatura dos tecidos gengivais, pois nesse caso não encontramos trabalhos que utilizassem termografia nesses tecidos.