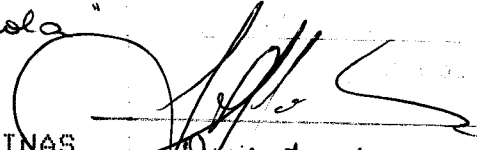


Este exemplar corresponde a redacção final da Tese apresentada em 27/07/84 pela médica Ester Maria Danielli Nicola.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

  
Orientador  
em, 27 de julho de 1984

CARACTERIZAÇÃO DE MICRO LESÕES PRODUZIDAS  
POR LASER DE CO<sub>2</sub>, NA MUCOSA ORAL DE CÃES,  
EM FUNÇÃO DA VARIAÇÃO DE PARÂMETROS  
INTRÍNSECOS DO EQUIPAMENTO.

Ester Maria Danielli Nicola

Tese de Doutorado realizada sob a orientação do Dr. Jorge Humberto Nicola, através de colaboração com Instituto de Física Gleb Wataghin e apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

Campinas, julho de 1984.

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

Caíram as chuvas, vieram as enchentes, sopraram os ventos, investiram contra aquela casa e ela não caiu pois está edificada sobre rocha.

Matheus, 7:25

Jorge,

estas frases foram colocadas num convite de casamento, talvez mais pelo aspecto poético de suas palavras, mas é com imensa felicidade que hoje, após 17 anos e três teses, comprovo que realmente a "CASA FOI CONSTRUIDA SOBRE A ROCHA".

A ti, com amor e muito carinho.

Alessandro e Rafaela,

filhos são sempre envolvidos nas dificuldades sentidas pelos pais. Agradeço a vocês a compreensão e principalmente o carinho que sempre me dedicaram.

À vocês, com todo o meu amor.

Atilio e Sila,

“Não é a carne nem o sangue, é o coração que nos faz pais e filhos.”

J.F. von Schiller

A vocês,

pelo imenso coração, que os faz pais no sentido pleno da palavra e pelo exemplo constante de fé, perseverança e disposição para enfrentar dificuldades, ofereço este trabalho.

Agradeço ao Dr. Jorge Humberto Nicola pela orientação segura e inteligente, embora, muitas vezes, adentrando áreas fora da sua formação como físico.

Muito obrigada.

A Erzeli Jacques de Lima (Palmeira) agradeço a preciosa e dedicada colaboração durante a composição deste trabalho.

A Paulo Henrique F. Nunes pelo incentivo constante e auxílio valioso durante a fase de coleta de dados, meus agradecimentos.

## AGRADECIMENTOS

- Ao Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da FCM - UNICAMP, nas pessoas do Dr. Reinaldo Wilson Vieira e Dr. Luiz Sergio Leonardi pelas facilidades colocadas à minha disposição e, ao Sr. Gomes S. Alvim e Srta. Rosana C. Morandi pelo auxílio técnico prestado.

- Ao pessoal técnico científico do Laboratório PRODELCO do IFGW pelo auxílio prestado durante diversas fases deste trabalho.

- Ao Departamento de Anatomia Patológica da FCM - UNICAMP, na pessoa do Prof. Dr. José Lopes de Faria, pela elaboração dos cortes histológicos, os meus sinceros agradecimentos.

- A Profa. Dra. Zoraide P. Arguello pelo inestimável auxílio dado ao colocar à minha disposição seu laboratório de Microscopia.

- Ao Prof. Dr. John D. Rogers pelo auxílio e amizade com que me distinguiu.

- A Srta. Roselis do Amaral Ferraz por auxílio técnico.

- As Dras. Beatriz Puzzi Taube e Luiza Hayashi Endo pelo estímulo e colaboração durante a realização desta tese.

- A todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram para a realização do presente trabalho.

## APRESENTAÇÃO

Em geral uma tese dispensa apresentação. A razão para violar esta regra não reside na tese propriamente dita, mas nos envolvimento havidos até a sua elaboração final, envolvimento estes que julgo dignos de nota.

Como ponto de partida lembro, por exemplo, que um laser cirúrgico, um tomógrafo, um estetoscópio ou um simples termômetro clínico são, para os olhos de um físico, um entrelaçado de leis, princípios, conclusões e indagações lógicas. Já, para os olhos de um médico são equipamentos que podem auxiliar em diagnósticos ou facilitar uma intervenção cirúrgica. Para um físico com um pouco de conhecimento da área médica, como para um médico com noções extras de física a visão é, naturalmente, diversa.

A presente tese baseou-se nesse tipo de visão. Portanto, ela é fruto de uma atividade interdisciplinar pura, onde físicos e médicos mantiveram as suas características sem tentarem constituir uma especialidade a parte.

Acredito que a semente, que agora germina na forma desta tese, foi plantada no início da década de 1970 quando o Dr. Ivo Kuhl propôs levar alguns cães para o laboratório de laser do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, onde eu trabalhava, para fazermos algum



tipo de experiência, a qual, sem dúvida teria sido pioneira. Considerei como impossível tal prática, já que laboratórios de óptica não permitem a mínima contaminação.

O meu envolvimento com a física pura, que era grande, não permitiu de imediato o desenvolvimento da idéia. Entretanto, a motivação serviu para envolver-me cada vez mais com aplicações médicas da física, iniciando com simples estudos de análise, por efeito Raman, de amostras provenientes do líquido sinovial de pacientes portadores de gota, até o conteúdo da presente tese.

Hoje eu presto homenagem a todos aqueles que procuram ou facilitam atividades interdisciplinares.

Assim, com satisfação, apresento esta tese como tendo, entre outros aspectos, o de união entre duas ciências que nasceram juntas mas que, por limitação humana, muitas vezes uma esquece a outra.

Jorge Humberto Nicola

## RESUMO

Faz parte do presente trabalho uma revisão histórica sobre laser em geral, sobre laser em medicina bem como sobre as aplicações específicas dos diferentes lasers na área médica. Com bases em uma analogia com a luz comum, procuramos, ainda, explicar um pouco o significado do laser.

Os efeitos imediatos da radiação infravermelha do laser de dióxido de carbono sobre a mucosa oral de cães são estudados em bases semi-quantitativas. Os dados apresentados e analisados foram obtidos em situações controladas de laboratório onde os limites de potência e tempo de exposição do laser restringiram-se aqueles de interesse para microcirurgias relativamente delicadas.

A sistematização dos dados, representada por mais de 12.000 observações e medições, permitiu a elaboração de um modelo de micro corte por laser caracterizado por parâmetros de mérito relacionados ao dano tecidual total.

A discussão dos efeitos da radiação sobre o tecido foi, sempre que possível, relacionada a parâmetros e propriedades físicas do instrumental laser e do tecido. Foi mostrado, por exemplo, que diferentes condutividades e absorções térmicas das estruturas componentes da mucosa podem causar descontinuidades no dano tecidual total.

Ao relacionar o dano tecidual com a energia

transferida ao tecido obtivemos resultados que concordam com as previsões, aqui formuladas, onde, por diferentes razões físicas, o tempo de transferência da energia laser pode alterar os efeitos obtidos, os quais podem resultar em simples eritema ou corte profundo com necrose térmica reduzida.

Para a análise dos dados de interesse foi necessária a formulação de padrões de reconhecimento e de medida a partir dos cortes histológicos obtidos. Alguns artefatos peculiares ao corte por laser foram identificados graças ao método de análise aqui utilizado, possibilitando a seleção de efeitos de real interesse.

O estudo restringiu-se a efeitos **imediatos** e em situações de **micro-interação** por considerarmos que o bom entendimento de tal problema poderá contribuir para a análise de efeitos cicatriciais ao longo do tempo, bem como para o estudo de lesões secundárias em microcirurgias nas diversas áreas da medicina.

## ABSTRACT

This work begins with a historical revision of lasers in general and more specifically with the use of lasers in medicine. The applications of different types of lasers in this area are discussed. An attempt to explain the concept of the laser is based on an analogy with ordinary light.

We then present semi-quantitative studies of the immediate effects of infrared radiation from a carbon dioxide laser on the oral mucus membrane of dogs. The data analyzed were obtained in controlled laboratory situations with power levels and exposure times restricted to values relevant to relatively delicate microsurgeries.

From systematic analysis of more than 12,000 individual measurements we have constructed a model for laser microsurgery characterized by parameters of merit related to total tissue damage.

Our discussion of the effects of radiation on the tissues studied is based, as far as possible, on the parameters and physical properties of the laser and of the tissue. For example, we were able to demonstrate that differing thermal conduction and absorption coefficients, for different structural components of the mucus membrane, can cause discontinuities in total tissue damages.

When tissue damage was related to the energy transferred to the tissues it was possible to confirm our theoretical model. This predicted that for various physical reasons the energy transfer times could change the qualitative nature of the effects observed, varying from simple erythema to deep cuts with reduced thermal necrosis.

In order to analyse the data of interest it was necessary to formulate patterns of recognition and measurement from the histological cuts we obtained. Several artefacts peculiar to laser cutting were identified thanks to the method of analysis used, which permitted selection of the most interesting effects.

The study was restricted to **immediate** effects in situations of **minimal interaction**, since we believe that a satisfactory understanding at this level can contribute significantly to the analysis of healing effects as a function of time, as well as to the study of secondary lesions in microsurgery in various areas of medicine.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1 - Introdução Histórica .....	2
1.2 - Laser na Biologia e Medicina .....	4
1.3 - Algumas Considerações Sobre o Laser no Brasil .....	9
1.4 - Laser e Luz .....	12
1.5 - Diferentes Tipos de Lasers e Suas Aplicações Específicas na Medicina .....	22
1.6 - Interação da Radiação Laser com o Tecido Animal .....	24
1.7 - Utilização do Laser como Instrumental Médico .....	32
2. OBJETIVO .....	41
3. MATERIAL E MÉTODO .....	44
3.1 - Material .....	45
3.1.1 - Equipamento .....	45
3.1.2 - Animal de Experimentação .....	50
3.2 - Método .....	53
3.2.1 - Fase Número 1 .....	53
3.2.2 - Fase Número 2 .....	54
3.2.3 - Grupo Controle .....	61

4. RESULTADOS .....	63
5. DISCUSSÃO .....	74
6. COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES .....	117
7. BIBLIOGRAFIA .....	123

\*\*\*\*\*

I N T R O D U Ç Ã O

\*\*\*\*\*



## INTRODUÇÃO HISTÓRICA

Historicamente o desenvolvimento do laser remonta a 1917 quando Albert Einstein apresentou pela primeira vez os conceitos de emissão estimulada, segundo os quais "partículas" de luz com energia específica poderiam estimular determinados elétrons atômicos a emitir radiação de frequência igual a da radiação incidente.

Em 1940 o físico soviético Fabrikant (1) observou que a intensidade da luz poderia ser intensificada através da exploração do fenômeno da emissão estimulada, comprovando a teoria de Einstein.

Entretanto, foi no período de 1953-1954, após o adequado desenvolvimento da Teoria Quântica, que Weber (2) (E.E.U.U.), Basov e Prokhorov (3) (União Soviética) e Townes (4) (E.E.U.U.) sugerem, independentemente, o uso da emissão estimulada na amplificação de microondas. Em 1958 houve reativação do interesse nesta área com a publicação por Shawlow e Townes (5) de um trabalho, sugerindo que os princípios básicos empregados na amplificação de microondas por emissão estimulada (MASER) poderiam ser aplicados a amplificação da luz (LASER). Este fato, associado a estudos subsequentes em Teoria Quântica Eletrodinâmica, levou Townes, Basov e Prokhorov ao recebimento do Prêmio Nobel de física em 1964.

Em 1960 Maiman (6), nos E.E.U.U., trabalhando em companhia privada, obteve sucesso na produção do primeiro laser de rubi operante. Javan (7) em 1961, também nos E.E.U.U., produziu o primeiro laser contínuo de hélio-neônio.

A partir de 1961 foi iniciado o estudo de uma grande variedade de gases como meio para produção de novos lasers. Vários outros materiais também passaram a ser estudados como possíveis meios ativos da ação laser. Em torno desta mesma época (1959-1961), Basow e Prokhorov (8) estabeleceram, na Rússia, as bases teóricas para produção de lasers de semicondutores, tendo o primeiro modelo experimental surgido em 1962.

Em 1963 C.K. Patel (9), nos E.E.U.U. trabalhando para os laboratórios Bell inventou o laser de dióxido de carbono. Este laser apenas três anos após a sua invenção já encontrava-se em fase comercial.

Simultaneamente aos fatos acima apresentados e a partir da invenção de Patel, vários outros estudos, teóricos e experimentais, por cientistas de várias comunidades, contribuíram para o estado atual do conhecimento e desenvolvimento dos lasers. Certamente muitos outros fatos históricos mereceriam ser citados aqui, entretanto, por conveniência, limitamo-nos aos fatos marcantes que interessam ao plano da presente tese.

## LASER NA BIOLOGIA E MEDICINA

As primeiras aplicações do laser na área Biomédica surgiram como consequência natural das características especiais da luz laser tais como: **monocromaticidade, alta potência, coerência e colimação**. Estas propriedades, bem como algumas generalidades sobre o laser propriamente dito, serão discutidas em parágrafo específico, onde será traçado um paralelo entre laser e luz comum.

Em Biologia Celular o laser surgiu como uma fonte de estudo nova e muito promissora. Neste caso, a **monocromaticidade** do laser desempenha um papel importante, permitindo o desenvolvimento de estudos comparativos entre efeitos biológicos com diferentes comprimentos de onda. A emissão de determinado comprimento de onda (**monocromaticidade**) proveu as bases para comparação com outros estudos, com comprimento de onda selecionados, como no caso de estudos em fotobiologia ultravioleta (10).

A **alta potência** do feixe laser possibilita que o material absorvedor possa ser seletivamente danificado ou destruído, com um mínimo de dano na região circunvizinha. Por outro lado, nos estudos efetuados em cultura de tecidos vivos, os pulsos de duração extremamente curtos do laser, permitem a irradiação através do microfeixe, de células em movimentação muito rápida (11).

Finalmente a alta **colimação** do feixe laser, consequência do fenômeno de coerência, permite a sua focalização em pontos com diâmetros de 1 a 2 comprimentos de onda. Este fato, associado ao acoplamento do laser ao microscópio óptico, permite a irradiação muito precisa de células particulares ou mesmo de determinadas estruturas intracelulares. Embora rude, a única forma de estudar funções celulares é por vezes destruir apenas uma determinada estrutura intracelular de tamanho micrométrico e observar este efeito nas futuras gerações de células.

Na Oftalmologia o laser encontrou uma de suas mais específicas formas de uso. A fotocoagulação ocular com luz solar e posteriormente, em 1950, com lâmpada de xenônio (12, 13), já se havia demonstrado eficaz porém aquém do que se pode obter com luz laser quando se pensa em termos de **ponto de focalização, tempo de exposição e ação específica** decorrente do uso de comprimento de onda adequado ao efeito que se quer produzir (14).

Na análise bioquímica, microespectroanálise e dosimetria por efeito Raman (15) com finalidade de identificação de macromoléculas, a utilização do laser mostrou-se extremamente eficaz.

Foi, entretanto, na cirurgia que o laser mostrou vantagens de uso até então não igualadas. As radiações dos laser de hélio-neônio e de rubi têm absorção pelo tecido,

Água ou sangue pouco intensa, portanto, seu efeito cirúrgico é pouco significativo. Entretanto, lasers como o de dióxido de carbono, argônio, criptônio, neodímio e outros, por razões diversas, obtiveram grande êxito no emprego cirúrgico.

O laser de dióxido de carbono, por emitir radiação na faixa do infravermelho longo (10,6 micrômetros) apresenta uma absorção tecidual muito grande e independente do tipo de tecido em questão, possibilitando sua utilização nos mais variados tipos de cirurgias com a vantagem de poder ser focalizado em pontos muito pequenos e precisos, determinando ainda uma quase ausência de sangramento. Devido ao comprimento de onda da radiação emitida, o laser de dióxido de carbono ainda não é usado com o auxílio de fibra óptica o que impossibilita a sua utilização em alguns tipos de endoscopias. Entretanto, o acoplamento do laser de dióxido de carbono ao microscópio cirúrgico (16), faz com que o mesmo seja um dos principais lasers utilizados nas microcirurgias. Mais recentemente, com a adaptação do mesmo a endoscópios rígidos foi possível a sua aplicação em procedimentos endoscópicos como broncoscopias (17), laparoscopias (18), cistoscopias (19).

O laser de neodímio cuja utilização cirúrgica vem crescendo nos últimos anos, também emite radiação infravermelha (1,06 micrômetros), porém muito mais próxima

do espectro visível, apresentando portanto, uma absorção tecidual menor do que a radiação do laser de dióxido de carbono mas ainda bastante intensa, com a vantagem de ser transmitida através de fibra óptica, o que possibilita uma maior versatilidade em suas aplicações endoscópicas (20, 21, 22, 23).

Os lasers de argônio, criptônio e outros, que emitem radiação na faixa de luz visível, apresentam aplicações cirúrgicas bem específicas (21, 24, 25, 26, 27). O laser de argônio emite luz verde-azulada com duas raias principais (4880 angstroms e 5145 angstroms), sendo extremamente bem absorvida por pigmentos vermelhos, pretos e outros. O laser de criptônio emite radiações em outra faixa do espectro visível, apresentando também absorção específica semelhante ao anterior. O fato da radiação destes lasers ser visível e apresentar absorção específica por determinados pigmentos, torna-os instrumentos de eleição em Oftalmologia, quando o objeto de cirurgia é o fundo do olho, podendo atravessar o meio ocular anterior sem causar lesão e ser focalizado em pontos muito diminutos da retina. Neste caso, além da densidade de energia conseguida no ponto ser muito grande, ocorre ainda a absorção seletiva pelo vermelho (hemoglobina) e preto (melanina). Apresentam portanto, estes lasers, aplicação de eleição nas retinopatias diabéticas, descolamento de retina, bem como outras patologias

retinianas (28).

Lasers de nitrogênio, com comprimento de onda em torno de 3371 angstroms, portanto na faixa do ultravioleta próximo são utilizados em pesquisas biomédicas, especialmente no estudo do DNA (29).

## ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE O LASER NO BRASIL

Como normalmente ocorre com novos equipamentos, o laser foi, de início, utilizado em pesquisa pura. No Brasil os primeiros grupos a usar tal equipamento foram os próprios físicos para fins puramente acadêmicos. O primeiro registro brasileiro de trabalho experimental com laser de que temos notícia é da UFRGS, onde foi desenvolvida uma Dissertação de Mestrado, em 1971 sob o título "Construção de um laser de He-Ne e uso para detecção do Efeito Faraday" (30). Especificamente na Otorrinolaringologia, área de nosso interesse, o primeiro grupo médico a possuir e utilizar um laser para cirurgias no Brasil, foi também na UFRGS em 1975, no Departamento de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina (31, 32, 33).

Como no caso das referências 31, 32 e 33 vários outros médicos, de diferentes áreas, trouxeram para o Brasil lasers, mas não publicaram de imediato os seus resultados em periódicos indexados, não sendo, portanto, possível apresentar aqui uma ordem cronológica fiel de tais introduções do laser no nosso país. Temos notícia de que a A.B.N.T. (Associação Brasileira de Normas Técnicas) está providenciando tal levantamento.

Trabalhos experimentais, com lasers de dióxido de carbono, vem sendo realizados desde 1980 na Unidade



Experimental de Raio Laser do Instituto de Ciências Biomédicas da USP. Este grupo encontra-se hoje solidamente estabelecido, contando também com ajuda interdisciplinar e com um laser de dióxido de carbono da Sharplan. Os trabalhos de pesquisa deste grupo foram realizados inicialmente em 1978 no Hospital Albert Einstein que dispõe de equipamento semelhante (34, 35, 36,37).

Atualmente, no Brasil, o número de lasers de argônio utilizados em Oftalmologia é relativamente grande e na endoscopia Cardio-Vascular sua utilização começa a ser desenvolvida (27, 38, 39). Existe ainda um número considerável de lasers de He-Ne e GaAsAl com aplicações em Acupuntura e Cosmetologia, principalmente facial, cuja divulgação aparece em revistas não científicas.

Todos os trabalhos acima referidos foram realizados com lasers importados. Entretanto, em 1980, por ocasião do XXV Congresso Brasileiro de Otorrinolaringologia, Canela, RS, foi apresentado o primeiro trabalho realizado com um laser de dióxido de carbono nacional (40). Tal equipamento constituía-se de um protótipo totalmente construído no laboratório Prodelco do Departamento de Estado Sólido do I.F.G.W. - UNICAMP com o qual foi realizado um trabalho experimental em mucosa oral de cobaia em colaboração com os Departamentos de Otorrinolaringologia e Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas desta

mesma Universidade.

O êxito obtido em tal trabalho levou os autores a continuarem suas pesquisas nesta área, culminando com a elaboração de um laser de dióxido de carbono nacional apto a ser utilizado em sala cirúrgica (41) e a criação de um **grupo de cirurgia experimental com laser**, de origem multidisciplinar (42, 43, 44, 45, 46), instalado no Núcleo de Medicina Experimental da FCM-UNICAMP, foi o que possibilitou a elaboração da presente tese. A criação deste grupo, bem como o apoio e facilidades operacionais colocadas a nossa disposição pelo Núcleo de Medicina Experimental da FCM/UNICAMP foram fatores decisórios para a elaboração da presente tese.

## LASER E LUZ

O fenômeno físico chamado luz é bastante conhecido de todos que gozam da propriedade de ver. São características primárias da luz a sua **intensidade e cor**. A intensidade de um feixe luminoso está associada ao número de fótons por segundo que chegam em uma dada área. O olho humano é capaz de detectar luz de intensidade de apenas uns poucos fótons por segundo focalizados através da íris. A mesma retina que detecta tal nível mínimo está capacitada a detectar intensidades da ordem de um trilhão de fótons por segundo sem danos permanentes. Isto corresponde a uma variação de 120 dB nas intensidades detectadas.

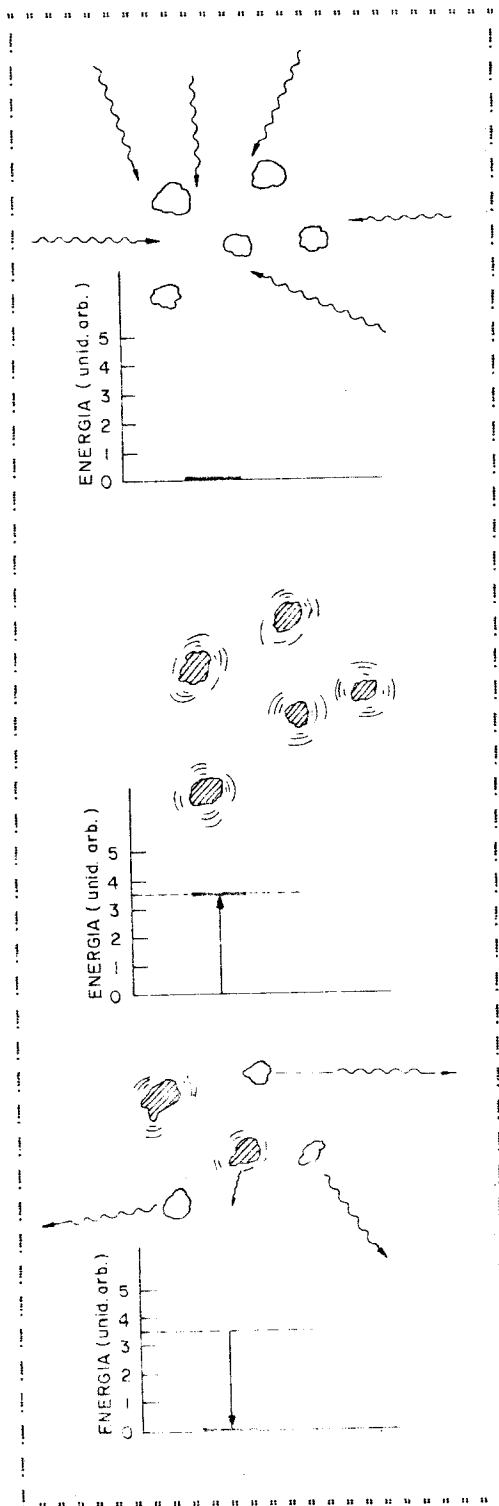
A sensação de cor existe graças à capacidade que o olho humano tem em diferenciar fótons de diferentes energias. A região do vermelho (menor energia) sensibiliza pouco o nosso olho, enquanto que a região do verde é a que melhor o sensibiliza. Por outro lado, as frequências que correspondem ao ultravioleta e ao infravermelho não causam sensação de visão.

O raio laser é um raio de luz, portanto, caracteriza-se primariamente por cor e intensidade. O que faz o raio laser diferente da luz comum são certas propriedades inerentes a um fenômeno chamado **amplificação de luz por emissão estimulada**. Qualitativamente podemos

entender a física deste fenômeno através do modelo simplificado que segue. Para tal iniciamos por recordar a mecânica da geração de luz comum por um sistema atômico ou molecular qualquer.

Um raio de luz, como o proveniente de uma lâmpada ou do sol é o resultado de várias transições eletrônicas espontâneas de níveis de energia previamente excitados, para níveis de energia mais baixos. Estes níveis representam estados energéticos permitidos de um sistema atômico ou molecular qualquer e são quantizados. A figura 1 mostra um esquema de energia de um sistema qualquer, bem como a sequência de eventos, desde a absorção até a emissão **espontânea** dos fótons. Por tratar-se de processo espontâneo, cada transição ocorre sem nenhuma correlação com as demais e como resultado temos milhões de "trens de onda" de cerca de um metro de comprimento, viajando com altíssima velocidade em todas as direções e sem qualquer relação de fase.

Quando um elétron é promovido para um estado excitado, como na figura 1b, ele tende a permanecer em tal estado por um tempo médio que é característico do sistema ao qual ele pertence. A volta deste elétron para o estado fundamental é portanto imprevisível e no máximo podemos afirmar que a emissão de fótons, decorrente de tal volta para o estado fundamental, ocorrerá preferencialmente dentro de um tempo médio característico do sistema (fig. 1c).



a - Sistema sendo excitado por energia externa.

Esquema de energia correspondente.

b - O mesmo sistema após a absorção de energia.

Esquema de níveis do sistema durante a absorção de energia.

c - Após um certo tempo o sistema emitiu ou está emitindo energia.

Esquema de níveis do sistema durante a emissão de energia.

Figura 1 - Absorção e Emissão Espontânea de Energia.

O raio laser é **ordenado**, isto é, as emissões provenientes de cada átomo são **forçadas** a ocorrer em uma única direção e além disto em instantes de tempo determinados pela "ordem" externa (Fig. 2). A forma como tal ordem é transmitida aos átomos excitados que estão prestes a emitir é um fenômeno físico "não clássico", isto é, não pode ser equacionado sem ajuda de princípios de Mecânica Quântica. Entretanto é possível ter-se uma visão leiga do fenômeno acreditando na seguinte acertiva:

"Um átomo excitado poderá emitir radiação **antecipadamente** caso um fóton, proveniente de outro átomo semelhante, passe por ele. A emissão dar-se-á durante tal passagem e o novo trem de onda incorporará-se ao trem de onda excitador, aumentando seu comprimento e aumentando sua amplitude na região em que os dois coincidirem".

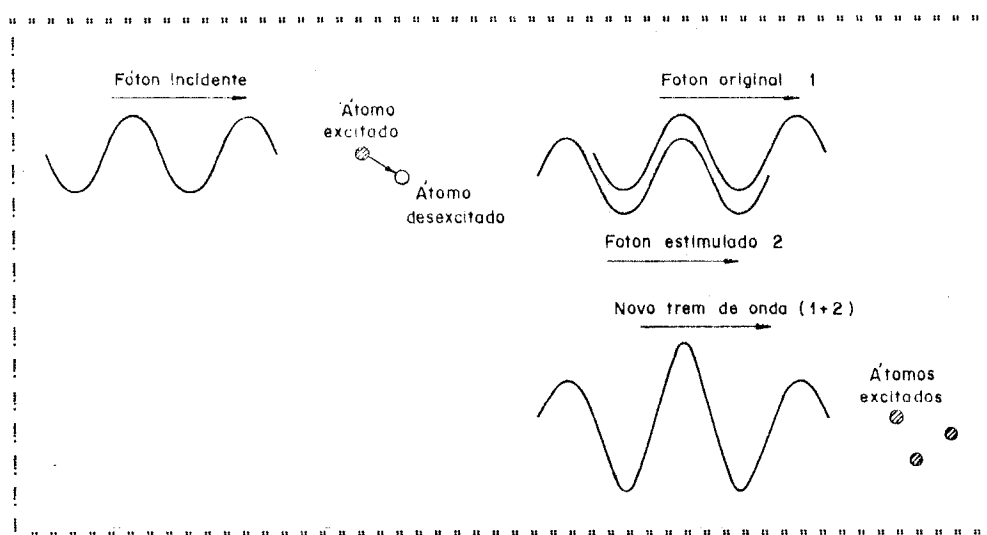


Figura 2 - Processo de Emissão Estimulada

Pela figura 2 pode ser visto que, se suprimos indefinidamente o caminho do fóton original com átomos excitados, o novo trem de onda crescerá em comprimento e aumentará em amplitude indefinidamente. Assim, a produção de átomos excitados é capital para a ação laser e isto é possível por diferentes processos físicos. Dentre estes processos os mais comuns, e de interesse para os lasers usados em medicina são:

a) **Absorção Óptica** - (lasers a neodímio, rubi e de corante). Neste caso, conforme a figura 3, a excitação do

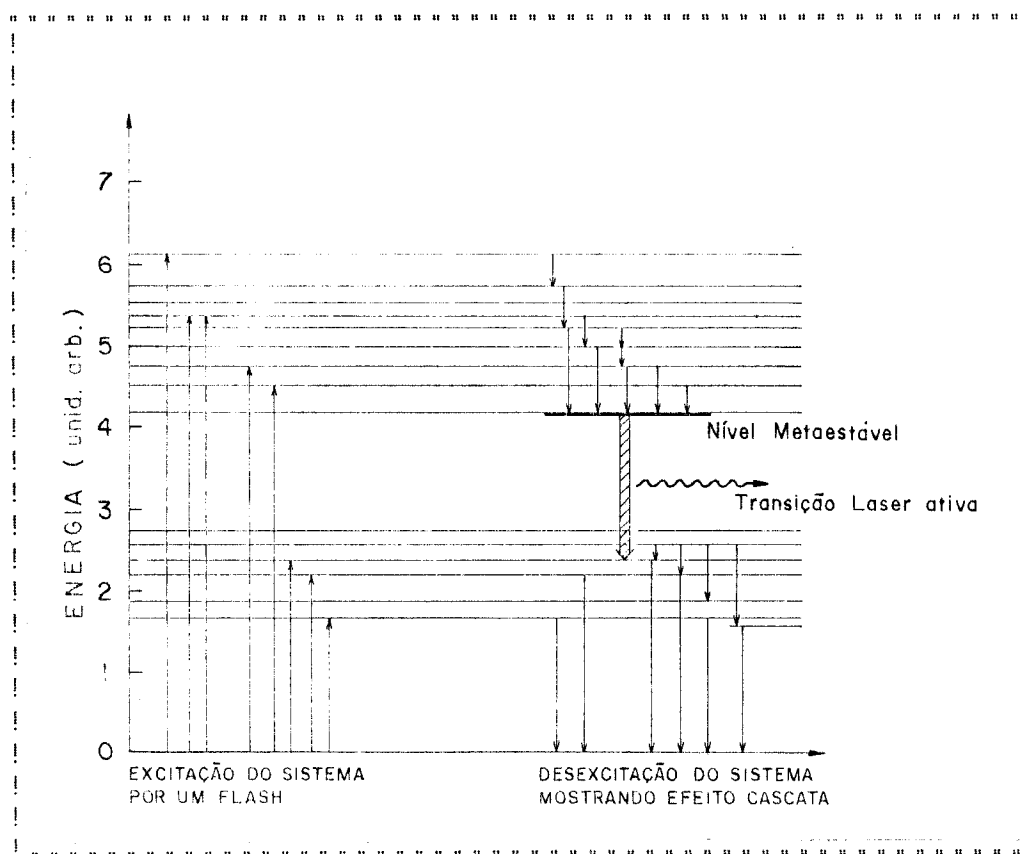


Figura 3 - Absorção Óptica.

meio ativo é feita por uma fonte de luz muito intensa, que pode ser um "flash" ou mesmo um outro laser. Os fótons da fonte excitadora são absorvidos pelo meio ativo, populando níveis energéticos diversos. Estes níveis são, em geral, instáveis e decaem espontaneamente por um processo tipo cascata até um determinado nível energético (nível metaestável) capaz de acumular grande quantidade de energia, emitindo-a quando estimulado, sob forma de um feixe laser. Os fótons da fonte excitadora, com energia inferior a do laser produzido, não são aproveitados.

b) **Descarga elétrica em gases** - (lasers de argônio, dióxido de carbono, He-Ne, criptônio e outros). Alta tensão é aplicada através de eletrodos em um meio, contendo um determinado gás ou mistura de gases. Os elétrons acelerados no meio, transferem sua energia aos íons, átomos ou moléculas do gás, populando níveis eletrônicos ou moleculares que após o acúmulo necessário de energia, vão emití-la sob a forma de laser.

Outro ponto importante para a obtenção do feixe amplificado é o comprimento do meio ativo, pois se este for curto, a onda que está crescendo escapa do volume dos átomos excitados e o processo cessa. Na prática resolve-se tal problema fazendo-se o trem de onda retornar ao meio original através de espelhos. A figura 4 mostra a sequência de eventos para obtenção de um feixe laser.



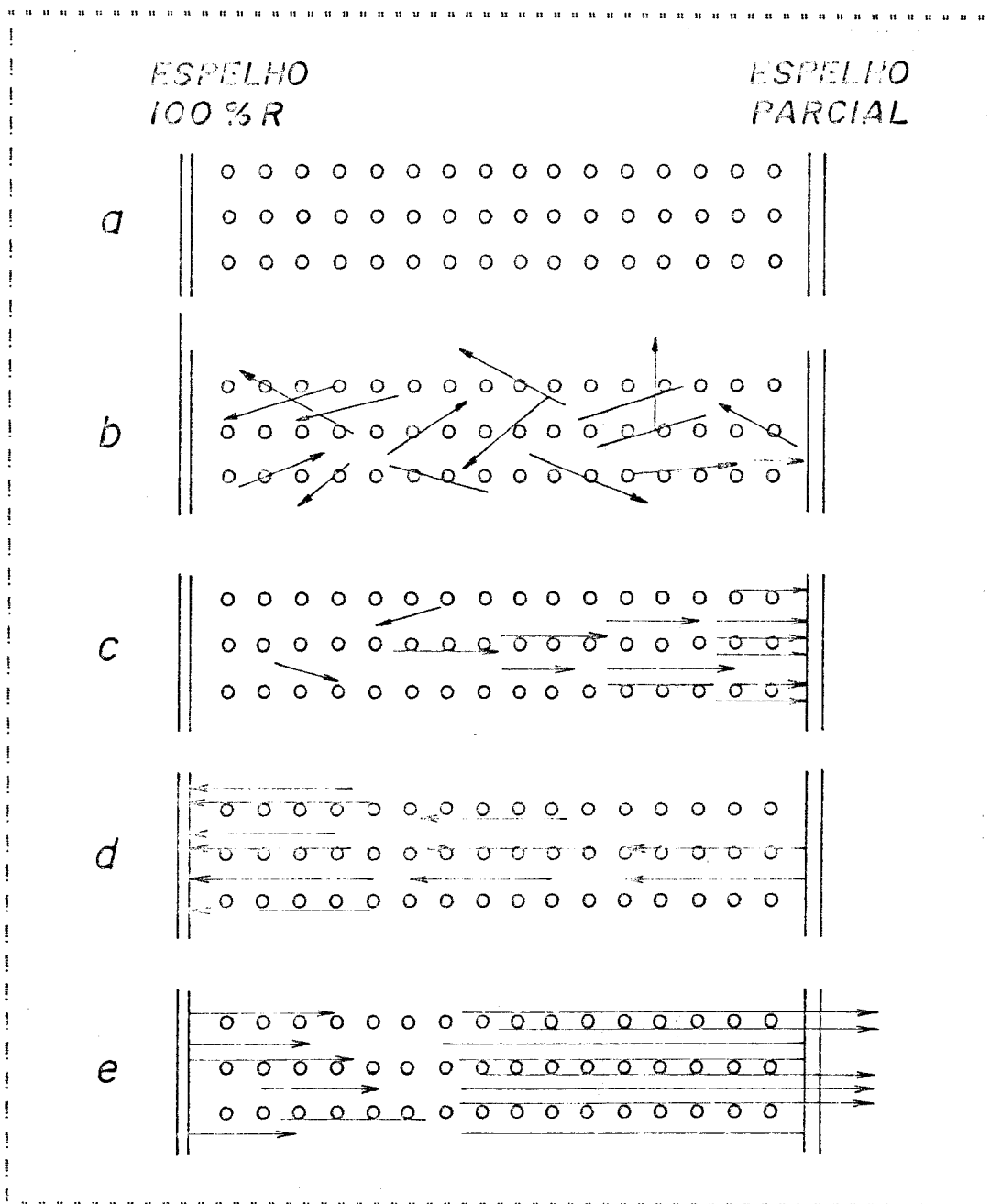


Figura 4 - Sequência de eventos para obtenção de um feixe laser através do uso de montagens e espelhos convenientes. R significa "refletor".

Em conclusão, o laser é uma fonte de luz monocromática que pode atingir altas intensidades, é coerente e tem um grau de colimação muito grande. Cada uma destas propriedades, em separado ou em conjunto com as demais, possibilita aplicações específicas e de grandes resultados (47).

A figura 5 mostra a comparação dos efeitos da luz comum e da luz laser quando focalizadas por uma lente.

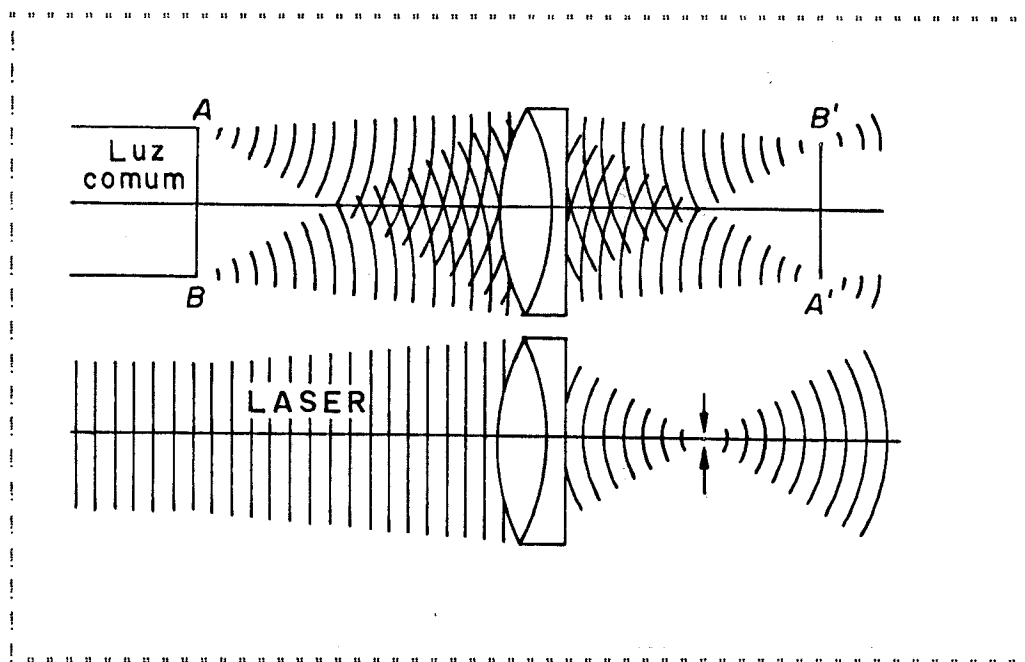


Figura 5 - Comparação dos efeitos de focalização, através de uma lente, da luz comum e da luz laser.

Cada ponto de uma fonte de luz comum é gerador de radiação em todas as direções do espaço, portanto, quando um feixe luminoso proveniente de uma lâmpada é focalizado, obtêm-se, em um plano focal, uma área extensa tão grande quanto a própria fonte de luz. Somente quando a lâmpada estiver suficientemente longe da lente é que a área de focalização será pequena, mas, neste caso a energia que chega na lente é também muito pequena.

No caso da radiação laser a focalização é mais efetiva uma vez que a colimação do raio é grande. Existe uma área ( $A$ ) mínima de concentração de energia que é função do comprimento de onda da radiação, bem como da abertura e distância focal da lente ( $f$ ).

A figura 6, na página seguinte, ilustra a focalização de um feixe laser por uma lente de distância focal  $f$ . Pode ser visto que existe um quase-cilindro centrado no plano focal, cujo comprimento ( $2b$ ) é função dos mesmos parâmetros mencionados acima.  $2b$  é chamado de profundidade de foco.

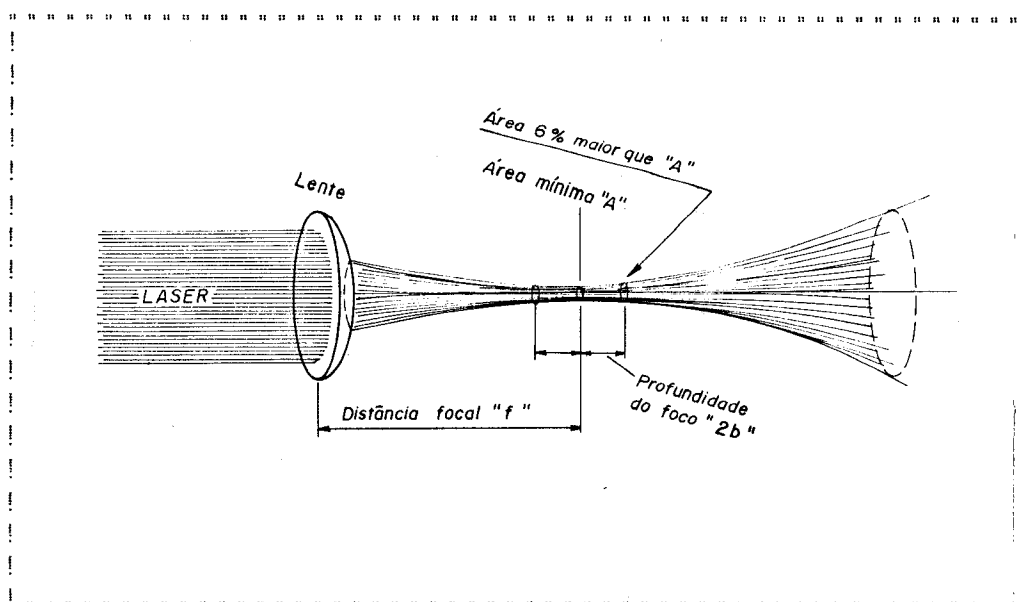


Figura 6 - Focalização de um feixe laser por uma lente de distância focal  $f$ .

## DIFERENTES TIPOS DE LASERS E SUAS APLICAÇÕES ESPECÍFICAS NA MEDICINA

No capítulo anterior foi traçado um paralelo entre luz e laser com a intenção de entendermos qualitativamente os conceitos da física do laser. Está intrínscico em tal conceituação a classificação dos lasers quanto a cor de sua radiação, bem como, quanto ao processo específico de geração do raio por eles emitido.

Sob o ponto de vista médico, elaboramos a Tabela i, apresentada a seguir, a qual representa uma tentativa de classificar os lasers mais comuns quanto as propriedades de interesse, tais como: **absorção tissular; modo de ação e aplicação.**

Em complemento aos dados da Tabela i temos a acrescentar que alguns lasers podem operar em regime pulsado extremamente rápido, chamado chave Q ou "Q switch" e são utilizados para algumas aplicações médicas, como por exemplo, na obtenção de perfurações muito pequenas na cápsulas da lente do olho (cristalino) em cirurgias de catarata. Esta forma de operação permite a concentração de grande quantidade de energia que pode ser transferida ao tecido em poucos nanossegundos, causando o efeito desejado.

TABELA 1  
Alguns Tipos de Lasers e suas Aplicações  
Específicas na Medicina

LASER	CARACTERÍSTICAS PRÓPRIAS	MODO DE TRANSMISSÃO	ABSORÇÃO TISSULAR / MODO DE AÇÃO	PRINCIPAIS APLICAÇÕES
CO <sub>2</sub>	- 10,6 μm (infravermelho) - 5 → 50 W	- Direto ao microscópio. - Braço articulado para endoscópio rígido, bisturi ou microscópio.	- Muito forte; para qualquer tecido. - Volatilização. - "Corte". - Cauterização.	ORI, Ginecologia; Dermatologia; Cirurgia Geral; Plástica.
Neodímio. (YAG, Vidro)	- 1,06 μm (infravermelho) - 5 → 50 W	- Fibra óptica para endoscópio flexível.	- Média; transmite-se para camadas profundas. - Volatilização. - Cauterização.	Endoscopias: Digestivas, Brônquicas, Urinárias. Oftalmologia: Glaucoma, Cataratas.
Argônio	- 0,4880 e 0,5145 μm (visível) - 2 → 5 W	- Fibra óptica para endoscópio flexível, bisturi e microscópios.	- Média e seletiva. - Volatilização. - Cauterização. - Luminescência	Áreas pigmentadas: Oftalmologia; Dermatologia; Plástica; Endoscopias.
Criptônio	- 0,5682 μm (visível) - 2 → 5 W	- Fibra óptica para endoscópios e microscópios.	- Média e seletiva. - Volatilização. - Cauterização	Oftalmologia.
Rubi	- 0,6943 m (visível) - 5 W (pulsado)	- Fibra óptica para microscópios	- Média. - Cauterização	Oftalmologia (atualmente em desuso)
He-Ne	- 0,6943 μm (visível) - 5 mW	- Fibra óptica para "bisturi"	- Média; transmite-se para camadas profundas. ?	Inflamações crônicas (?) Acupuntura (?) Cosmetologia (?)
Arsenito de Gálio-Alumínio.	- 08350 μm (infravermelho). - 5 W (pulsado).	- Direto e com fibra óptica.	? ?	Inflamações crônicas (?). Acupuntura (?) Cosmetologia (?)
Corante. (D/E)	- Variável. (Rodamina= amarelo ao vermelho)	- Fibra óptica para microscópios	- Variável (média) - Cauterização. - Luminescência	Neoplasias malignas (PRT).

## INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO LASER COM O TECIDO ANIMAL

Parte da luz incidente em uma superfície qualquer é refletida. Esta regra é válida sempre e em particular para os tecidos vivos. A fração não refletida será absorvida ou transmitida através do material. Assim a equação:

$$\begin{aligned} \text{intensidade da luz incidente} = \\ & \text{intensidade da luz refletida} \\ + & \text{intensidade da luz transmitida} \\ + & \text{intensidade da luz absorvida,} \end{aligned}$$

que sintetiza o que foi dito acima, é o ponto de partida para o entendimento da interação da radiação laser, que também é luz, com o tecido animal.

A fração **refletida** da radiação representa perda e até mesmo perigo para o operador, sendo, portanto, um fator cuja minimização sempre é desejável. No caso particular da pele humana existem algumas medidas de refletividade, cobrindo grande parte do espectro ultravioleta, visível e infravermelho. A figura 7 na página seguinte representa uma síntese de medidas de refletividade da pele humana obtidos por Buettner (48), Hardy et al (49) e Jacques et al (50) na qual é ressaltado o efeito da pigmentação tissular na região do espectro visível e infravermelho próximo.

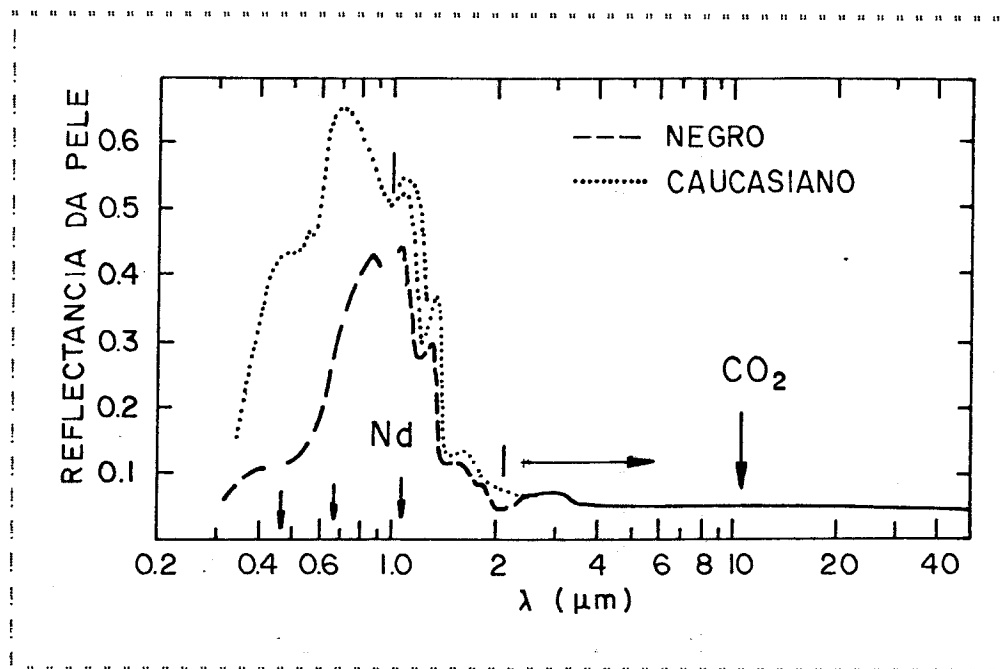


Figura 7 - Sômula gráfica dos dados conhecidos da refletividade da pele humana, em função do comprimento de onda da radiação. As marcas entre 0,4 e 1,0 micrômetros referem-se as radiações dos lasers de argônio e rubi. As radiações dos laser de neodímio e dióxido de carbono também são mostradas.

A transmissão da radiação é importante quando se deseja ação em camadas abaixo da superfície sem que ocorram danos no meio que se interpõe entre estas camadas e a fonte de radiação. Em geral não existe meio que somente transmita a radiação.



A intensidade da radiação ao longo de um meio transmissor segue a lei exponencial conhecida do tipo:

$$I = I_0 \exp(-ax)$$

onde  $I_0$  é a intensidade inicial,  
 $a$  é uma constante característica a cada tecido,  
 $x$  é a distância entre a superfície do tecido e o ponto onde queremos observar o efeito da radiação,  
 $\exp$  é a base dos logaritmos neperianos cujo valor é 2,718...

A figura 8, na página seguinte, é uma representação gráfica do que foi dito acima, na qual a linha pontilhada refere-se a um tecido sem nenhuma descontinuidade na concentração de pigmentos. A linha cheia representa a absorção pelo mesmo tipo de tecido porém, contendo uma área de concentração de pigmentos na profundidade  $x=2$  (unidades arbitrárias). Neste caso a intensidade da radiação, que vinha decaindo suavemente segundo a lei exponencial, ao atingir a zona pigmentada passa a ser fortemente absorvida, ocasionando, então, efeitos de cauterização como no caso das retinopatias diabéticas ou vaporização no caso de lesões pigmentadas.

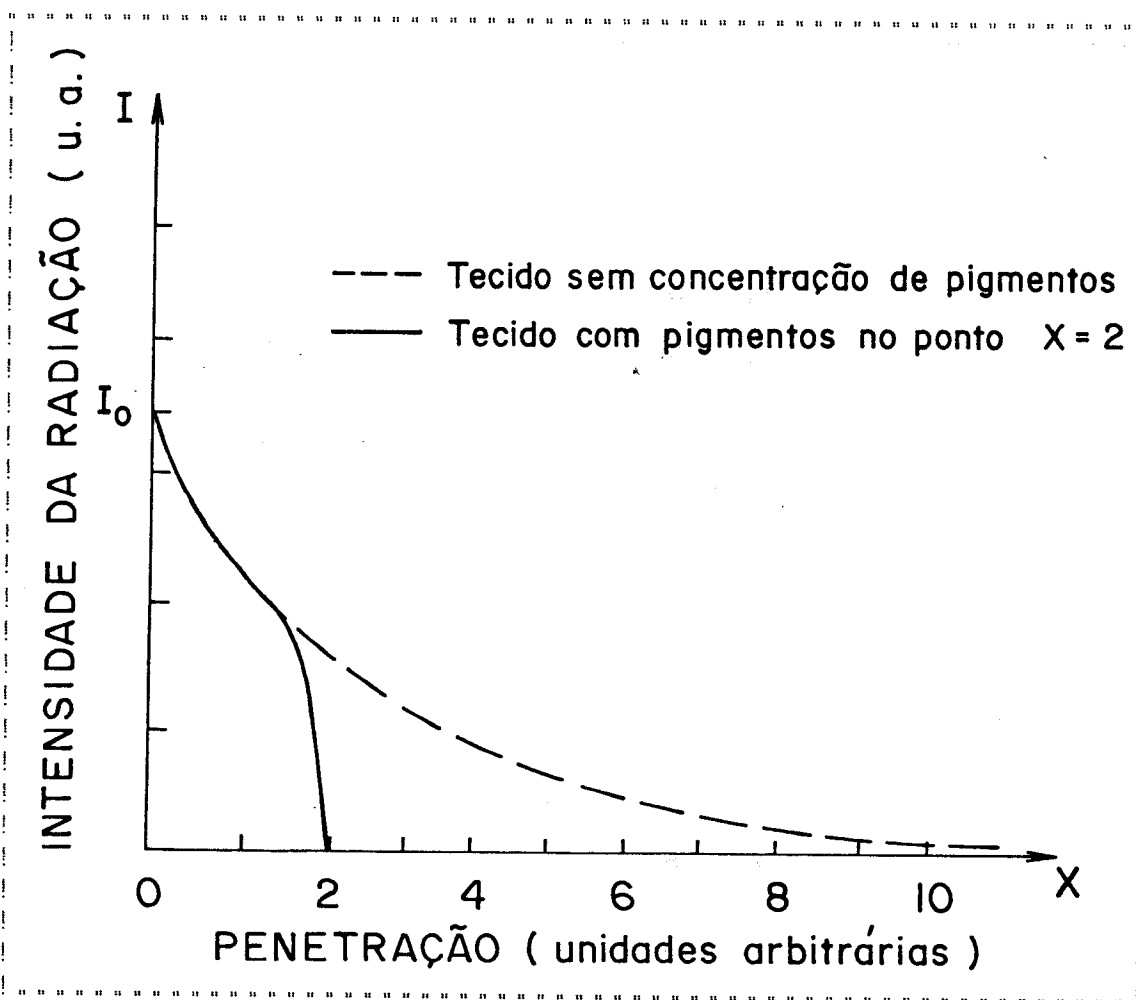


Figura 8 - Representação gráfica do decréscimo da intensidade de radiação ao penetrar tecido pouco pigmentado (linha interrompida) e tecido com pigmentos (linha cheia) na profundidade  $x=2$  unidades arbitrárias (u.a.).  $I_0$  representa a intensidade da radiação ao chegar na superfície do tecido ( $x=0$ ).

A fração absorvida da radiação pela superfície é importante para efeitos de perfuração, corte ou irritação

superficial de tecidos com finalidades diversas. A absorção, como a reflexão e a transmissão é fortemente dependente da região espectral em estudo.

A figura 9 é a representação da penetração e absorção de diferentes comprimentos de onda (cor) num corte de pele (51) onde observa-se que a radiação de cor vermelha e a radiação infravermelha próxima tem penetração relativamente grande, conseguindo atingir camadas sub-cutâneas com cerca de 21% da intensidade inicial. Radiações correspondentes ao ultravioleta e infravermelho longínquo são integralmente absorvidas desde as camadas mais superficiais.

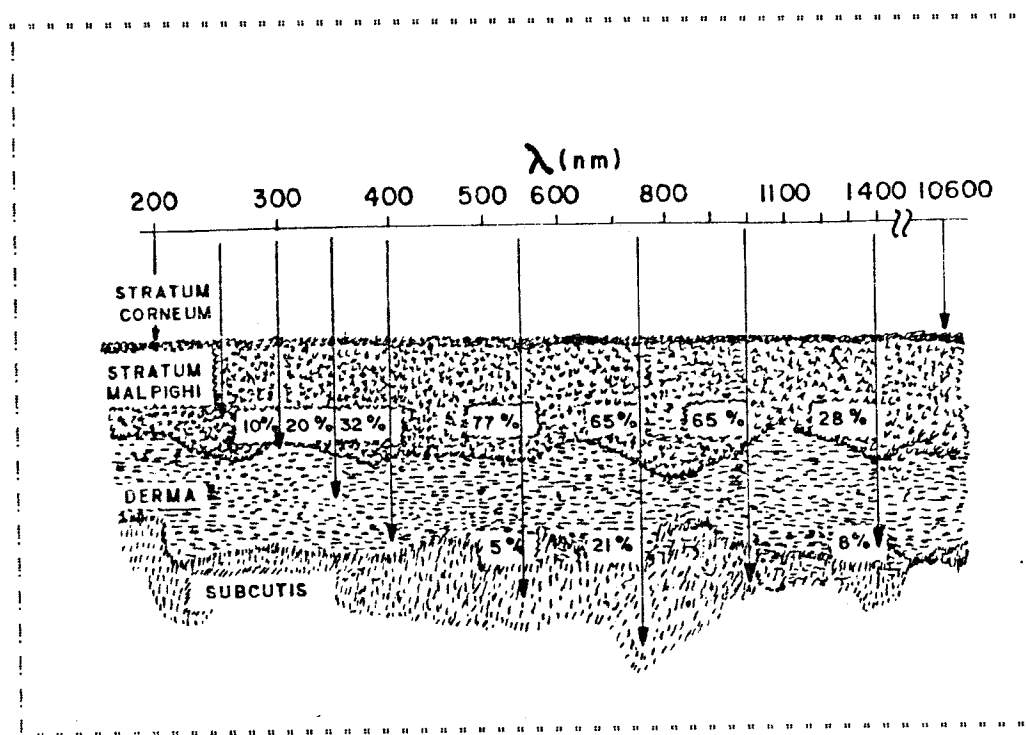


Figura 9 - Ação de diferentes comprimentos de onda sobre a pele humana.

Sob o ponto de vista microscópico vários são os aspectos que devem ser considerados para o modelo da interação da radiação com o tecido vivo. Um estudo extensivo de tal modelo não cabe no presente trabalho, basta apenas chamarmos a atenção para o fato de que o número de variáveis a serem tratadas em tal análise, tais como características do tecido e condições físicas externas (cor, ângulo de incidência, temperatura) é muito grande.

Estudos dos efeitos da radiação sobre o tecido animal, como os citados acima, foram desenvolvidos principalmente por pesquisadores ligados a área de proteção ao trabalho em indústrias e exército. Inicialmente foram considerados apenas tempos de exposição relativamente longos, isto é, no mínimo igual ao tempo do reflexo próprio do indivíduo. Os lasers, entretanto, possibilitam tempos de exposição de até fentossegundos (um quatrilionésimo de segundo). Estudos da ação de tais pulsos sobre a pele humana são relativamente raros, havendo a necessidade de confiarmos em dados de relatórios como os da Tabela 2 (52).

Na Tabela 2, MRD 50 significa "Minimal Reactive Dose" ou dose mínima (de energia radiante) capaz de causar uma reação observável em uma área de tecido com diâmetro de 50 micrômetros.

TABELA 2

Valores Conhecidos de MRD-50 (Joule por centimetro quadrado)

Tipo de Laser	Método de Obtenção	Comprimento de onda (nm)	Tempo de Exposição	MRD
Rubí	Normal	694,3	2,5 ms	
	Humano (c)			11-20
	Humano (n)			2,2-6,9
	Q-switched	694,3	75 ns	
	Humano (c)			0,25-0,34
	Humano (n)			0,25-0,30
Ar	Normal	488,0-514,5	1,0 s	
	Humano (c)			4,8-8,2
	Humano (n)			4,5-6,0
CO <sub>2</sub>	Normal	10.600	1,0 s	
	Humano (c)			2,8
	Humano (n)			2,8
	Suíno branco			3,0
			1,0 ms	1,0
	Q-switched	10.600	1,4 ns	
	Suíno branco			0,23
Nd:vidro	Q-switched	1.060	75 ns	
	Humano (c)			4,2-5,7
	Humano (n)			2,6-3,0
Nd:YAG	Normal	1.064	1,0 s	
	Humano (c)			48-78
	Humano (n)			46-60

MRD 50 - Veja explicação no texto.  
 c - caucasiano.  
 n - negro.

Nos dados mais completos da Tabela 2, que se referem aos lasers de rubí e de dióxido de carbono, observa-

se um fato curioso. No caso do laser de rubi a MRD 50 diminui desde um valor médio de  $15,5 \pm 4,5$  Joules por centímetro quadrado até aproximadamente  $0,29 \pm 0,05$  Joule por centímetro quadrado quando o tempo de ação do laser diminui seis ordens de grandeza! Os valores tabelados de MRD 50 para o laser de dióxido de carbono em pele de suíno, apresentam uma tendência semelhante, isto é, a MRD 50 cai de 3 Joules por centímetro quadrado para 1 Joule por centímetro quadrado quando a duração do pulso cai de 1 segundo para 1 milissegundo. Ainda, pulsos de 1,4 nanossegundo, carregando uma energia de somente 0,23 Joule por centímetro quadrado causam o mesmo efeito. Estes dados experimentais, apesar de escassos, nos chamam a atenção para o fato de que o dano tecidual é causado, primariamente, pela velocidade de transferência de energia ao tecido e não pela energia total recebida em uma dada área.

O que chamamos de velocidade de transmissão de energia é, em última análise, a potência de radiação medida em Joule por segundo ou Watt. Como as dimensões da área em estudo também devem ser fixadas, resulta que a grandeza física de real importância é Watt por centímetro quadrado, ou densidade de potência.

O entendimento deste fenômeno é desejável para que sejam possíveis previsões de tratamento com laser em situações diversas.

## UTILIZAÇÃO DO LASER COMO INSTRUMENTAL MÉDICO

A utilização do laser como bisturi cirúrgico é prática bastante difundida e sua eficácia é bem comprovada. Entretanto, a utilização terapêutica do mesmo, fora do âmbito experimental, só há poucos anos é que passou a ser desenvolvida (21, 53).

A escolha do laser para uma determinada aplicação, tanto cirúrgica como terapêutica ou mesmo diagnóstica, depende de fatores inerentes ao tipo de efeito que se quer obter, bem como, das características próprias do laser ao qual temos acesso. Muitos autores utilizam um determinado tipo de laser por ser este o único disponível, devendo, porém, neste caso, respeitar as limitações do equipamento em questão.

As radiações não ionizantes como a ultravioleta próxima, a visível e a infravermelha, causam efeitos térmicos graças à absorção pelo tecido dos fótons de alta energia, provenientes do feixe laser e a subsequente transformação em calor. A eficiência deste processo difere para diferentes comprimentos de onda e diferentes tecidos, conforme discutido no capítulo anterior.

Quanto a ação específica sobre o tecido, os lasers podem ser divididos em dois grupos:

- os que emitem radiação visível
- os que emitem radiação invisível.

No primeiro grupo temos os lasers de argônio, He-Ne, criptônio, rubi, corante e outros. Estes lasers por emitirem luz visível apresentam absorção seletiva, isto é, dependente da cor (pigmento) do tecido sobre o qual estão incidindo. Resulta daí a sua importância em especialidades como Oftalmologia, Dermatologia e Cirurgia Plástica.

A utilização dos lasers de rubi, argônio e criptônio em Oftalmologia já foi citada anteriormente, restando apenas frisar a ação específica decorrente da cor da luz emitida, exemplificada pela diferença na ação do laser de rubi quando comparada a dos lasers de argônio ou criptônio para retinopatias diabéticas. O laser de rubi emite radiação vermelha (6943 angstroms) que é muito bem absorvida pelo pigmento preto (melanina) da retina, porém sua absorção pelo vermelho é pobre e por conseguinte, se quisermos utilizá-lo para a coagulação de vasos, devemos usar potência muito alta, o que determina dano tecidual indesejável em torno da área de aplicação do laser. Isto não ocorre com irradiações de laser de argônio e criptônio cujas frequências são muito bem absorvidas pela hemoglobina que é vermelha.

Lesões pigmentadas como hemangiomas, nevos



vinhosos ou mesmo tatuagens, respondem muito bem a aplicação de laser de argônio (54, 55, 56), o mesmo acontecendo com lesões hemorrágicas tais como úlceras do trato digestivo, varizes esofágicas e outras que podem ser muito bem operadas com o laser de argônio através de fibra óptica (57).

Mais recentemente os lasers de corante vem sendo utilizados tanto no diagnóstico como no tratamento de tumores malignos localizados em diversas áreas do organismo (brônquios, cêrvix, cólon, pele, laringe)(58, 59, 60, 61). Esta técnica baseia-se na reação fotoquímica entre um derivado da hematoporfirina (HpD), injetado I.V., e a luz vermelha (6300 angstroms) de um laser de corante ("dye laser"). O HpD localiza-se preferencialmente nas células malignas, resultando na sua destruição seletiva quando iluminadas pela luz vermelha (6300 angstroms) do laser de corante.

Quanto aos lasers que emitem radiação invisível podemos citar o de dióxido de carbono e o de neodímio, como sendo os de maior utilidade na medicina.

O laser de dióxido de carbono é atualmente o mais difundido no meio médico, sendo o seu campo de ação muito extenso. A radiação infravermelha por ele emitida é extremamente bem absorvida por todos os tipos de tecido, independente da pigmentação, sendo quase que totalmente transformada em calor. Tem uma aplicação muito grande tanto

quando se trata da ablação de grandes áreas de tecido, bem como nas microcirurgias. Como a radiação emitida pelo laser de dióxido de carbono não pode ser conduzida via fibra óptica, alguns subterfúgios técnicos devem ser utilizados a fim de facilitar e dar segurança ao seu emprego. No caso das **macrocirurgias** (cirurgias gerais, cirurgias plásticas) o mesmo deve ser acoplado a um braço articulado, que através de um conjunto de espelhos refletores leva a radiação desde a sua emergência do laser até o tecido a ser operado. A desvantagem desta técnica é a perda de energia que decorre da reflexão nos diversos espelhos que compõem o braço articulado, o que obriga ao uso de lasers de maior potência de saída do feixe (34, 35, 36, 37, 62, 63, 64).

Nas **microcirurgias**, temos que utilizá-lo acoplado a um microscópio cirúrgico e, novamente, por ser a radiação invisível, devemos nos valer de um dispositivo adaptado ao laser e ao microscópio, chamado micromanipulador o qual contém um ponto luminoso, coaxial com o feixe laser e que nos permite pré-determinar o ponto em que o laser, uma vez acionado o aparelho, vai incidir sobre o tecido.

A associação do laser de dióxido de carbono ao microscópio cirúrgico teve seus primórdios em 1970 com Jako e Polanyi (16) que a utilizaram experimentalmente em laringe de cães. Esta técnica foi expandida para diversas cirurgias na área da Otorrinolaringologia bem como Neurocirurgia,

cirurgias urológicas e ginecológicas tendo se mostrado de inestimável valia (40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 65, 66, 67, 68).

O laser de dióxido de carbono é também muito utilizado em cirurgias endoscópicas, tais como esofagoscopias, broncoscopias, cistoscopias e laparoscopias onde um endoscópio rígido é, então, adaptado a um braço articulado e ao laser (17, 18, 19, 21).

Ainda no grupo dos lasers não visíveis, temos, mais recentemente o laser de neodímio. A radiação emitida por este aparelho, embora, também infravermelha, é bem mais próxima do visível (1,06 micrômetros), quase na raia do vermelho. Tem, portanto, uma absorção tecidual menor que a da radiação do laser de dióxido de carbono, porém ainda muito eficiente do ponto de vista de ablação do tecido. A grande vantagem deste laser, sobre o de dióxido de carbono, é que a radiação emitida pelo mesmo pode ser conduzida por fibras ópticas, o que permite a sua utilização em cirurgias endoscópicas de difícil ou mesmo impossível acesso por endoscópio rígido (21).

A transmissão da radiação do laser de neodímio pelas diversas camadas do globo ocular é relativamente grande, o que permite a sua focalização em planos internos do olho, produzindo ali ação de necrose tecidual. Este fato é importante para aqueles procedimentos cirúrgicos em que o

o cirurgião quer atingir apenas a cápsula posterior do cristalino sem que ocorra dano nas porções anteriores do mesmo, o que é conseguido através do uso de lentes de focalização adequada que permitem a concentração de energia necessária ao efeito cirúrgico, apenas na área citada acima.

Os lasers de ultravioleta também emitem radiação não visível mas têm aplicação médica extremamente restrita, porque a radiação por eles emitida é do tipo ionizante e portanto, potencialmente cancerígena.

Do ponto de vista cirúrgico, os lasers apresentam vantagens que são comuns a todos eles, independente do comprimento de onda emitido e que serão enumerados a seguir:

- **Ausência quase total de sangramento**, uma vez que o laser, a medida que corta, cauteriza vasos de pequeno calibre. Este fato permite a extirpação de grandes volumes de tecido ou de tecidos altamente hemorrágicos ou mesmo cirurgias em pacientes hemofílicos com um grau de segurança muito grande.

- **Devido ao alto grau de colimação** do feixe laser é possível atingir-se áreas muito restritas, o que o torna um instrumento muito útil nas microcirurgias ou quando há necessidade de preservar estruturas nobres muito próximas às áreas operadas.

- A lesão tecidual em torno da área excisada é mínima, sendo que em muitos casos, o halo de necrose coagulativa que resulta da aplicação do laser pode abranger apenas 10 camadas de células (66, 69, 70). Como consequência disto, a reação inflamatória pós-cirúrgica é extremamente reduzida, permitindo uma recuperação funcional do paciente muito rápida e permanência hospitalar reduzida (71, 72). Este fato se reveste de grande importância naquelas patologias recidivantes e que, conseqüentemente, requerem intervenções cirúrgicas repetidas como é o caso da papilomatose de laringe.

- As sequelas cicatriciais nas cirurgias realizadas com laser podem ser mínimas, justificando, portanto, a sua grande difusão em Dermatologia e Cirurgia Plástica.

- Por se tratar de um feixe de luz (energia), o bisturi laser não toca o tecido, diminuindo, assim, risco de contaminação durante o ato cirúrgico.

- Devido a grande quantidade de energia e alta temperatura, a área incidida pelo laser, é esterilizada a medida que ocorre a ablação tecidual. Este efeito é bastante explorado no caso de grandes queimaduras, onde há a

necessidade da ressecção de amplas superfícies de pele (área, em geral, altamente contaminada) sendo que com o uso do laser o enxerto já pode ser colocado a medida em que a área necrosada vai sendo ressecada.

- Finalmente, aproveitando as propriedades de reflexão da luz, inerentes ao feixe laser, podemos através do uso de superfícies refletoras apropriadas, abordar cirurgicamente **áreas de acesso muito difícil** como é o caso do rinofaringe. Lesões localizadas nesta área, bem como outras, fora do campo visual direto do operador, podem facilmente ser extirpadas fazendo-se com que o feixe laser, incidindo sobre um pequeno espelho (geralmente uma superfície metálica) vaporize ou resseque a área desejada.

A despeito de todas as vantagens enumeradas acima, o laser também apresenta alguns **riscos potenciais**. No que se refere a equipe médica, o principal risco é o de reflexões indesejadas do feixe laser, podendo atingir o operador ou seus auxiliares. Daí o grande cuidado em restringir-se ao máximo as superfícies metálicas na sala cirúrgica, bem como proteger os olhos do paciente com gase umedecida em solução fisiológica, e do pessoal da equipe médica com óculos especiais.

Ainda com respeito à reflexão do feixe laser, esta

pode ocorrer no campo cirúrgico pela incidência em alguma superfície metálica colocada acidentalmente no caminho óptico do feixe laser, determinando a lesão indesejada de outras áreas (73). Um exemplo disto são os acidentes ocorridos durante microcirurgias de laringe nas quais a cânula de intubação endotraqueal é atingida acidentalmente, havendo perfuração da mesma e extravasamento do anestésico que em mistura com o oxigênio do ar torna-se inflamável.

Nas cirurgias de tumores malignos é sempre aconselhável a extirpação do mesmo com uma margem de segurança para que o tecido retirado possa ser estudado do ponto de vista anátomo-patológico. Na retirada por vaporização do tumor há o lançamento de partículas, algumas contendo células viáveis e portanto, potencialmente capazes de disseminação neoplásica (74, 75, 76). A figura 10 ilustra o efeito descrito acima.

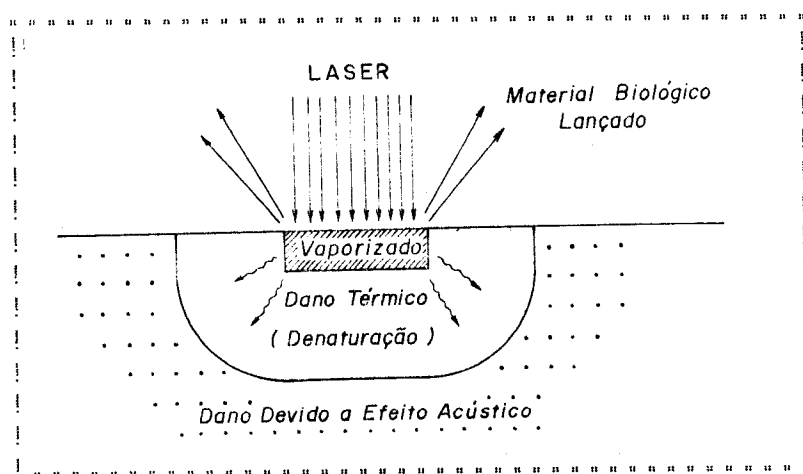


Figura 10 - Lançamento de material biológico.

\*\*\*\*\*

O B J E T I V O

\*\*\*\*\*



A forma de atuar do laser, como instrumento cirúrgico, sobre um tecido vivo é, em muitos aspectos, diferente da forma de atuação do bisturi convencional. Como foi dito nos capítulos anteriores, o raio laser é um feixe de energia pura, portanto durante uma cirurgia não há, necessariamente, um contato físico do tipo habitual "matéria-matéria". Por outro lado, a transferência de energia para o tecido pode ocorrer muito rapidamente, provocando a evaporação de água e de outras substâncias intersticiais, causando pressões localizadas milhares de vezes superiores as pressões causadas pelo contato do bisturi. O aquecimento do tecido adjacente a um corte por laser provoca desnaturação proteica cuja extensão é variável e imediata.

O laser é um instrumento que pode operar em condições bastante variáveis. Mesmo se nos restringirmos ao caso do laser de dióxido de carbono, objeto da presente tese, o qual tem comprimento de onda fixo de 10,6 micrômetros, ainda assim, temos como variáveis a potência, o tempo de exposição, a focalização, o modo espacial de operação do laser, bem como a possível variação das condições da atmosfera oxidante sobre o meio atingido pelo laser. Sob este ponto de vista, o laser é uma fonte muito rica para estudos do tipo causa-efeito.

Nas páginas que seguem propomos e desenvolvemos

estudos experimentais com um laser de dióxido de carbono, focalizando algumas das situações causa-efeito citadas anteriormente. Para isto escolhemos o cão como animal de experimentação.

\*\*\*\*\*

M A T E R I A L E

M É T O D O

\*\*\*\*\*

## MATERIAL

### - EQUIPAMENTO

O laser de dióxido de carbono utilizado foi do tipo "guia de onda", pertencente ao Laboratório de Desenvolvimento e Aplicações de Laser - PRODELCO, do Departamento de Física do Estado Sólido e Ciência dos Materiais, do Instituto de Física Gleb Wataghin da UNICAMP. O equipamento foi especialmente adaptado para o presente trabalho, dando inclusive origem a formação de um **grupo de cirurgia experimental com laser**, de carácter interdisciplinar IFGW/FCM - UNICAMP e cujas instalações encontram-se no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da FCM.

Nos capítulos introdutórios ao presente trabalho falamos genericamente sobre o funcionamento e a classificação dos diversos tipos de lasers.

O laser de dióxido de carbono é classificado como laser a gás e é construído, geralmente, em forma tubular com dimensões variáveis, dependendo da potência desejada. A chamada "cabeça" é o que constitui a fonte geradora da radiação laser. Nela estão colocados dois espelhos especialmente construídos, um de cobre recoberto com ouro, que constitui o de refletividade 100% e outro de seleneto de zinco ou germânio que deixa passar cerca de 15% da radiação

confinada no meio ativo.

Uma mistura de gases dióxido de carbono, nitrogênio e hélio, em proporções definidas preenche o espaço que separa os espelhos. Durante o funcionamento do laser uma descarga elétrica no gás é responsável pela ativação das moléculas de dióxido de carbono e a consequente ação laser.

A denominação "guia de onda", que utilizamos acima, classifica o laser de dióxido de carbono tanto quanto a geometria do tubo que contém o gás bem como a configuração de espelhos utilizada. Maiores considerações sobre tais detalhes de construção fogem ao objetivo do presente trabalho e acham-se descritas por E.J. Lima (77) em sua dissertação de mestrado.

A radiação é emitida pelo laser com baixa divergência e esta propriedade é aproveitada, permitindo a condução do feixe laser até um ponto desejado via múltiplas reflexões em espelhos recobertos por ouro. Os espelhos são arranjados em um sistema mecânico chamado de braço articulado e que oferece ao operador todos os graus de liberdade necessários ao desempenho cirúrgico. Aparentemente este seria um problema trivial, entretanto, após um simples raciocínio da dinâmica envolvida, conclui-se que, em geral, se fazem necessários cerca de sete espelhos para permitir todos os movimentos possíveis.

Considerando que cada espelho ao refletir introduz perdas de até 5%, significa que no tecido teremos apenas 60 a 70% da radiação inicial. Para evitar este tipo de problemas usamos um sistema compensador de movimentos, com apenas dois espelhos, sem que haja nenhuma limitação na liberdade de movimentos para o cirurgião.

O feixe laser assim conduzido é finalmente focalizado no tecido através de uma lente, que em princípio pode ser intercambiada. O suporte da lente tem formato anatômico, permitindo ao cirurgião fácil manuseio e garantindo um correto espaçamento entre a lente e o tecido a ser abordado. Isto é obtido graças a um espaçador ajustável. A figura ii, da página seguinte, mostra esquematicamente o braço articulado, referido acima, com detalhes dos movimentos, bem como o "bisturi laser" ou terminal focalizador.

Para temporizar um laser pode-se usar métodos intrínsecos ao mesmo ou simplesmente utilizar um obturador mecânico comandado eletronicamente. No primeiro caso, referimo-nos ao chamado "Q switch" que é um processo eletro-óptico capaz de produzir pulsos da ordem de nanossegundos. É possível também a temporização, através de modulação eletrônica da fonte de alta tensão do laser, obtendo-se neste caso, pulsos de milissegundos. Para tempos da ordem de centésimos de segundo, o ideal é o sistema eletro-mecânico

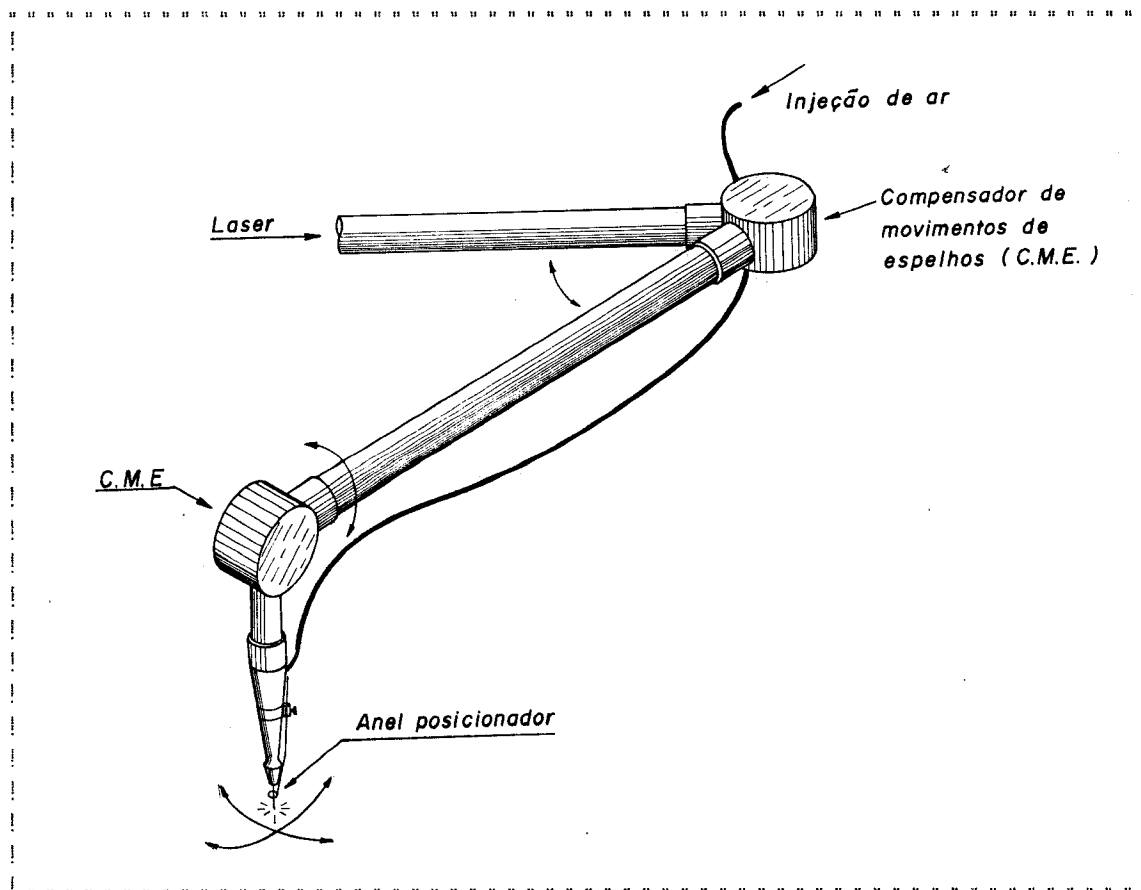


Figura 11 - Desenho do braço articulado, mostrando detalhes dos movimentos e terminal focalizador.

constituído por um obturador de aço inoxidável que abre por ação de um solenóide e fecha por ação de molas.

O nosso sistema é do tipo obturador eletromecânico. O laser mantém-se continuamente operando, assegurando uma boa estabilidade de potência. Um pedal acionador comanda o início do disparo enquanto que o retorno ocorre por ação eletrônica previamente estabelecida. Todo este sistema foi construído para atender as necessidades do presente trabalho.

Em resumo, são as seguintes as características do equipamento utilizado:

- Potência máxima nominal: 20 W de radiação.
- Modo de operação intrínseco: contínuo.
- Temporizador acionado por pedal, permitindo:
  - operação contínua,
  - escolha do tempo de exposição (intervalos de ação) de: 0,10s, 0,20s, 0,30s, 0,40s, 0,50s, 0,60s, 0,75s, 1,00s, 1,50s e 3,00s.
- Possibilidade de fixação nas potências de 2 W, 4 W, 6 W, 8 W, 10 W e 12 W, nas quais o equipamento apresentou estabilidade máxima.
- Terminal focalizador com distância focal de 10 centímetros.
- Alimentação elétrica total: 300 W, 110 V.
- Bomba injetora de ar através do bisturi laser



com a finalidade de evitar a penetração das partículas vaporizadas para dentro do mesmo e a potencial danificação da lente de focalização do feixe.

#### - ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO

Para o desenvolvimento do trabalho proposto necessitamos fundamentalmente do equipamento (laser e correlatos) já descrito anteriormente e do animal de experimentação.

Após experiências prévias (40,43) com vários animais como rato, cobaia e cão, optamos, no presente trabalho, pela utilização do último e mais especificamente de sua mucosa oral. Dentre as razões pessoais que nos levaram a esta escolha destacamos:

1. facilidade na obtenção do animal;
2. a mucosa oral deste tipo de animal é muito pouco queratinizada, assemelhando-se mais a mucosa oral humana do que a dos roedores;
3. extensão da mucosa oral, permitindo a retirada de grande número de amostras de um mesmo animal;
4. resistência do animal ao manuseio experimental;
5. experiência com o manuseio deste tipo de

animal pelo pessoal técnico do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da FCM;

6. anestesia eficiente e segura, possibilitando levar a termo os procedimentos cirúrgicos em todos os animais utilizados.

A anestesia dos cães foi realizada através do uso intra-venoso de Inoval e Thionembutal com entubação endotraqueal e ventilação controlada por Takaoka.

No total do trabalho foram utilizados seis cães mestiços, adultos, sexo masculino, pesando entre 10 a 12 kgf, os quais só foram liberados para o uso após um período de observação de duas semanas, o que nos garantiu as boas condições de saúde dos mesmos. Logo após a exposição ao laser e ressecção da área lesada, os animais foram sacrificados uma vez que o objetivo do nosso estudo referia-se aos efeitos **imediatos** da ação laser sobre a mucosa oral.

Do total dos seis cães utilizados foram formados dois tipos distintos de amostras:

- grupo controle, contendo vinte e quatro amostras, doze das quais retiradas dos três cães utilizados na fase inicial do trabalho, e outras doze obtidas dos três cães que constituíram o segundo grupo, ou seja, o de obtenção de dados;

- grupo de estudos propriamente dito, contendo sessenta e quatro amostras obtidas da mucosa oral dos cães utilizados na fase de obtenção de dados.

## MÉTODOS

### FASE NÚMERO 1: DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE TRABALHO

O trabalho sob o ponto de vista da coleta de dados desenvolveu-se em duas etapas. Na primeira, foram utilizados três dos cães selecionados para o estudo. O objetivo principal desta fase foi a determinação dos melhores parâmetros para utilização do laser e também o estudo da cavidade oral do animal com a finalidade de determinar as áreas de melhor acesso ao bisturi laser. Nesta fase procuramos ainda estabelecer a forma de demarcar as áreas atingidas pelo laser, garantindo a sua ressecção segura e em boas condições técnicas.

A exposição ao laser foi sempre feita sob a forma de pontos com potência, tempo de exposição e distância focal conhecidas. Foram realizadas várias séries de pontos (medidas) na mucosa oral do cão, expondo a mesma a todas as combinações de potência e de tempo de atuação do laser de que dispúnhamos. Os fragmentos de tecido expostos foram analisados, tanto do ponto de vista **macroscópico**, avaliando parâmetros como: abertura do orifício determinado pelo laser, sangramento, edema dos bordos da lesão, bem como do ponto de vista **microscópico**, através do estudo histopatológico no qual analisamos a extensão da lesão na

superfície da mucosa e em profundidade, a necrose em torno da área atingida e vários outros aspectos que serão oportunamente apresentados e discutidos.

## FASE NÚMERO 2: OBTENÇÃO DE DADOS

Com base nos resultados obtidos na primeira fase nos foi possível fixar as condições físicas que seriam utilizadas nesta segunda fase.

A distância focal de 10 centímetros foi estabelecida como um parâmetro constante para todas as medidas.

A área de ação escolhida para o estudo foi a mucosa oral do cão na qual o feixe laser foi aplicado através do "bisturi" construído especialmente para esta finalidade e cujo formato nos garantia que o feixe laser atingiria a mucosa oral exatamente no centro de um anel posicionador.

Optamos pela realização de três pontos de laser para cada situação de tempo e potência selecionados. Cada conjunto de três pontos foi realizado em sequência, partindo do bordo externo da mucosa labial em direção ao sulco gengivo-dentário.

Apresentamos a seguir a descrição do procedimento cirúrgico e do método utilizado na obtenção das amostras:

1. posicionamento do cão em decúbito dorsal

- horizontal;
2. anestesia endovenosa com Inoval e Thionembutal com ventilação controlada por aparelho Takaoka com sonda endotraqueal;
  3. exposição da mucosa oral por eversão e reparo por pontos de algodão 00 sobre uma superfície plana de madeira;
  4. realização de três incisões puntiformes com feixe laser de dióxido de carbono de potência e tempo de exposição determinados. Os pontos mantinham entre si uma distância de aproximadamente 0,5 centímetros e foram sempre realizados, partindo do bordo externo da mucosa labial em direção ao sulco gengivo-dentário. A incidência do feixe laser foi realizada sempre perpendicularmente a superfície da mucosa;
  5. repetição do procedimento anterior para várias combinações de potência e tempo de exposição, pré-determinadas para o animal em questão. Entre uma e outra série de três pontos foi sempre mantida uma margem de mucosa íntegra de aproximadamente 1 centímetro;
  6. retirada das amostras com bisturi convencional, com incisão abrangendo as camadas mucosa, submucosa, muscular e mesmo pele nas situações

- de energia mais elevada;
7. identificação das peças cirúrgicas, contendo, cada uma, as três lesões puntiformes efetuadas nas mesmas condições de tempo e potência;
  8. distensão do material retirado sobre uma superfície de cartolina de forma a sofrer mínimas torções ou enrolamentos;
  9. fixação do material em formol a 12%;
  10. encaminhamento das amostras para exame anátomo-patológico.

No departamento de Anatomia Patológica da FCM, o material foi processado por técnicos especializados. As amostras de mucosa oral foram recortadas de forma a delimitar o mais possível cada um dos três pontos de lesão. Os três fragmentos assim obtidos foram convenientemente processados e incluídos num mesmo bloco. Cada bloco foi seccionado até o início da visualização das lesões. A partir daí foram feitos cortes seriados de 6 micrómetros cada um, tendo-se o cuidado de ultrapassar a zona de maior extensão da lesão. Os cortes foram montados em lâminas e corados pela Hematoxilina-Eosina.

O estudo das lâminas foi realizado com um microscópio óptico Nikon do IFGW - UNICAMP, tendo sido feitas medidas das lesões em todos os cortes e fotografadas as mais significativas para posterior apresentação e

discussão.

Cada lâmina, de um total de sessenta e quatro, continha três colunas de cortes seriados, representando a evolução das três lesões obtidas com os mesmos parâmetros físicos, no mesmo animal.

Com a finalidade de padronizar a análise microscópica consideramos três colunas verticais, contendo dez a quinze cortes cada uma, conforme pode ser observado na esquematização da figura 12.

A lesão observada em cada corte foi medida tanto no sentido vertical como no sentido horizontal, permitindo a definição de três parâmetros associados à largura e dois parâmetros associados à profundidade da lesão conforme esquematizado na figura 13 e fotografia 1 da página 59.

As medidas foram realizadas através de microscópio, conforme referido acima, utilizando objetiva de quatro aumentos e ocular graduada de cinco aumentos. Cada divisão da ocular graduada corresponde a 20 micrômetros. Os valores encontrados foram tabelados e apresentados no capítulo referente a resultados.

A medida a da figura 13 corresponde à largura da área lesada na superfície da mucosa. Para obtê-la observamos o epitélio íntegro e tomamos o ponto em que o mesmo começa a sofrer alteração em cada lado da lesão, como definição dos limites da referida medida.



LEITURA

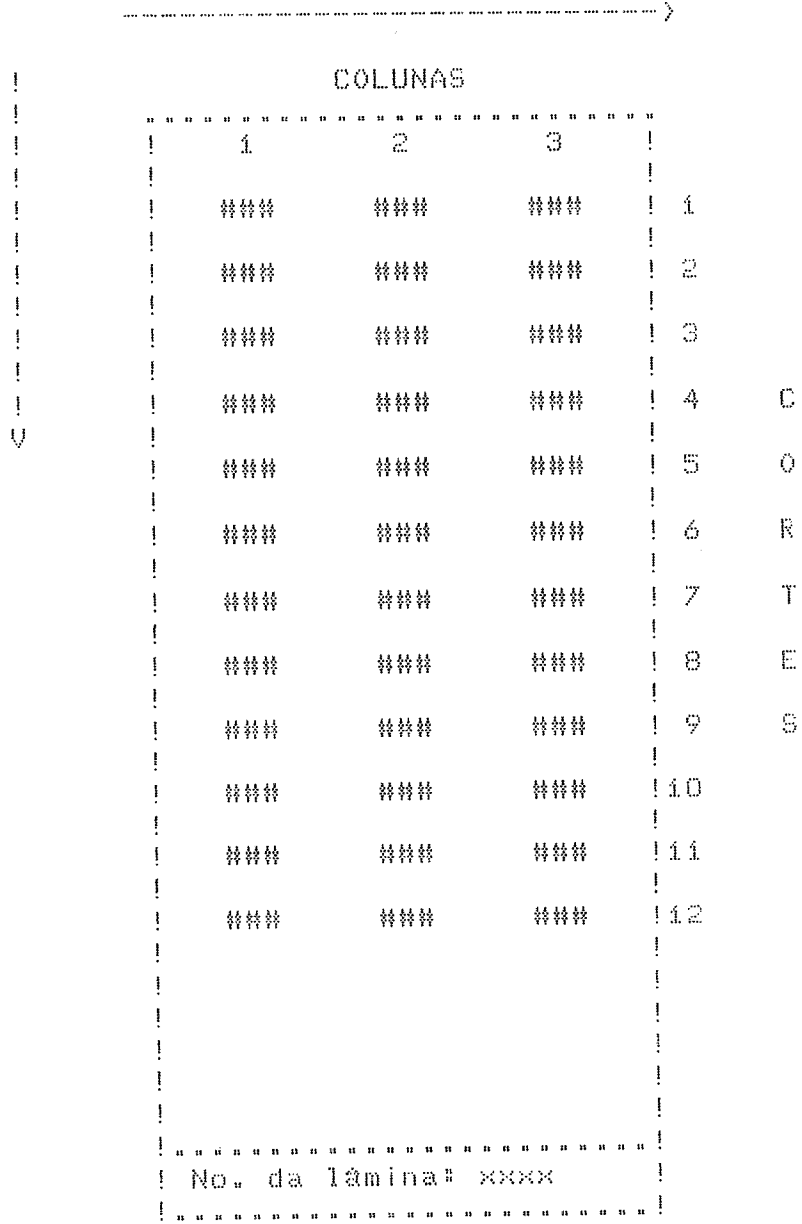


Figura 12 - Modelo esquemático da lâmina contendo os cortes histológicos.

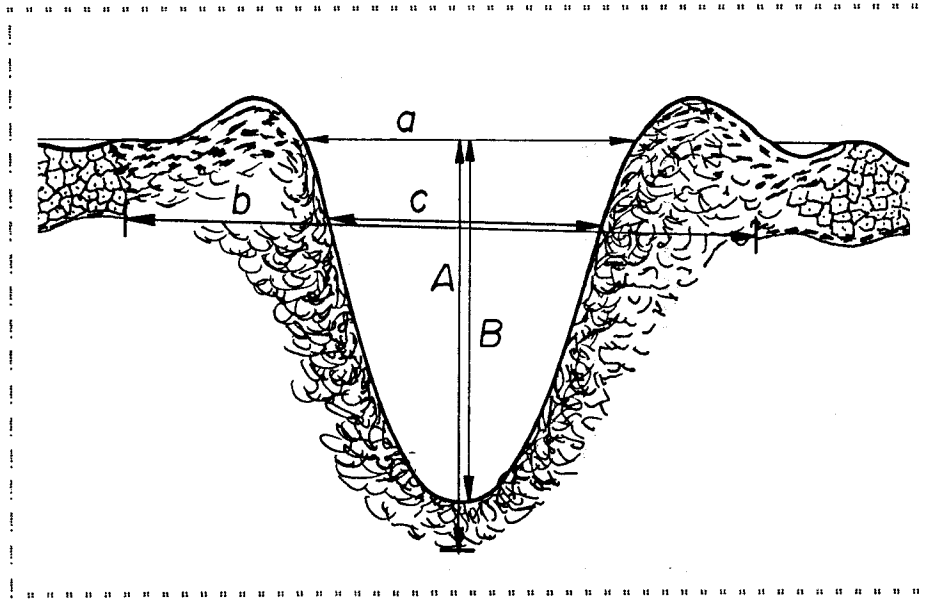


Figura 13 - Esquemática da cratera.



Foto 1 - Cratera padrão.

A medida **b** é tomada a nível da camada basal do epitélio mucoso, usando os mesmos critérios da avaliação anterior.

A medida **c** corresponde a abertura da cratera e é tomada na mesma altura que usamos para medir **b**, isto é, a nível da camada basal, o que permite manter o mesmo padrão em todas as medidas.

Quanto à profundidade da lesão, realizamos duas medidas, chamadas, por convenção, de **A** e **B**.

A medida **A** corresponde à profundidade total da necrose e foi tomada desde uma linha imaginária tangente a superfície do epitélio íntegro em ambos os lados da lesão até o limite inferior máximo da área necrosada.

A medida **B** corresponde à profundidade da cratera propriamente dita e foi obtida partindo também da linha tangente a superfície do epitélio íntegro em ambos os lados da lesão até o limite máximo da área de tecido vaporizado (cratera) no interior da zona de necrose.

A escolha destes parâmetros:

**a, b, c** - largura,

**A, B** - profundidade,

nos pareceu adequada uma vez que o seu conjunto nos dá uma idéia bastante aproximada do formato e extensão da lesão. Por outro lado, o halo de necrose, fator de extrema importância no estudo aqui proposto, pode ser muito bem

avaliado com os parâmetros acima escolhidos.

Como resultado do estudo realizado na primeira fase, determinamos como mais conveniente para a realização do nosso trabalho as potências de 2, 4, 6, 8 e 10 Watt, uma vez que o funcionamento do equipamento mostrou-se muito estável nestas condições e a extensão do dano total dentro dos limites desejados.

Quanto aos tempos de exposição, tivemos que utilizar aqueles que, além de convenientes ao estudo proposto fossem passíveis de serem fixados no nosso temporizador. Assim os tempos utilizados foram: 0,10 - 0,20 - 0,30 - 0,40 - 0,50 - 0,60 - 0,75 - 1,00 - 1,50 e 3,00 segundos.

#### GRUPO CONTROLE

Considerando que para a obtenção do total de amostras necessárias teríamos que utilizar vários animais e que os fragmentos de mucosa seriam retirados de pontos diversos da cavidade oral, achamos imprescindível a formação de um grupo de controle de amostras no qual fatores como:

- variabilidade animal e
- diferenças na mucosa oral tais como: variação na espessura do epitélio da mucosa bem como alterações na camada submucosa (vasos, glândulas, fibras musculares e colágenas) seriam estudados do ponto de vista de possíveis

fatores de erro introduzidos pelo método.

Para tal, em cada um dos animais foram sempre realizadas quatro séries de três pontos de laser, utilizando-se os seguintes parâmetros físicos:

2 W x 0,1 s

2 W x 0,5 s

10 W x 0,1 s

10 W x 0,5 s

onde foram escolhidas potências extremas e variações grandes de tempo de exposição para uma melhor avaliação dos resultados.

As quatro séries de três pontos foram realizadas em locais aleatórios da mucosa oral do cão, permitindo assim, a avaliação da importância das possíveis diferenças na estrutura da mesma.

Como estas séries foram realizadas em todos os seis cães utilizados no trabalho, obtivemos, então, como grupo controle:

seis conjuntos de amostras de 2 W x 0,1 s

seis conjuntos de amostras de 2 W x 0,5 s

seis conjuntos de amostras de 10 W x 0,1 s

seis conjuntos de amostras de 10 W x 0,5 s.

\*\*\*\*\*

R E S U L T A D O S

\*\*\*\*\*

Os resultados obtidos registrados nas sessenta e quatro lâminas compostas por três colunas com cerca de onze a treze cortes seriados em cada uma delas conforme a figura 12 da página 58, totaliza aproximadamente quarenta cortes por lâmina. Tais resultados estão listados abaixo. A identificação numérica apresentada aqui, provém da classificação dada no Departamento de Anatomia Patológica da FCM/UNICAMP.

Os dados obtidos e que precederam a sistematização da presente pesquisa (Método - Fase I: determinação das condições de trabalho) não estão incluídas na listagem que se segue:

#### CAO NÚMERO 1

lâmina	W	s	lâmina	W	s
* 3786/83	2,0	0,1	3982/83	6,0	0,3
3787/83	2,0	0,2	4017/83	6,0	0,4
3788/83	2,0	0,3	4018/83	6,0	0,6
3789/83	2,0	0,4	4020/83	8,0	0,1
* 3790/83	2,0	0,5	4021/83	8,0	0,2
3906/83	2,0	0,6	4110/83	8,0	0,3
3907/83	4,0	0,1	4111/83	8,0	0,4
3908/83	4,0	0,2	4112/83	8,0	0,5
3909/83	4,0	0,3	4113/83	8,0	0,6
3910/83	4,0	0,4	* 4119/83	10,0	0,1
3978/83	4,0	0,5	4118/83	10,0	0,2
3979/83	4,0	0,6	4117/83	10,0	0,3
3980/83	6,0	0,1	4116/83	10,0	0,4
3981/83	6,0	0,2	* 4115/83	10,0	0,5
			4114/83	10,0	0,6

## CÃO NÚMERO 2

lâmina	W	s	lâmina	W	s
4189/83	2,0	3,0	4243/83	8,0	3,0
4190/83	2,0	1,5	4245/83	10,0	0,1
* 4191/83	2,0	1,0	4184/83	10,0	0,2
* 4192/83	2,0	0,5	* 4183/83	10,0	0,2
4236/83	2,0	0,1	4185/83	10,0	0,3
4237/83	4,0	3,0	4186/83	10,0	0,4
4238/83	4,0	1,5	* 4187/83	10,0	0,5
4239/83	4,0	1,0	4188/83	10,0	0,6
4240/83	6,0	3,0	4246/83	10,0	3,0
4241/83	6,0	1,5	4247/83	10,0	1,5
4242/83	6,0	1,0	4292/83	10,0	1,0

## CÃO NÚMERO 3

lâmina	W	s
* 4293/83	10,0	0,5
* 4294/83	10,0	0,1
4295/83	2,0	0,75
* 4296/83	2,0	0,5
* 4297/83	2,0	0,1
4298/83	4,0	0,75
4299/83	6,0	0,75
4399/83	8,0	0,75
4300/83	8,0	0,75
4301/83	10,0	0,75
* 4302/83	10,0	0,5
* 4303/83	10,0	0,1

As lâminas marcadas com um asterisco (\*) referem-se a amostras que pertencem ao chamado grupo controle. Este total de aproximadamente dois mil e quinhentos cortes, foi analisado inicialmente sob o ponto de vista qualitativo, possibilitando uma pré-seleção de amostras para análise semi-quantitativa dos fenômenos observados.



As fotografias 2, 3 e 4 mostram uma seqüência evolutiva de cortes típicos tal como é vista ao microscópio óptico. A avaliação qualitativa destas lesões possibilitou-nos padronizar a forma como estas amostras poderiam ser agrupadas e analisadas do ponto de vista semi-quantitativo.

A análise semi-quantitativa foi possível através da realização de medidas conforme método descrito anteriormente. Assim, **cada** lâmina deu origem a três conjuntos de medidas identificadas como coluna 1, coluna 2 e coluna 3 conforme exemplificado na Tabela 3 da página 68.

Os dados numéricos estão sujeitos a vários fatores de imprecisão que vão desde o procedimento histológico até fatores de erro sistemáticos e aleatórios introduzidos nas medidas, daí chamarmos de análise semi-quantitativa e darmos tanta importância à avaliação qualitativa das amostras. O exemplo escolhido que foi a lâmina 3788, contém duas colunas que foram integralmente aproveitadas para avaliação quantitativa e uma coluna em que não foi possível a realização de nenhuma medida devido às más condições dos cortes histológicos (veja a Tabela 3). Este fato repetiu-se em algumas lâminas, prejudicando por vezes as medidas de apenas alguns cortes numa coluna ou mesmo de toda a coluna, como no exemplo escolhido.

A observação dos valores medidos, permite, dentro de certos limites, acompanhar a evolução quantitativa de

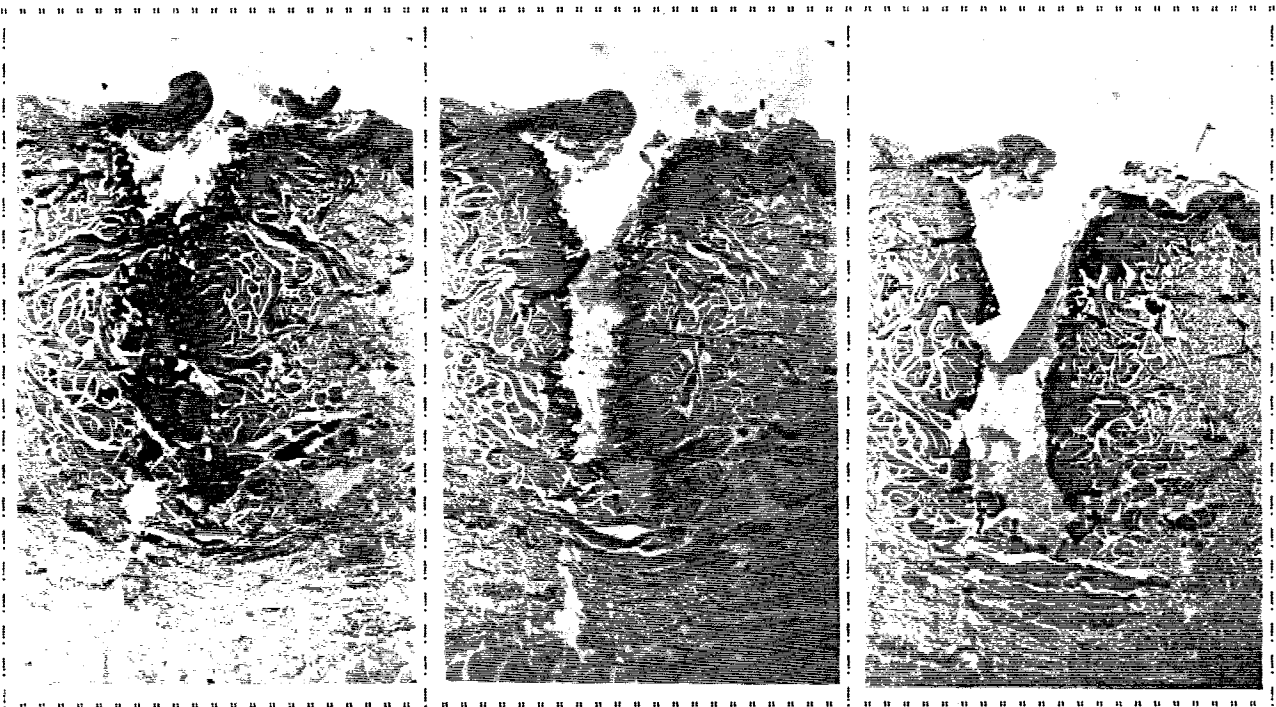


Foto 2

Foto 3

Foto 4

Exemplo de corte seriado, mostrando a evolução da lesão.

TABELA 3

```

=====
Lâmina 3788      Objetiva# 4x      Ocular Graduada# 5x
Potência# 2W      Tempo# 0,3 s
=====

```

```

Coluna 1
Largura      Profundidade
c      b      a      !      A      B
56,0    96,0    104,0   !    60,0    30,0
50,0    92,0    100,0   !    56,0    30,0
50,0    100,0   104,0   !    60,0    40,0
44,0    90,0    100,0   !    60,0    40,0
40,0    90,0    96,0    !    56,0    35,0
40,0    90,0    100,0   !    56,0    30,0
44,0    90,0    100,0   !    44,0    28,0
56,0    90,0    90,0    !    46,0    20,0
36,0    --      90,0    !    40,0    24,0
24,0    80,0    90,0    !    40,0    20,0
20,0    90,0    100,0   !    40,0    12,0
-----

```

```

Coluna 2
Não foi possível medir.
Cortes em más condições.
-----

```

```

Coluna 3
Largura      Profundidade
c      b      a      !      A      B
60,0    96,0    100,0   !    56,0    36,0
56,0    100,0   100,0   !    52,0    30,0
56,0    104,0   100,0   !    60,0    40,0
56,0    110,0   104,0   !    56,0    32,0
56,0    104,0   110,0   !    56,0    32,0
60,0    104,0   104,0   !    56,0    36,0
62,0    100,0   110,0   !    60,0    40,0
64,0    110,0   110,0   !    64,0    48,0
44,0    100,0   110,0   !    60,0    44,0
40,0    100,0   104,0   !    56,0    40,0
50,0    90,0    100,0   !    60,0    42,0
60,0    100,0   104,0   !    60,0    40,0
-----

```

Obs.: Medidas em micrómetros.

cada lesão, possibilitando, inclusive, a identificação do corte que corresponde a maior extensão da lesão.

Considerando o grande número de cortes histológicos realizados, aliado ao fato de que para cada corte foram realizadas cinco medidas, o total de medidas que teríamos para apresentar estaria em torno de doze mil. A apresentação de todos estes números e fotografias correspondentes, além de desnecessária, seria extremamente enfadonha. Desta forma, agrupamos os resultados segundo parâmetros físicos que se mostraram significativos, resultando então conjuntos de dados que são apresentados simultaneamente com a discussão no capítulo que se segue.

Do ponto de vista macroscópico, os resultados mostraram-se muito significativos. Cada disparo de laser determinou, na mucosa oral do cão, a formação de um ponto de dimensões muito pequenas, porém variável de acordo com variáveis do laser, tais como tempo de exposição, potência e focalização. Em torno da lesão central houve sempre a formação de edema que também sofreu variações com os parâmetros físicos utilizados. Na zona mais central de atuação do laser ocorreu normalmente vaporização de tecido em maior ou menor volume chegando até a formação de uma cratera de dimensões consideráveis e perfeitamente visível a olho nu, para os casos de maior energia. Foi possível observar, ainda, a redução e mesmo a ausência de sangramento

na maioria das situações.

As amostras pertencentes ao grupo controle, tanto provenientes da primeira fase como da segunda fase (obtenção de dados) foram processadas e avaliadas segundo os mesmos padrões do grupo de estudo, sendo os resultados apresentados na Tabela 4 onde estão listados os valores extremos dos parâmetros de largura e profundidade tomados na faixa de maior atuação do laser para cada conjunto de amostras submetidas às mesmas condições físicas.

TABELA 4

NA	PL	PT	T	Valores Extremos em micrômetros						
				Largura			Profundidade			
!	!	!	!	!	!	!	!	!	!	!
W	s	c	b	a	A	B				
6	18	2	0,1	24,0	70,0	70,0	36,0	22,0		
!	!	!	!	a	a	a	a	a		
!	!	!	!	34,0	80,0	92,0	48,0	32,0		
6	18	2	0,5	36,0	92,0	96,0	90,0	64,0		
!	!	!	!	a	a	a	a	a		
!	!	!	!	50,0	120,0	130,0	110,0	90,0		
*6	22	10	0,1	40,0	100,0	110,0	80,0	70,0		
!	!	!	!	a	a	a	a	a		
!	!	!	!	60,0	138,0	152,0	100,0	90,0		
*6	22	10	0,5	42,0	106,0	112,0	110,0	102,0		
!	!	!	!	a	a	a	a	a		
!	!	!	!	66,0	146,0	150,0	150,0	130,0		

NA = Número de animais.

PL = Número de pontos de laser.

PT = Potência do laser.

T = Tempo de exposição.

Os conjuntos marcados com asterisco (\*), apresentam mais pontos de laser porque no cão número três do grupo de estudos foram realizadas duas séries de medidas com 10 W, em todos os diferentes tempos de exposição.

Para ilustrar o aspecto qualitativo envolvido na tomada dos dados apresentados acima, mostramos nas fotos 5, 6, 7 e 8 cortes típicos provenientes dos cães do grupo controle durante a segunda fase\* (obtenção de dados).

CAO 1

CAO 2

CAO 3



Foto 5 - Grupo Controle, situação 2 W x 0,1 s.

CAO 1

CAO 2

CAO 3

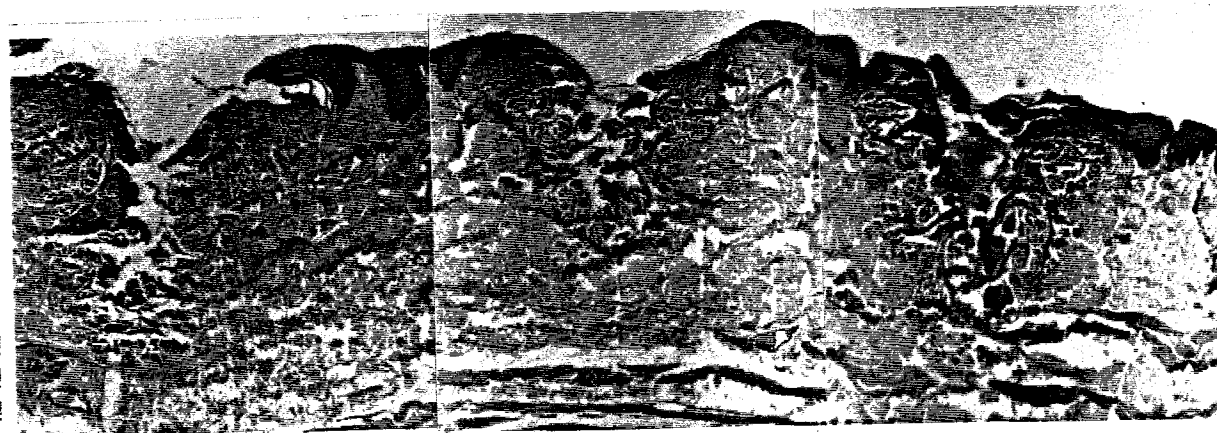


Foto 6 - Grupo Controle, situação 2 W x 0,5 s.

CAO 1

CAO 2

CAO 3

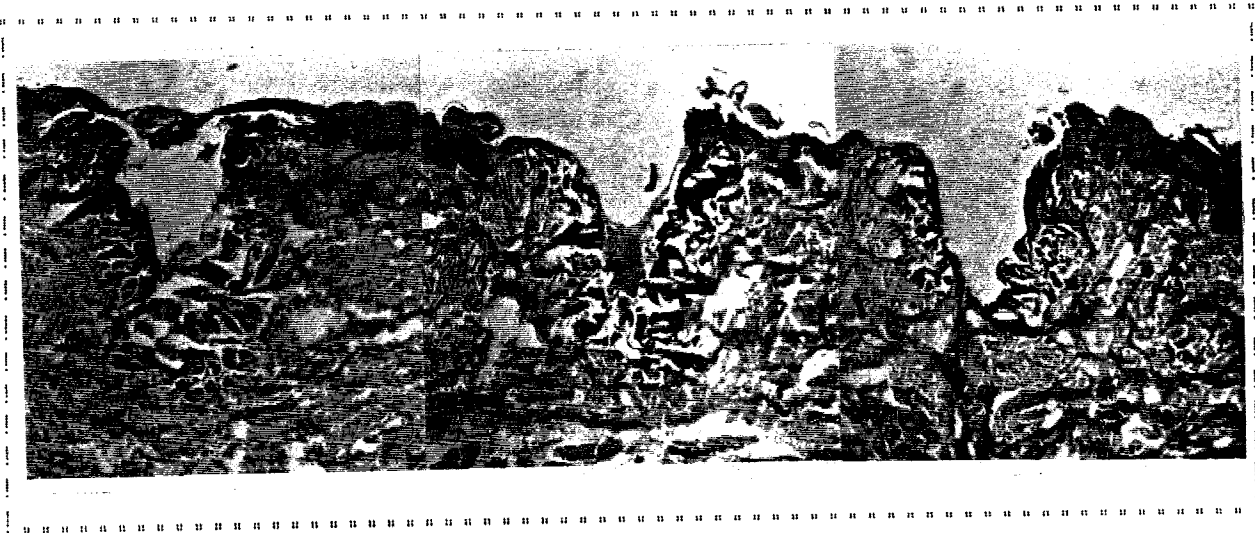


Foto 7 - Grupo Controle, situação 10 W x 0,1 s.

CAO 1

CAO 2

CAO 3

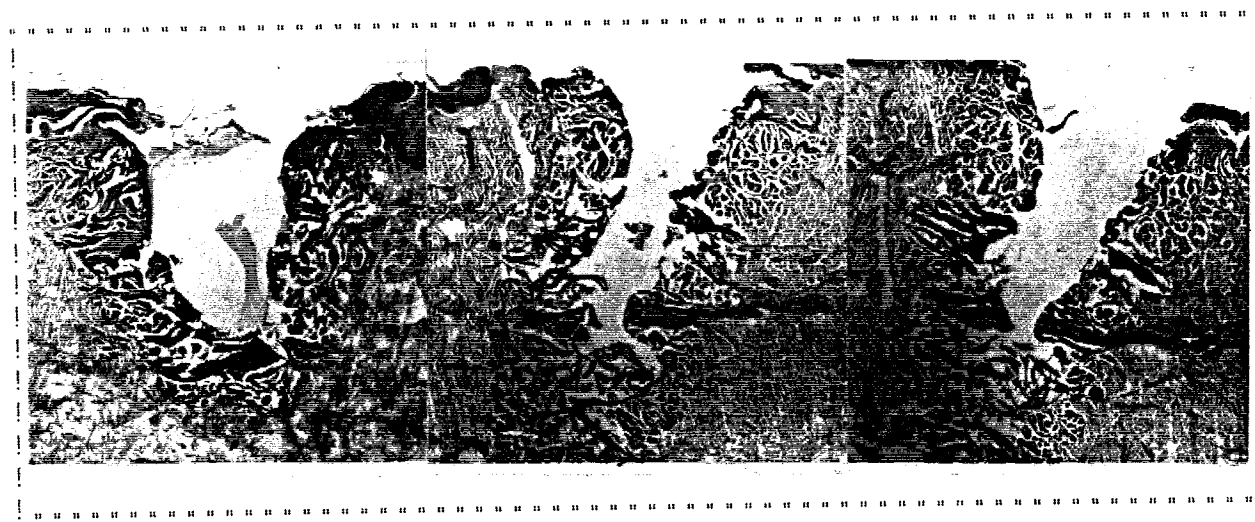


Foto 8 - Grupo Controle, situação 10 W x 0,5 s.



\*\*\*\*\*

D I S C U S S Ã O

\*\*\*\*\*

A ação do laser sobre um material qualquer segue padrões definidos desde que o material apresente uma homogeneidade razoável. Este tipo de estudo já tem sido apresentado para metais, papel e plásticos e constantes empíricas são geralmente definidas, as quais permitem a formulação de leis físicas aplicáveis dentro de certos limites.

Quando o material de interesse é o tecido vivo, o estudo fica dificultado pela natural complexidade do mesmo. Assim, um estudo puramente quantitativo dos efeitos do laser sobre a mucosa oral de cães, não só seria muito difícil para ser realizado, como traria poucas contribuições de ordem prática e até mesmo acadêmica.

A coleção de dados do presente trabalho foi obtida, conforme referido antes, através da variação de dois parâmetros fundamentais do laser, que são o tempo de exposição e a potência da radiação. A minimização dos erros em todas as fases da obtenção de dados foi preocupação constante. De uma forma geral, possíveis erros podem ser classificados em:

- a) erros devido a instabilidade do instrumental laser;
- b) erros devido a variabilidade animal;
- c) erros devido à preparação dos cortes histológicos;

d) erros sistemáticos ou não, introduzidos durante a avaliação microscópica das lâminas e quantificação dos efeitos.

O primeiro tipo de erro (a) pode ser desprezado, pois o instrumental utilizado é de alta qualidade, tendo sido testado periodicamente durante as fases do presente trabalho.

Os possíveis erros classificados no item (b) seriam importantes para um estudo relacionado com os efeitos não imediatos da ação laser, pois em tal caso, a reatividade diferente de um animal para outro, poderia representar um papel de importância vital para o acompanhamento do efeito da radiação laser. No presente estudo, entretanto, vimos que é suficiente mantermos como material de experimentação o mesmo tipo de tecido, no caso a mucosa oral do cão.

Numa fase anterior ao presente trabalho, fizemos experiências com mucosa oral de cobaia, que por ser roedor e apresentar a mucosa oral recoberta por uma espessa camada de queratina, precisou ser substituída pelo cão para o presente estudo, caso contrário os resultados obtidos dificilmente seriam válidos para o ser humano. Esta foi uma condição apenas desejável e não uma imposição com consequências para as conclusões acadêmicas desta tese.

Apesar dos argumentos apresentados acima, constituímos um grupo controle apresentado no capítulo

anterior, através da Tabela 4 e fotografias 5, 6, 7 e 8 as quais dão idéia do tipo de variação dos dados obtidos com diferentes cães e em diferentes pontos da mucosa oral do mesmo cão. Para a análise de tais dados lançamos mãos dos parâmetros definidos anteriormente (largura: a, b, c e profundidade A e B).

Fazendo a análise microscópica semi-quantitativa constatamos que os dados obtidos de um para outro cão, para valores extremos de potência e tempo de exposição (Tabela 4) estão dentro da mesma variação observada para diferentes pontos de laser em um mesmo animal. A estimativa numérica para a variação dos parâmetros mencionados acima foi sempre menor do que 20%, entre cães diferentes e também entre lesões realizadas em locais diversos da mucosa oral do mesmo cão, levando-nos a conclusão de que o uso de vários animais e a coleta de amostras em qualquer local da mucosa oral do mesmo, não constitui fator de erro considerável para o presente estudo.

O item (c) da listagem dos tipos de erro, refere-se a todas as fases do processo, desde a retirada do material logo após a ação do laser, seu acondicionamento para transporte, a fixação em formol a 12%, o recorte dos fragmentos, sua inclusão em parafina, a formação dos blocos para corte com micrótomo, o corte e finalmente a fixação e coloração das lâminas. Os detalhes deste procedimento foram

apresentados no capítulo referente ao método e acreditamos que por se tratar de técnica de rotina, os erros ocorridos durante todo o processo, devem ser mínimos e não podem influir significativamente em nossas conclusões. Salientamos ainda, que o processo a partir da retirada da amostra e sua fixação em formol a 12% até a elaboração final das lâminas, esteve a cargo de técnico especializado do Departamento de Anatomia Patológica da FCM/UNICAMP.

O último tipo de erro apontado em nossa lista, tem muito a ver com o objetivo da presente tese. Isto é evidente porque, aqui, pretendemos apresentar, pela primeira vez, um estudo sistemático da ação imediata do laser sobre uma mucosa oral. Assim, foi necessária a análise e classificação cuidadosa de efeitos diversos como:

- lesão a nível do epitélio da mucosa;
- vaporização de tecido;
- necrose em torno do 1/3 superior da área de tecido vaporizado (cratera);
- necrose em torno do 1/3 inferior e fundo da cratera;
- elevação dos bordos da lesão;
- condução térmica através dos vasos e feixes de fibras musculares e/ou colágenas.

Antes de entrar na discussão de tais detalhes, acreditamos que considerações sobre aspectos da inclusão e corte devem ser feitos.

Uma perfuração ideal por um pulso de laser, deveria ter a forma cônica e ser sempre rodeada por uma zona de lesão tecidual ocorrida por efeito térmico de espessura variada. Um corte genérico (A-B), figura 14, mostraria uma seção plana simples como o salientado na figura 15.

Dependendo, entretanto, da localização deste plano na perfuração, a área de tecido vaporizado e zona de necrose em torno da mesma variam muito. Podemos ter apenas a representação plana de necrose, caso o plano de corte atinja somente a porção externa da lesão (plano C-D), figura 14. Outra possibilidade é que a lesão apareça nas suas dimensões máximas (plano E-F), na mesma figura, caso o corte seja realizado na porção mediana da lesão.

Na sequência fotográfica 9, 10 e 11, ilustramos o que foi explicado acima. Fica claro que para a medida dos parâmetros (A, B, a, b, c) é necessário acompanhar a evolução dos cortes para garantir medidas representativas do corte de maior profundidade.

Algumas vezes, devido a flexibilidade do tecido, durante a fase de fixação no formol ou inclusão em parafina, ocorrem torções ou deslizamentos entre os diferentes planos teciduais, determinando o aparecimento de cortes com lesões

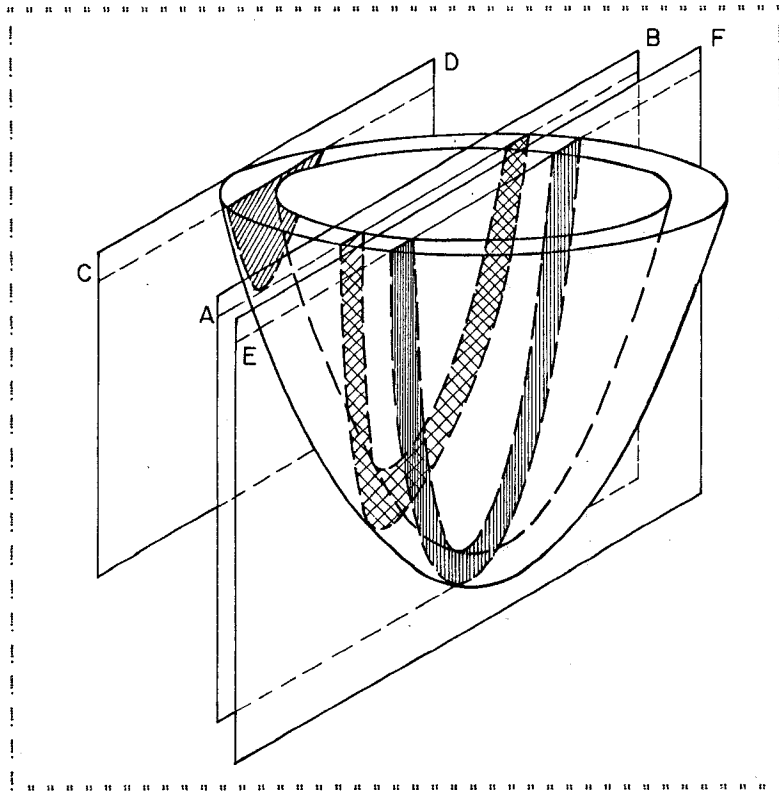


Figura 14 - Planos de corte em cratera genérica.

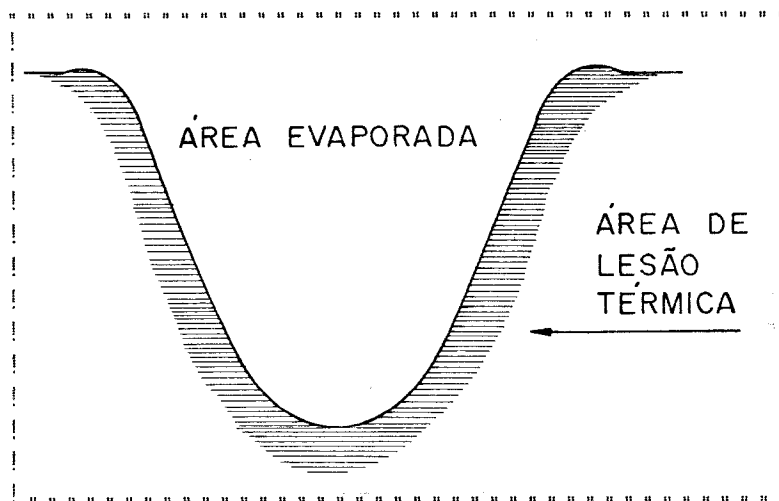


Figura 15 - Corte obtido no plano A - B da figura 14.

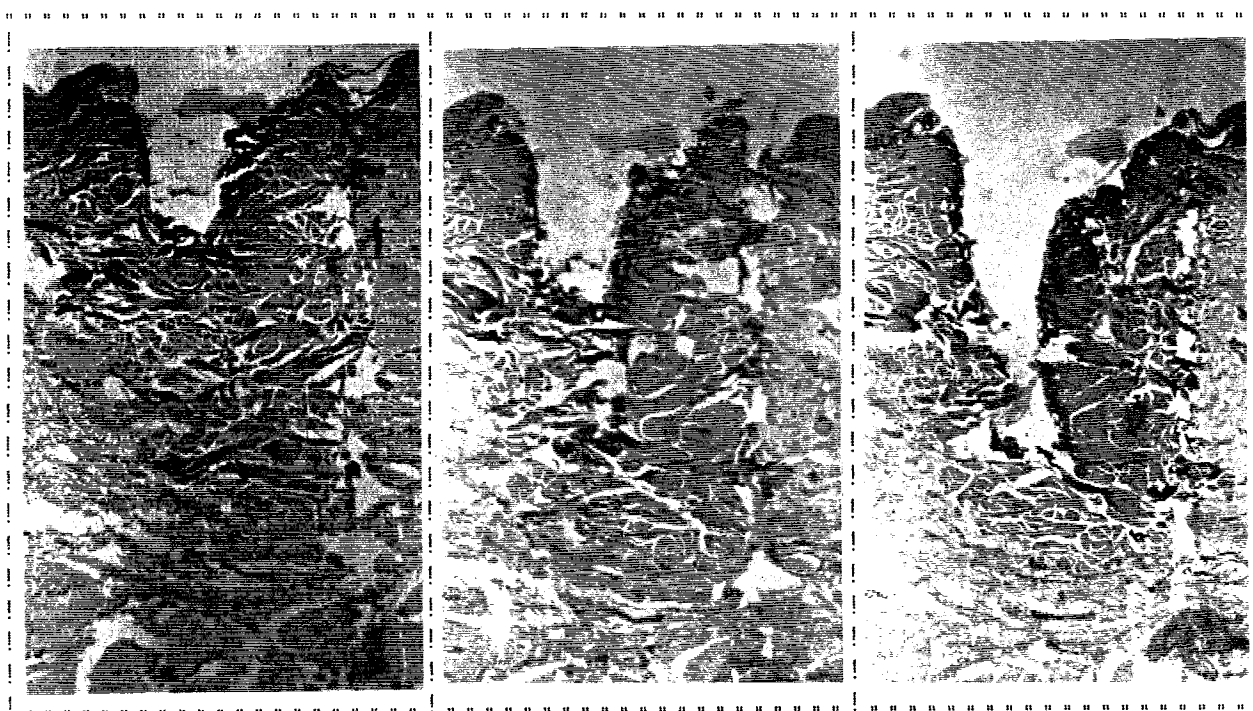


Foto 9

Foto 10

Foto 11

Evolução da lesão e conseqüente abertura da cratera.



obliquas, curvas ou mesmo torções na porção mais distal da cratera e que podem levar a falsas interpretações do fenômeno provocado.

A figura 16 é uma representação esquemática de uma cratera muito profunda, e que sofreu deslocamentos em suas porções média e inferior. Dependendo do plano de corte da mesma, vários serão os perfis obtidos. Exemplificando:

- plano A-B: plano da figura, portanto, a imagem obtida é de uma cratera curva e muito extensa, a foto 12 ilustra esta situação;
- plano G-H: neste caso, o corte histológico apresentaria apenas uma área de necrose bem menor do que o total de tecido lesado, conforme foto 13 e figura 17;
- plano E-F: neste caso o corte apresentaria uma área de necrose com presença de tecido não lesado logo abaixo da mesma. Na profundidade do corte, então em orientação transversal, nova área de tecido vaporizado rodeada por halo de necrose, foto 14 e figura 18;
- planos G1-H1 e G2-H2: Em planos como (G1-H1) a necrose começaria de forma cônica, estreitando-se bastante na profundidade até formar uma coluna de tecido necrótico entre a superfície e a profundidade, foto 15 e figura 19.

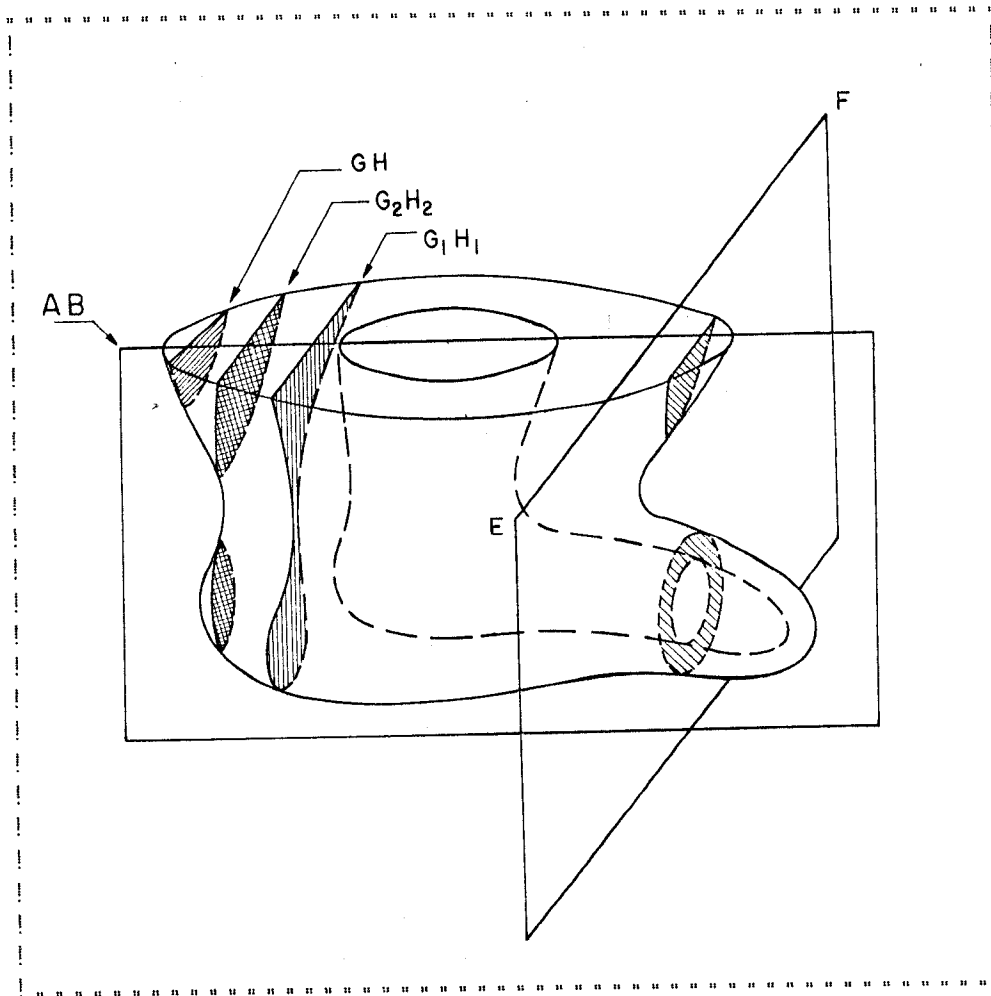


Figura 16 - Representação esquemática de cratera profunda, apresentando torções e planos de corte significativos.

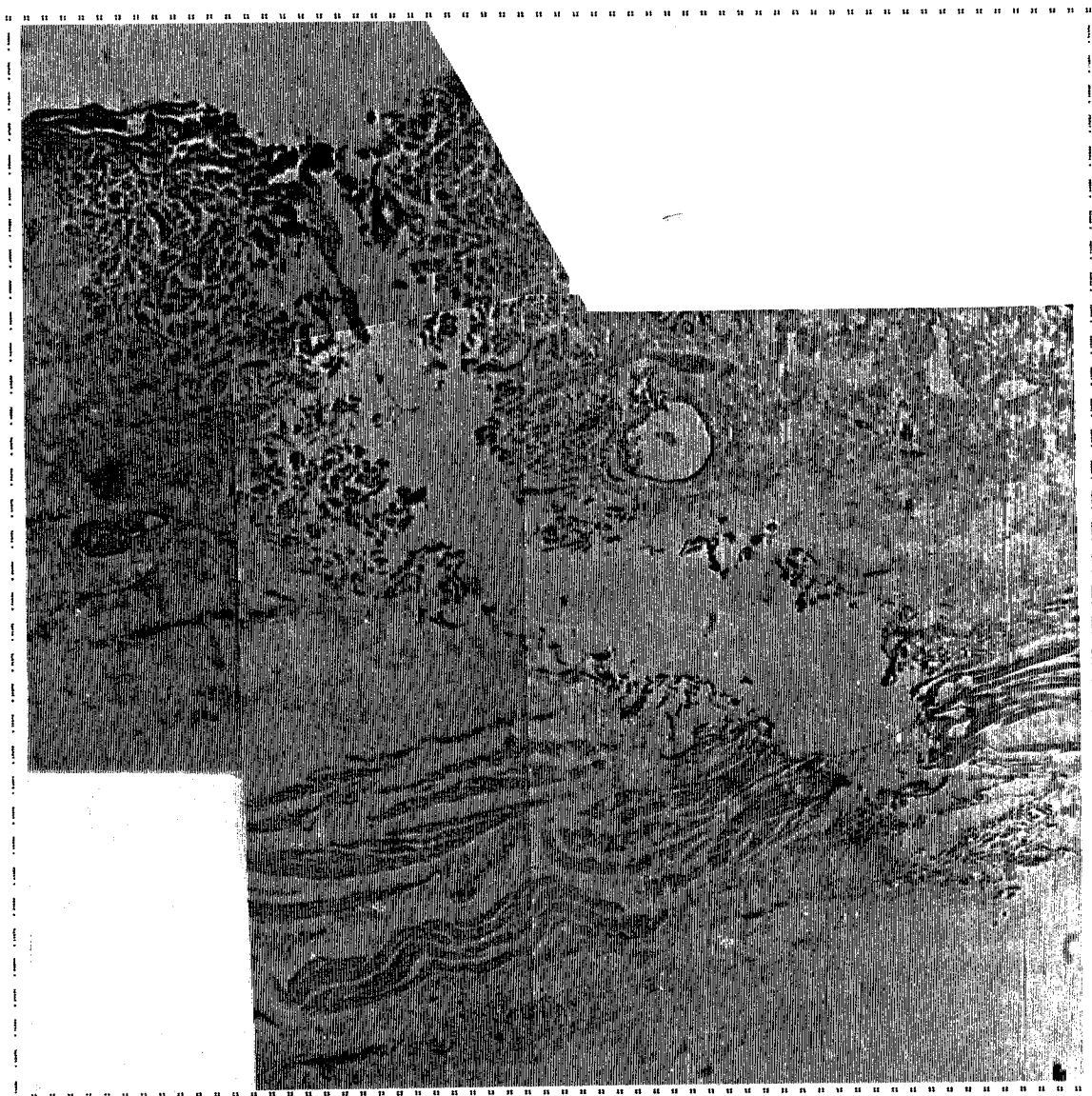


Foto 12 - Representação fotográfica de um corte muito profundo sujeito a torções durante seu processo de montagem. Devido as proporções exageradas do mesmo, foi necessária uma montagem fotográfica para poder retratá-lo em sua totalidade.

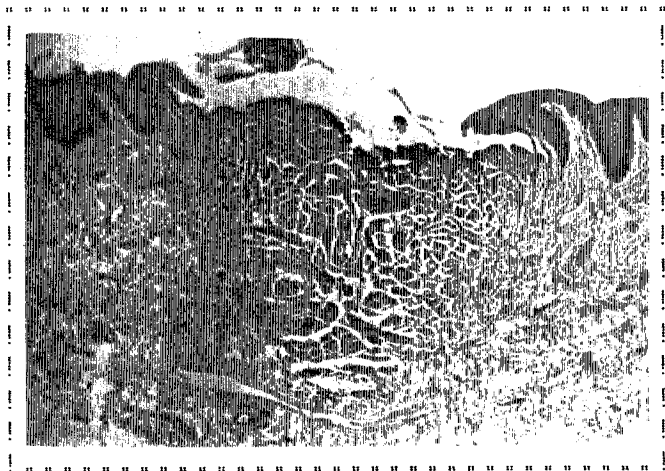


Foto 13 - Corte histológico representando a situação esquematizada pelo plano G - H.

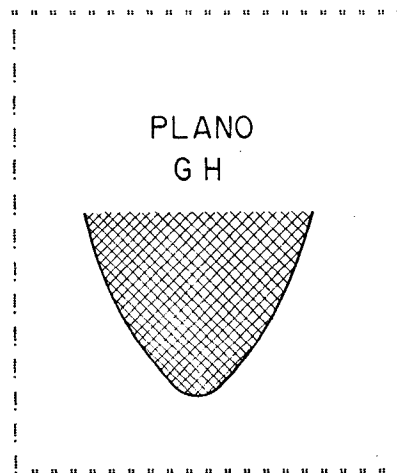


Figura 17 - Esquema da situação representada pelo plano G-H.



Foto 14 - Corte histológico ilustrativo da situação esquematizada no plano E - F.

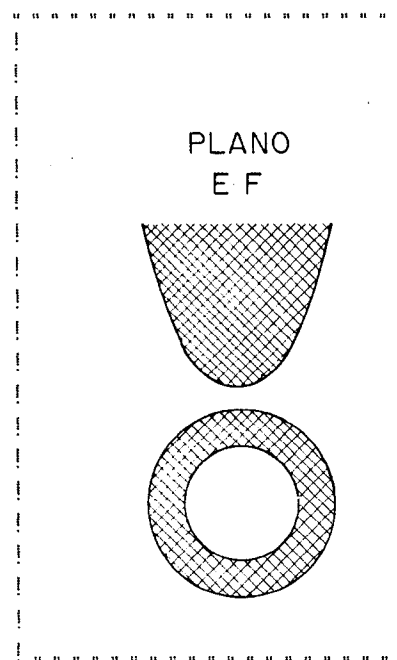


Figura 18 - Esquema da situação representada pelo plano E-F.

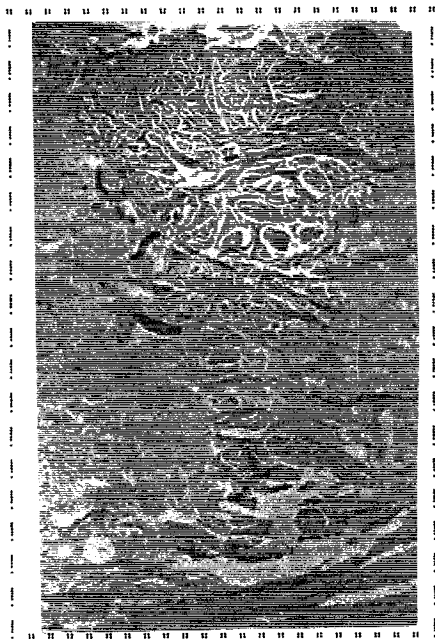


Foto 15 - Corte histológico representativo do plano G<sub>1</sub> - H<sub>1</sub>.

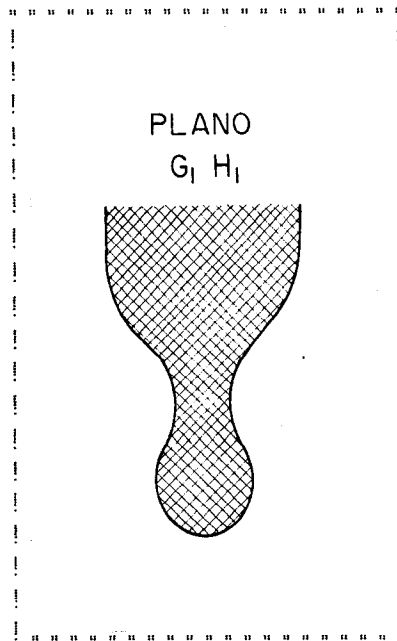


Figura 19 - Esquema da situação representada pelo plano G<sub>1</sub>-H<sub>1</sub>



Foto 16 - Corte histológico representativo do plano G<sub>2</sub> - H<sub>2</sub>.

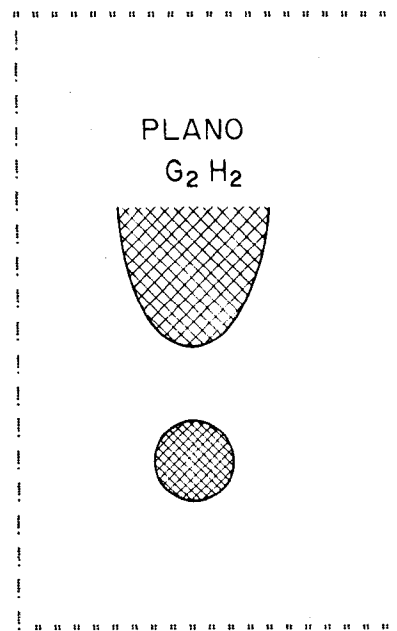


Figura 20 - Esquema da situação representada pelo plano G<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>

No corte 02-H2 esta coluna desapareceria dando lugar, então, a necrose na porção superior, tecido normal e necrose na profundidade. (foto 16 e figura 20 na página anterior).

A condução térmica através dos tecidos é um outro dado que afeta os cortes ou perfurações realizados com o laser de dióxido de carbono, uma vez que o mesmo atua estritamente por ação térmica. Em alguns cortes observamos verdadeiras "ilhas" de tecido muscular íntegro ou parcialmente íntegro na intimidade do halo de necrose. Quando as fibras conservadas estão cortadas transversalmente e assumem o aspecto de "ilhas de tecido íntegro" é fácil a observação de que as mesmas foram poupadas, porém quando as fibras tanto musculares como colágenas acham-se dispostas longitudinalmente, podemos ter a falsa impressão que o efeito laser foi "interrompido" para continuar mais abaixo. As fotos 17, 18, 19 e 20 exemplificam este efeito. Vasos, principalmente arteriais, determinam um certo efeito de "contenção" da necrose como mostra a foto 21.

É possível entendermos este fenômeno, levando em consideração que diferentes tecidos apresentam diferentes propriedades térmicas como condução e absorção de calor. Nos casos apresentados, o tecido íntegro em forma de "ilha", a nível da microscopia óptica, comportou-se como mero condutor de calor para a camada inferior de tecido submucoso



Foto 17 - Feixe de fibras musculares cortadas transversalmente no interior do halo de necrose.

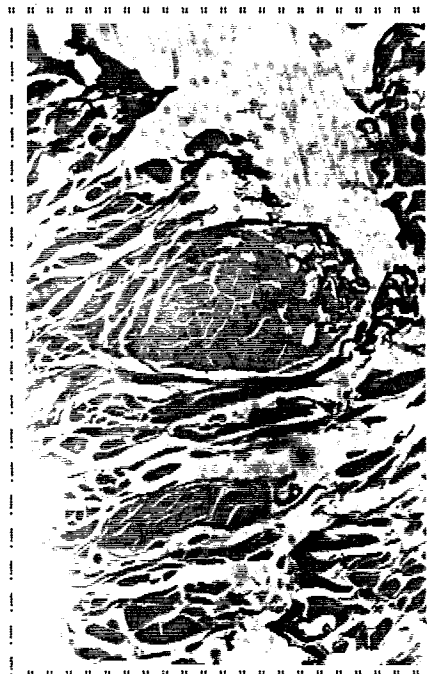


Foto 18 - Mesmo efeito da foto anterior com maior aumento. Objetiva: 10 x.



Foto 19 - Feixe de fibras musculares cortadas longitudinalmente na profundidade do halo de necrose.

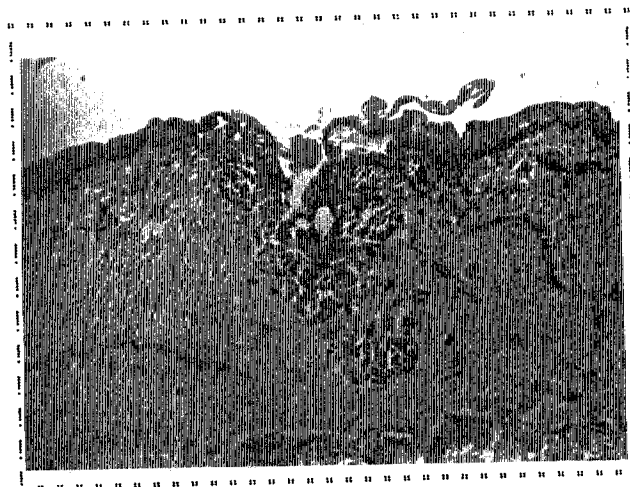


Foto 20 - Fibras colágenas "interrompendo" o halo de necrose em sua profundidade.

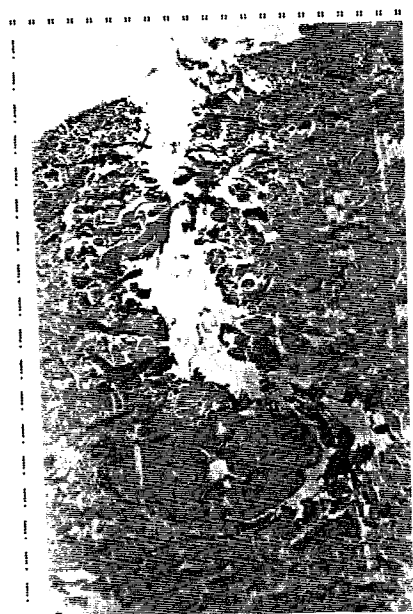


Foto 21 - Presença de um vaso arterial no fundo de uma cratera. Observa-se a necrose contornando o vaso.



frouxo, contendo fibras colágenas no qual a absorção de calor foi maior com conseqüente necrose. No caso dos vasos temos, ainda, a circulação do sangue no seu interior o que deverá, sempre, determinar um maior grau de refrigeração de suas paredes, protegendo-as da ação laser.

A formação de uma cratera (área de tecido vaporizado), assim como do halo de necrose em torno da mesma são uma decorrência direta da quantidade de energia laser empregada. Na sua avaliação devemos, entretanto, ter sempre a certeza de estarmos medindo cortes da porção bem medial da lesão, caso contrário, os resultados obtidos serão totalmente distituídos de significado.

Com respeito ao halo de necrose, observamos, ainda, que o comportamento do mesmo difere se analisado na superfície ou na profundidade do corte em função da potência e tempo de exposição empregados. Isto será discutido, com detalhes, mais adiante neste capítulo.

O feixe laser ao atingir um tecido vivo provoca, além da vaporização tecidual e desnaturação proteica (necrose), pressões dentro do tecido provavelmente pela vaporização súbita da água ali existente. Estas pressões determinam deslocamentos estruturais que na superfície, se traduzem pela elevação dos bordos da área lesada e na intimidade do tecido são mais observáveis a nível dos feixes musculares longitudinais, os quais tornam-se

abaulados na porção inferior da cratera. Estes efeitos podem ser perfeitamente observados nas fotos 22, 23 e 24 as quais foram selecionadas entre vários casos ocorridos.

Quanto ao epitélio da mucosa, observamos uma destruição total na zona central da lesão, sendo que mais lateralmente, as células pavimentosas encontram-se de aspecto alongado (como que desidratadas), com núcleos evidentes e grande perda de conteúdo citoplasmático. A nível da camada basal do epitélio ocorre perda total da arquitetura celular, tanto mais evidente quanto mais próximo da zona vaporizada (fotos 25 e 26). De um modo geral, podemos observar que quanto mais intenso for o feixe laser e menor for o tempo de exposição, o dano na superfície será relativamente menor, uma vez que pouco será o tecido lesado em torno da área vaporizada.

Observamos, ainda, que se um fragmento de tecido, contendo uma lesão for seccionado obliquamente ao plano do micrótomo, teremos um corte que mostrará um epitélio praticamente bem conservado e abaixo do mesmo, uma zona de necrose cônica típica de um corte realizado próximo à margem de uma lesão conforme foto 27, isto porque o epitélio acima da necrose não corresponde ao lesado e sim, ao que lhe fica lateral.

Considerando o que foi discutido acima, vemos que existe uma grande dificuldade quando tentamos quantificar os



Foto 22 - Deslocamento de fibras musculares abaixo da área lesada.



Foto 23 - Elevação dos bordos da lesão.

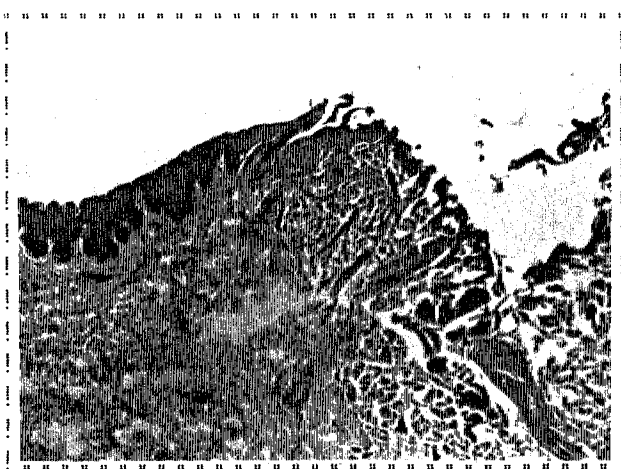


Foto 24 - Detalhe da elevação dos bordos.

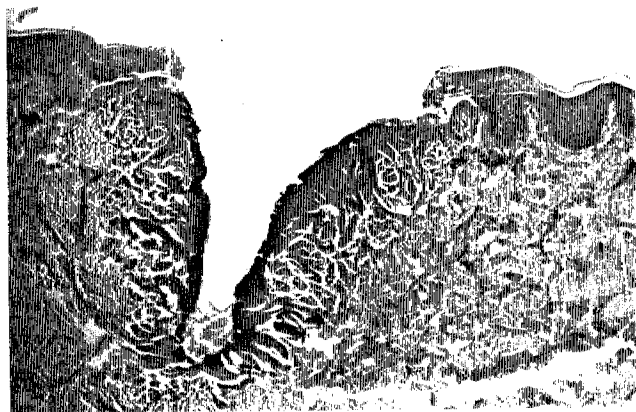


Foto 25 - Lesão a nível do epitélio da mucosa. Pequeno aumento  
Objetiva: 4 x.

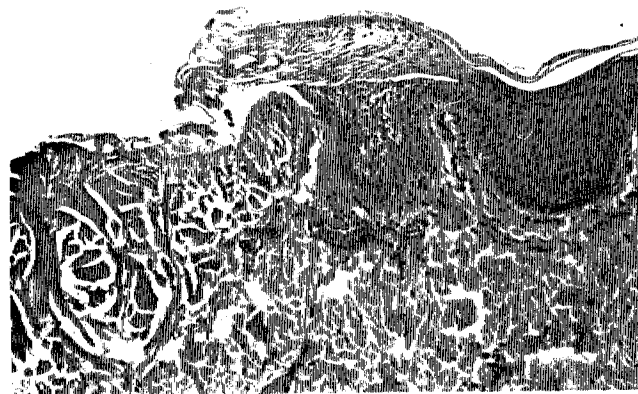


Foto 26 - Lesão a nível do epitélio da mucosa. Maior aumento. Objetiva: 10 x.

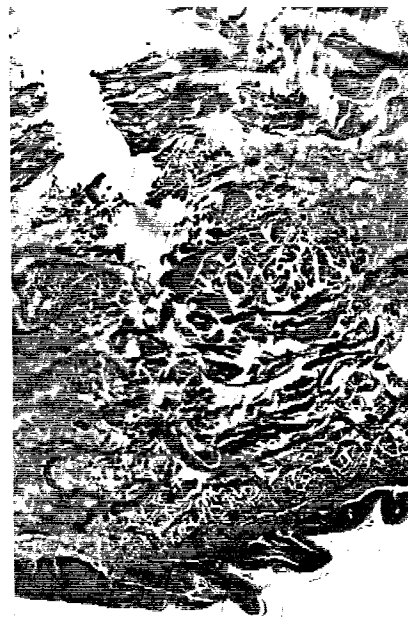


Foto 27 - Corte oblíquo. Epitélio da mucosa parcialmente conservado, com necrose na zona mais profunda e inclusive corte das fibras musculares.

efeitos da radiação laser sobre um tecido vivo e se insistirmos em fazê-lo, de forma absoluta, estaremos certamente incorrendo em erros que podem levar a conclusões falsas. Por esta razão, optamos pela avaliação semi-quantitativa de nossos dados, sempre alerta à necessidade de tomar valores aproximados mas que se mantivessem dentro de uma margem de erro aceitável. Nessas condições, a avaliação qualitativa das alterações observadas passou a ser de grande importância, tendo sido muito valorizada no presente trabalho.

A Tabela 5, na próxima página, mostra as combinações de tempo e potência de laser por nós utilizadas. Normalmente são estes os parâmetros aos quais o cirurgião tem acesso para planejar e executar uma intervenção cirúrgica e é assumida uma certa linearidade nos efeitos obtidos por combinações adequadas dos mesmos.

TABELA 5

		Potência (Watt)											
		#	2	!	4	!	6	!	8	!	10	#	
T e m p o	#####	#	0,1	!	0,2	!	0,4	!	0,6	!	0,8	!	1,0
		#	0,2	!	0,4	!	0,8	!	1,2	!	1,6	!	2,0
		#	0,3	!	0,6	!	1,2	!	1,8	!	2,4	!	3,0
		#	0,4	!	0,8	!	1,6	!	2,4	!	3,2	!	4,0
		#	0,5	!	1,0	!	2,0	!	3,0	!	4,0	!	5,0
		#	0,6	!	1,2	!	2,4	!	3,6	!	4,8	!	6,0
		#	0,75	!	1,5	!	3,0	!	4,5	!	6,0	!	7,5
		#	1,0	!	2,0	!	4,0	!	6,0	!	8,0	!	10,0
		#	1,5	!	3,0	!	6,0	!	9,0	!	12,0	!	15,0
		#	3,0	!	6,0	!	12,0	!	18,0	!	24,0	!	30,0

O significado físico do produto **potência x tempo** é bastante conhecido e resulta na **energia total entregue ao tecido**. Em termos analíticos temos então:

$$P (W) \times t (s) = E (J)$$

Como sabemos, a energia é responsável pelo efeito no tecido, quer sob o ponto de vista de produção de trabalho mecânico pela remoção de material biológico, quer pela participação em reações químicas endotérmicas e ainda aquecimento simples com a subsequente dissipação térmica.

Aparentemente, um mesmo valor de energia deveria

produzir efeitos iguais sobre um dado tecido, entretanto, devido a fatores como a dissipação térmica pelo tecido atingido, não é bem isto que observamos na prática. Analisando, a título de ilustração, uma situação limite em que a densidade de potência da fonte de radiação fosse extremamente fraca, digamos 1 miliwatt por milímetro quadrado e um tempo de exposição longo, de 1 hora por exemplo, teríamos entregue a esta área de 1 milímetro quadrado a energia de

$$1 \text{ mW} \times 3600 \text{ s} = 3,6 \text{ J}$$

Esta densidade de energia de 3,6 Joule por milímetro quadrado corresponde à que estamos acostumados a receber diariamente sob a forma de energia solar. Entretanto, se esta mesma energia fosse transferida ao tecido por um pulso de laser de duração de 1 milissegundo e uma densidade de potência de 3600 Watts por milímetro quadrado o efeito obtido seria uma lesão considerável sobre o tecido.

Este efeito deve-se ao fato de que a condutividade térmica na pele, sendo diferente de zero, porém suficientemente baixa, consegue dissipar lentamente a energia recebida caso esta também lhe seja entregue de forma lenta como é o que ocorre com a pele exposta a energia solar. Porém, no caso do pulso de laser, como a energia é entregue em uma fração de tempo muito curta e a capacidade

de dissipação térmica da pele é muito lenta ocorre a lesão tecidual.

Acima referimo-nos à **densidade de energia** em vez de simplesmente energia. Este conceito é muito importante e merece menção aqui, uma vez que é pouco referido na literatura. Seu desconhecimento pode causar sérios danos teciduais (40).

A energia sai do laser em forma de fluxo através de uma área com diâmetro determinado. Devido à colimação relativamente boa do laser, o fluxo de energia propaga-se, atravessando sempre áreas iguais, não sofrendo dispersão ou tampouco concentração. Assim, temos uma densidade de energia constante, isto é, uma certa quantidade de Watts por metro quadrado, constante. O uso de lentes com distância focal conveniente permite concentrar a energia em áreas limites que dependem desta distância focal. Utilizando lentes de distância focal cada vez menor, podemos concentrar mais a energia, isto é, podemos aumentar a **densidade de energia** e conseqüentemente causar danos teciduais diversos.

A Tabela 5, mostrada na página 96, permite agrupar situações de energia (J) constante ou aproximadamente constante para um estudo de natureza semelhante ao exemplo acima, dado como ilustração.

Assim, temos, em decorrência do conceito expresso pela fórmula  $E = P \times t$ , os seguintes grupos:



**Grupo I**

Energia: 1 J  
 P (W): ! 10 ! 8 \* ! 6 \* ! 4 \* ! 4 \* ! 2 \* ! 2 ! 2 \* !  
 T (s): ! 0,1 ! 0,1 ! 0,2 ! 0,2 ! 0,3 ! 0,4 ! 0,5 ! 0,6 !

**Grupo II**

Energia: 2 J  
 P (W): ! 10 ! 6 \* ! 4 ! 2 !  
 T (s): ! 0,2 ! 0,3 ! 0,5 ! 1,0 !

**Grupo III**

Energia: 3 J  
 P (W): ! 10 ! 8 \* ! 6 ! 4 ! 2 !  
 T (s): ! 0,3 ! 0,4 ! 0,5 ! 0,75 ! 1,5 !

**Grupo IV**

Energia: 4 J  
 P (W): ! 10 ! 8 ! 6 \* ! 4 !  
 T (s): ! 0,4 ! 0,5 ! 0,6 ! 1,0 !

**Grupo V**

Energia: 6 J  
 P (W): ! 10 ! 8 ! 6 ! 4 ! 2 !  
 T (s): ! 0,6 ! 0,75 ! 1,0 ! 1,5 ! 3,0 !

**Grupo VI**

Energia: 12 J  
 P (W): ! 8 ! 6 !  
 T (s): ! 1,5 ! 3,0 !

O asterisco (\*) refere-se a situações onde foram utilizados valores aproximados de energia.

Em todos os casos de nosso estudo a radiação foi focalizada por uma lente de distância focal  $f = 10$  cm o que possibilitou uma concentração de energia em uma área da ordem de 0,7 milímetros quadrados.

A motivação apresentada anteriormente e que levou-

nos á formação dos grupos de energia constante, permite uma previsão do comportamento dos parâmetros de cratera (A, B, a, b, c) em função da potência e do tempo de exposição.

Todo o tecido oferece resistência á condução de calor através do mesmo, isto é, se em um dado ponto do tecido chegar uma certa quantidade de energia térmica, logo ficará estabelecido um fluxo de calor a partir do mesmo, levando um certo tempo, característico do tecido, para que a energia se escoe do ponto inicialmente atingido. Assim, se a energia de um laser for transferida lentamente para um tecido, dependendo da condutividade térmica do mesmo, a velocidade de escoamento do calor a partir daquele ponto poderá ser suficiente para impedir a elevação da temperatura local até o nível necessário para causar vaporização tecidual. Por outro lado, se a radiação do laser chegar rapidamente ao tecido, não haverá fluxo térmico suficiente para impedir a elevação da temperatura no caminho do feixe laser. Ocorrerá, então, uma vaporização tecidual rápida e pouco calor conseguirá difundir-se para o interior do tecido.

Para melhor entender o comportamento do tecido atingido pelo laser em situações de energia constante mas com tempos de exposição variáveis, definimos **parâmetros de mérito** a partir dos parâmetros A, B, a, b, c, da figura 13, e que são os seguintes:

- necrose em profundidade:  $(A - B)$
- necrose lateral a nível da camada basal do epitélio:  $(b - c)/2$
- profundidade do corte:  $B$
- dano superficial:  $a$
- abertura do corte a nível da camada basal do epitélio:  $c$

Assim, as considerações anteriores levam às seguintes conclusões para energia (J) constante e tempos crescentes, desde que a situação inicial refira-se a uma combinação de tempo (s) e potência (W) tal que o efeito resultante seja o de corte profundo e pouca necrose.

Parâmetro  $(A - B)$  : aumenta até um certo máximo e depois tende a desaparecer com o desaparecimento do corte (tempo extremamente longo)

Parâmetro  $(b - c)/2$  : aumenta inicialmente. Em situações de tempo extremamente longo, desaparece.

Parâmetro  $B$  : diminui até desaparecer.

Parâmetro  $a$  : aumenta até transformar-se em eritema.

Parâmetro  $c$  : aumenta inicialmente, para

depois sofrer redução e desaparecer.

As hipóteses sobre o comportamento dos parâmetros de mérito em função da duração da transferência de energia podem ser resumidas pela figura abaixo:

```

.....
! # zona 1 # zona 2 # zona 3 # zona 4 # zona 5 # !
! #=====##=====##=====##=====##=====## !
!----->
! pulso rápido      situação intermediária      transferência de
!                                     energia muito
!                                     lenta
!.....

```

Figura 17 - zona 1 <--- Corte profundo com pouca necrose.  
zona 2 <--- Corte mais superficial com maior necrose.  
zona 3 <--- Ausência de corte com necrose profunda.  
zona 4 <--- Ausência de corte com necrose extensa e superficial.  
zona 5 <--- Eritema

Podemos agora voltar a nossos resultados experimentais, em particular aos contidos nos grupos I a IV, e analisá-los frente às hipóteses e conceitos estabelecidos acima.

**Grupo I** - Este grupo representa o de energia mais baixa (1 Joule) por nós utilizada. Somente em duas situações o valor da energia é exato, nas demais desvia-se cerca de 20% para mais ou

menos. A Tabela 6, bem como a sequência de fotos 28, 29, e 30, ilustram o tipo de efeito observado para durações crescentes do pulso de 1 Joule aproximado. Para isto utilizamos apenas 3 situações bem características do conjunto, evitando aquelas em que um dos parâmetros, tempo ou potência, fosse repetido. Observamos redução na profundidade da cratera (B) do corte correspondente a  $10 \text{ W} \times 0,1 \text{ s}$  para o de  $6,0 \text{ W} \times 0,2 \text{ s}$ . Na situação de  $2,0 \text{ W} \times 0,5 \text{ s}$  a profundidade B é discretamente maior do que na anterior, acreditamos que isto se deva, provavelmente a uma variabilidade na estrutura do tecido com um maior componente em água. Foi nítido o aumento de (A - B). O aumento do parâmetro a é perfeitamente mensurável e quanto ao parâmetro c, apesar da aproximação feita, pode-se perceber que o mesmo apresenta um comportamento segundo o previsto, isto é, aumenta da primeira para a segunda situação, sendo que na situação de tempo mais longo observa-se uma redução considerável do mesmo.

TABELA 6

Potência (Watt)	#	10,0	!	6,0	!	2,0	#
Tempo (segundos)	#	0,1	!	0,2	!	0,5	#
A - B (micrômetros)	#	20	!	26	!	48	#
$(b - c)/2$ (micrômetros)	#	28	!	40	!	50	#
B (micrômetros)	#	80	!	50	!	55	#
a (micrômetros)	#	110	!	140	!	160	#
c (micrômetros)	#	40	!	44	!	30	#

## GRUPO I: Energia de 1 Joule

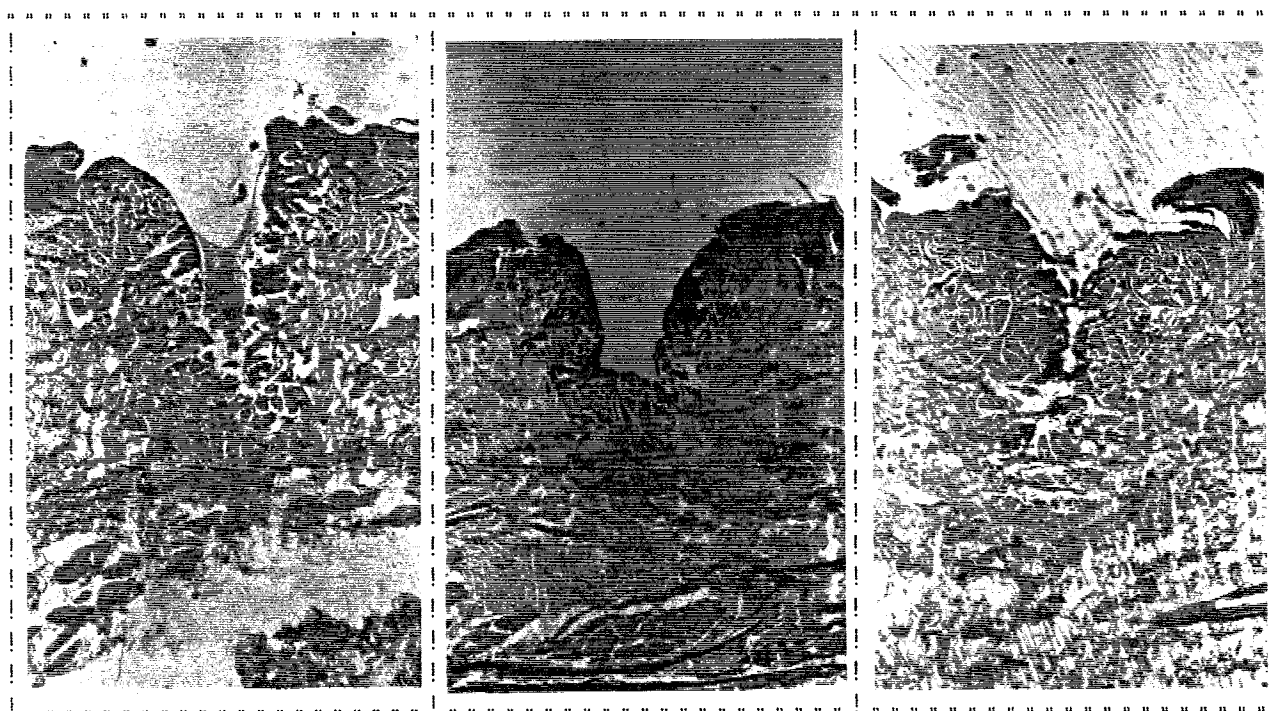


Foto 28

 $10 \text{ W} \times 0,1 \text{ s}$ 

Foto 29

 $6 \text{ W} \times 0,2 \text{ s}$ 

Foto 30

 $2 \text{ W} \times 0,5 \text{ s}$

Grupo II - A Tabela 7 e as fotos 31, 32 e 33 referem-se a situações bem ilustrativas de pulsos de laser para a potência de 2 Joules em tempos de exposição crescentes. Observamos que os parâmetros de mÉRito neste grupo comportam-se de acordo com as hipóteses estabelecidas. Salientamos que a cratera representada na foto 32 embora apresentando configuração um pouco diferente das demais não fugiu da sistemática estabelecida.

TABELA 7

Potência (Watt)	# 10,0	!	4,0	!	2,0	#
Tempo (segundos)	# 0,2	!	0,5	!	1,0	#
A - B (micrômetros)	# 20	!	28	!	34	#
(b-c)/2 (micrômetros)	# 26	!	40	!	46	#
B (micrômetros)	# 100	!	54	!	48	#
a (micrômetros)	# 112	!	115	!	120	#
c (micrômetros)	# 40	!	36	!	32	#



GRUPO II: Energia de 2 Joules

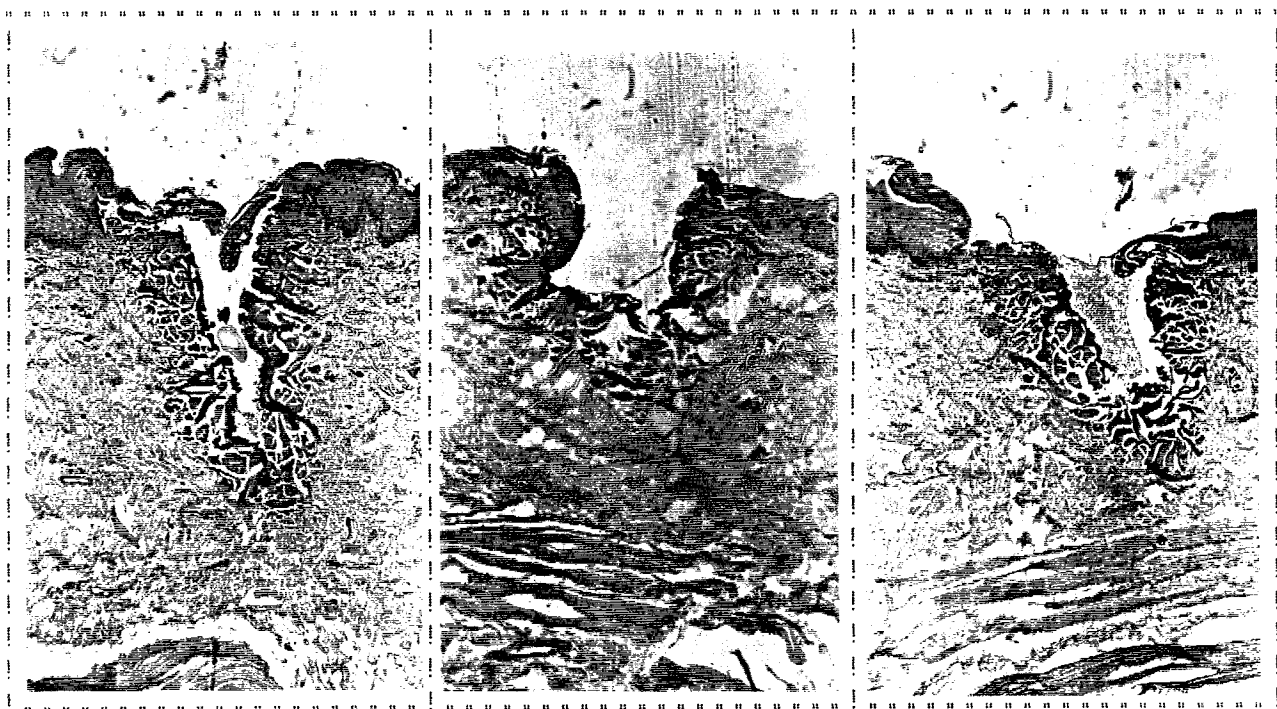


Foto 31

10 W x 0,2 s

Foto 32

4 W x 0,5 s

Foto 33

2 W x 1,0 s

**Grupo III** - A situação de energia de 3 Joules representada pela Tabela 8 e fotos 34, 35 e 36 permite uma visualização melhor dos efeitos estudados em relação aos casos anteriores. A profundidade de corte varia em cerca de 50% para as variações de tempo utilizadas. Em particular, entre as situações de 0,5 s e a situação de 1,5 s, a variação do parâmetro **B** foi maior do que a variação observada entre as situações de 0,3 s e 0,5 s como era de se esperar, uma vez que de 0,5 s para 1,5 s temos um fator de multiplicação 3 enquanto no outro caso (entre 0,3 s e 0,5 s) o fator é consideravelmente menor. A necrose observada no fundo da cratera (**A - B**), obtida com 0,3 s é quase inexistente, enquanto que na situação extrema de 1,5 s chega até 60 micrômetros. Os demais parâmetros comportam-se de maneira esperada sem grande variação entre si, uma vez que a energia empregada caracteriza o efeito no tecido entre as situações de corte profundo com pouca necrose relativa e corte mais superficial com necrose relativa maior (veja figura 17).

TABELA 8

Potência (Watt)	# 10,0	!	6,0	!	2,0	#
Tempo (segundos)	# 0,3	!	0,5	!	1,5	#
A - B (micrómetros)	# ?	!	28	!	60	#
$(b - c)/2$ (micrómetros)	# 26	!	50	!	68	#
B (micrómetros)	# ?	!	108	!	60	#
a (micrómetros)	# 120	!	160	!	180	#
c (micrómetros)	# 44	!	48	!	52	#

## GRUPO III: Energia de 3 Joules

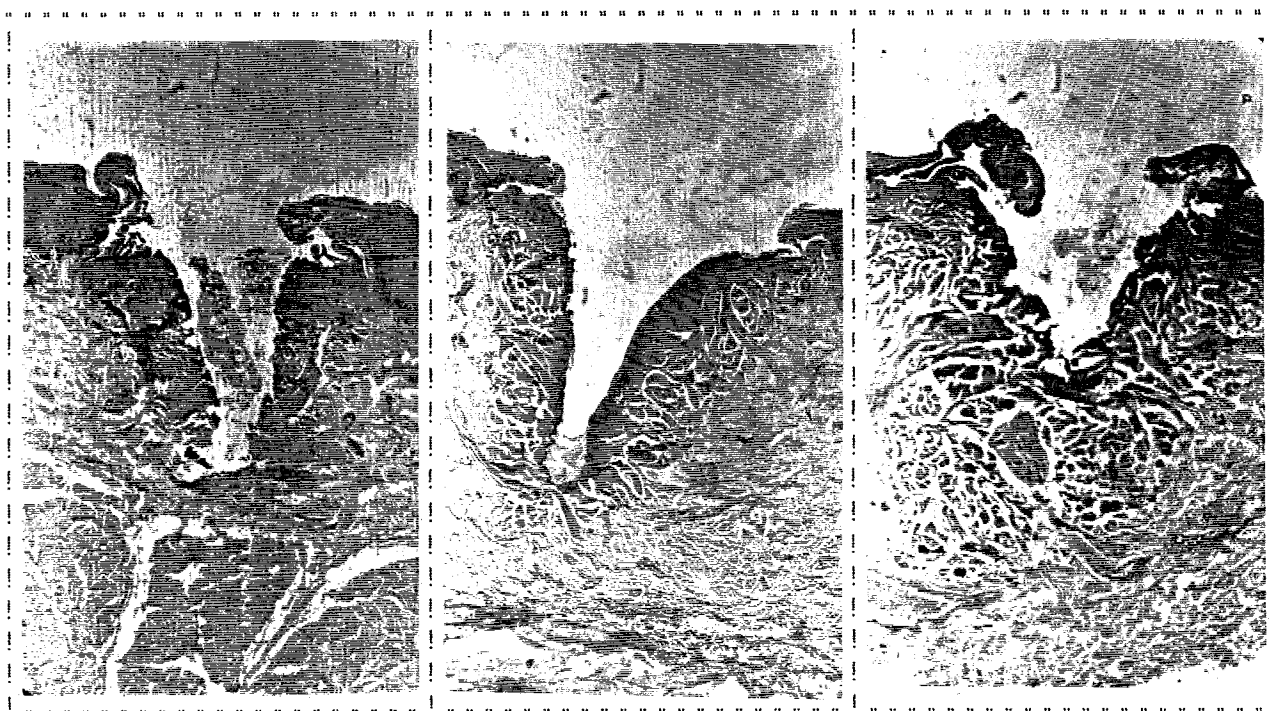


Foto 34

10 W x 0,3 s

Foto 35

6 W x 0,5 s

Foto 36

2 W x 1,5 s

**Grupo IV** - Este grupo, Tabela 9, corresponde à energia de 4 Joules, cuja ação no tecido é semelhante a do grupo anterior, evidenciando entretanto que para maiores energias os efeitos estudados ficam mais acentuados ainda. A sequência de tempos da tabela está entre 0,4 s e 1,0 s porém a necrose, no fundo da lesão, atinge um valor extremo, para  $t=1,0$  s, o qual é 4,5 vezes maior do que o valor medido para  $t=0,4$  s, isto é, para um tempo de duração do pulso somente 2,5 vezes menor do que o valor máximo utilizado. Os demais parâmetros comportam-se de maneira análoga o que pode ser visto pela sequência de fotos 37, 38 e 39.

TABELA 9

Potência (Watt)	#	10	!	8,0	!	4,0	#
Tempo (segundos)	#	0,4	!	0,5	!	1,0	#
A - B (micrômetros)	#	20	!	40	!	90	#
$(b - c)/2$ (micrômetros)	#	48	!	55	!	70	#
B (micrômetros)	#	140	!	126	!	70	#
a (micrômetros)	#	150	!	160	!	170	#
c (micrômetros)	#	60	!	60	!	25	#

## GRUPO IV: Energia de 4 Joules

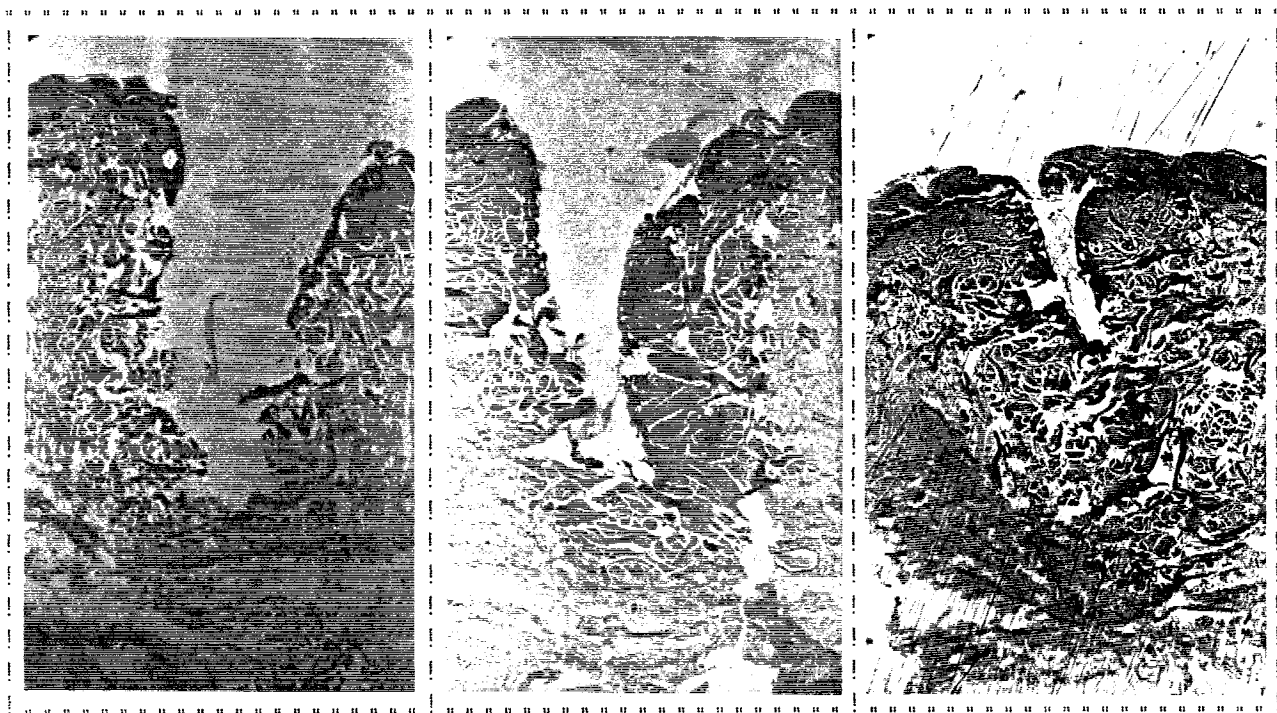


Foto 37

10 W x 0,4 s

Foto 38

8 W x 0,5 s

Foto 39

4 W x 1,0 s

**Grupo V** - No grupo, apresentado na Tabela 10 e fotografias 40, 41, 42 e 43 é mais um exemplo que comprova a validade de nossas hipóteses. Entretanto, as situações registradas pelas fotos situam-se conforme a nossa classificação (figura 17) em **corte profundo e pouca necrose relativa** (situações de 0,6 s, 1,0 s e 1,5 s) e **corte mais superficial com maior necrose relativa** (situação de 3,0 s), dando evidências da importância da classificação referida anteriormente. Salientamos que o corte representando 10,0 W x 0,6 s sofreu, durante a montagem, distorções evidentes e que justificam o valor aparentemente reduzido do parâmetro c.

TABELA 10

Potência (Watt)	#	10	!	6,0	!	4,0	!	2,0	#
Tempo (segundos)	#	0,6	!	1,0	!	1,5	!	3,0	#
A - B (micrômetros)	#	20	!	44	!	56	!	56	#
(b - c)/2 (micrômetros)	#	50	!	64	!	80	!	60	#
B (micrômetros)	#	190	!	120	!	140	!	100	#
a (micrômetros)	#	150	!	175	!	180	!	190	#
c (micrômetros)	#	36	!	70	!	64	!	50	#

GRUPO V: Energia de 6 Joules



Foto 40 - 10 W x 0,6 s.



Foto 41 - 6 W x 1,0 s.



Foto 42 - 4 W x 1,5 s.



Foto 43 - 2 W x 3,0 s.



**Grupo VI** - Devido à limitação do instrumental, temos apenas duas situações de duração de pulso e potência do laser onde a energia resultante foi de 12 Joules. O efeito sobre a mucosa oral pode ser observado através da Tabela 11 e da sequência de fotos 44 e 45. Na tabela podemos observar que tanto a potência como o tempo de exposição neste grupo sofreram uma variação de 100% entre as duas situações apresentadas, porém a variação dos parâmetros de mérito não apresentou um comportamento linear. Ressaltamos, entretanto, que a variação destes parâmetros, entre si, manteve-se dentro dos padrões esperados. A reprodução fotográfica das crateras ficou bastante prejudicada devido ao tamanho das mesmas, não sendo possível mostrar a necrose lateral  $(b - c)/2$  e a necrose na profundidade da lesão  $(A - B)$ , em toda a sua extensão. O epitélio da mucosa bem como o tecido íntegro em torno da área lesada também não aparecem na foto, prejudicando a visualização da extensão da mesma.

TABELA 11

Potência (Watt)	#	8	!	4	#
Tempo (segundos)	#	1,5	!	3,0	!
A - B (micrômetros)	#	140	!	180	#
(b - c)/2 (micrômetros)	#	80	!	100	#
B (micrômetros)	#	300	!	220	#
a (micrômetros)	#	210	!	240	#
c (micrômetros)	#	70	!	80	#

Os seis grupos, que acabamos de discutir, foram formados tendo em vista a constância da energia em cada um deles. Para isto tomamos como variáveis a potência e o tempo de irradiação do laser. Esta escolha foi baseada na conceituação física de cada grandeza envolvida na equação **Energia = Potência x Tempo**, bem como nas implicações decorrentes do tipo do material utilizado, isto é, tecido vivo.

O nosso conjunto de dados é bastante rico, tornando difícil limitar a discussão somente em termos do que foi visto aqui. Entretanto, discussões sobre outros encaminhamentos como, por exemplo, tomando a **potência** como constante e variando o tempo de aplicação, já têm sido direta ou indiretamente mencionadas na literatura.

Preferimos limitar a nossa discussão no que consideramos absolutamente original.

GRUPO VI: Energia de 12 Joules



Foto 44

8 W x 1,5 s

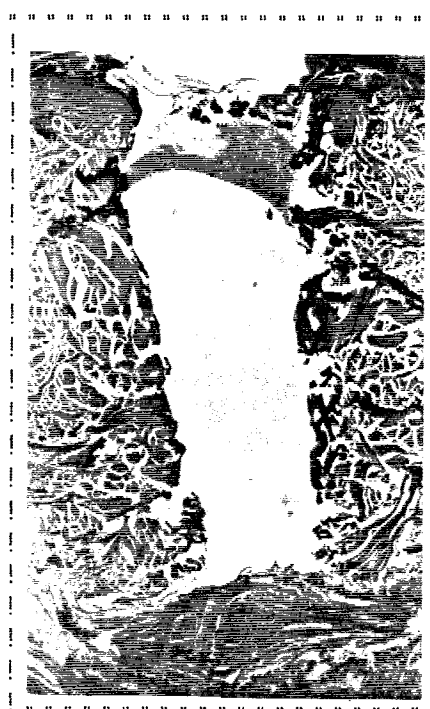


Foto 45

4 W x 3,0 s

\*\*\*\*\*

C O M E N T Á R I O S

E C O N C L U S Õ E S

\*\*\*\*\*

Ao iniciarmos o presente trabalho estávamos cientes de que um estudo sistemático da ação imediata do laser de dióxido de carbono sobre a mucosa oral ou sobre qualquer outro tecido vivo, não seria um trabalho fácil. Sabíamos, por outro lado, que os resultados obtidos poderiam trazer contribuições significativas para a pesquisa e desenvolvimento de práticas cirúrgicas com o laser. As dificuldades residiam, em grande parte, na inhomogeneidade dos tecidos vivos objeto de estudo, quando comparados com materiais plásticos que geralmente servem como modelo aproximado para o estudo da conformação de cortes e perfurações (78).

A primeira preocupação foi, portanto, a de avaliar sobre todos os ângulos possíveis as condições existentes para a execução do trabalho, a compreensão teórica do fenômeno de interação da radiação com o tecido vivo, a possibilidade de definição de parâmetros de mérito para aquilatar os resultados a serem estudados, o estabelecimento de critérios de identificação qualitativa dos efeitos, incluindo a garantia da reprodutibilidade dos dados a serem obtidos.

As condições para execução do trabalho foram criadas graças a interação FCM/IFGW. Acreditamos que a partir das bases deixadas aqui, será possível a continuidade de pesquisas na área de laser em Medicina na UNICAMP.

A **compreensão teórica** foi extensivamente estudada e resumida nos primeiros capítulos da tese, resultando em uma coletânea ordenada de fatos que poderá servir de introdução para outros autores da área médica que desejarem ir diretamente à utilização do laser em área específica.

O **estudo qualitativo** do fenômeno em aprêço exigiu que partíssemos de um número relativamente grande de observações, que na verdade foram da ordem de doze mil, para possibilitar a seleção de efeitos significativos frente às variáveis físicas do instrumental. Com isto estabelecemos critérios e padrões de estudo histológico que poderão ser utilizados para classificar efeitos do laser em situações anátomo-patológicas mais abrangentes.

Para a **avaliação semi-quantitativa** se fez necessária a definição de **parâmetros de mérito** bem como o estabelecimento de faixas de variação dos mesmos dentro das quais, o significado físico não seria distorcido. Estes parâmetros só foram definidos graças às inúmeras observações feitas e que possibilitaram a formação de uma imagem de cratera ideal (foto 1, figura 13). Acreditamos que a universalização de tais parâmetros poderá facilitar o entendimento de trabalhos correlatos, bem como, facilitará a descrição dos efeitos do laser em situações cirúrgicas diversas.

Além das contribuições citadas acima, mostramos

ainda que quando uma quantidade fixa de energia é transferida para um tecido, no caso específico a mucosa oral de cão, em tempos diferentes, os efeitos obtidos são diferentes e nem sempre comportam-se de forma linear. Estes efeitos podem ir desde extensos eritemas até perfurações profundas com pouca necrose envolvendo a área vaporizada. Nossos resultados são, portanto, bons indicadores para o planejamento de cirurgias, principalmente aquelas em que estão envolvidas estruturas delicadas, como otoneurocirurgias e neurocirurgias em geral. Nestes casos, os tecidos que devem ser destruídos ou seccionados estão, geralmente, muito próximos ou mesmo aderidos a estruturas nobres e que não podem sofrer danos de qualquer natureza.

Apesar do nosso estudo restringir-se aos efeitos imediatos, os resultados obtidos permitem uma previsão para o comportamento cicatricial de certas lesões obtidas com o laser. Isto é evidenciado pela comparação da extensão da necrose  $\langle (A - B) \text{ e } (b - c)/2 \rangle$  obtida em situações diversas de tempo e potência. Acreditamos que o efeito cicatricial deva ser retardado nas situações em que o volume de tecido necrosado seja grande, uma vez que o processo cicatricial só se inicia após a absorção de todo o material necrótico. Teremos, portanto, uma cicatrização retardada associada a uma maior reação inflamatória local. Se, por outro lado, a escolha dos parâmetros tempo e potência, nos levar à

obtenção de uma zona de tecido vaporizado rodeada de um halo mínimo de necrose, o início do processo cicatricial será praticamente imediato e a reação inflamatória local quase inexistente. É com base nestes efeitos que se justifica o grande sucesso do uso do laser nas microcirurgias de laringe, tornando desnecessária a realização de traqueostomias em grande número de casos, além de proporcionar aos pacientes um pós-operatório muito mais tranquilo (45).

A especialidade de Cirurgia Plástica, onde a minimização das sequelas cicatriciais é fator fundamental no planejamento cirúrgico, deve beneficiar-se muito da escolha adequada dos parâmetros físicos do laser de modo a obter um mínimo de tecido necrosado em relação a área de tecido ressecado.

Pre vemos ainda situações em que o objetivo não é a vaporização de grandes áreas de tecido com o intuito de corte mas sim, uma ação muito superficial comprometendo apenas as primeiras camadas do epitélio, equivalente à ação de um cautério químico. Este efeito, pode ser perfeitamente obtido com o laser obedecendo ao esquema apresentado na figura 17, desde que sejam utilizadas combinações de tempo de exposição e potência adequados. Existe ainda a vantagem de, no caso do laser, não haver necessidade de contato mecânico o que evita traumatismos bem como uma possível



contaminação das áreas atingidas. No caso da Otorrinolaringologia, tais procedimentos poderiam ser de grande utilidade em cauterização de faringites crônicas hipertróficas, cauterização de epistaxes ou ainda cauterização de tecidos de granulação que muitas vezes se formam sobre os enxertos timpânicos, comprometendo o êxito de uma timpanoplastia. Esta utilização da radiação laser vem sendo objeto de novas pesquisas em seguimento ao conteúdo da presente tese e acreditamos que os resultados possam ser apresentados a curto prazo de tempo.

Concluimos, portanto, que o laser de dióxido de carbono deve ser considerado como um instrumental de utilidade médica indiscutível devido a sua aplicabilidade nas áreas cirúrgicas mais diversas, apresentando vantagens inegáveis do ponto de vista de programação cirúrgica, previsão de efeitos cicatriciais, redução do sangramento, ausência de contaminação no ato cirúrgico, além de redução no tempo de hospitalização e pós-operatório mais confortável para o paciente.

Esperamos que os resultados da presente tese possam estimular e contribuir para o desenvolvimento científico e técnico do laser aplicado a medicina.

\*\*\*\*\*

B I B L I O G R A F I A

\*\*\*\*\*

1. FABRIKANT, V.A.: Apud GAMLEYA, N.F.: in: WOLBARSHT, M.L.:  
**Laser Applications in Medicine and Biology.** Plenum Press, New York, 1977, Vol. 3, pag. 1.
2. WEBER, J.: Apud GOLDMAN, L.: **Biomedical Aspects of the Laser.** Springer-Verlag, New York Inc., 1967, pag. 1
3. BASOV, N.G. & PROKHOROV, M.A.: in: GOLDMAN, L.: pag. 1 da Ref. 2.
4. TOWNES, C.H.: Production of Coherent Radiation by Atoms and Molecules. **1964 Nobel Lecture: IEEE Spectrum:** Aug. 1965.
5. SHAWLOW, A.L. & TOWNES, C.H.: He-Ne Maser. **Phys. Rev., 112:** 1940-1945, 1958.
6. MAIMANN, T.: in: GOLDMAN, L.: pag. 1 da Ref. 2.
7. JAVAN, A.; BENNETT, W.B. & HERRIOTT, T.R.: in: GOLDMAN, L.: pag 2 da Ref. 2.
8. BASOV, N.G. & PROKHOROV, A.M.: Apud GAMLEYA, N.F.: in: WOLBARSHT, M.L.: pag. 3 da Ref 1.
9. PATEL C.K.: Continuous-wave Laser Action on Vibrational Rotational Transitions of CO<sub>2</sub>. **Phys. Rev., 136:** 1187-1193, 1964.
10. JAGGER, J.: Apud: SAKS, N.M.: in: WOLBARSHT, M.L.: **Laser Application in Medicine and Biology.** Plenum Press, New York, 1971, Vol. 1, pag. 67.
11. BESSIS, M.: Apud: SAKS, N.M.: in WOLBARSHT, M.L.: pag. 67 da Ref. 10.

12. ZWENG, H.C.: **Lasers in Ophtalmology**. pag. 239 da Ref. 10
13. MEYER, M.R.: Apud: ZWENG, H.C.: pag. 239 da Ref. 10.
14. FLOCKS, M. & ZWENG, H.C.: Apud: ZWENG, H.C.: pag. 242 da Ref. 10.
15. BEATRICE, E.S.; BARLOW, H.I. & GLICK, D.: Apud: ZEITLER, E. & WOLBARSHT, M.L.: pag. 12 da Ref. 10.
16. JAKO, G.J.: **Laser Surgery of The Vocal Cords. An Experimental Study with Carbon Dioxide Laser on Dogs. Laryngoscope, 82: 2204-2216, 1972.**
17. ANDREW, A.H. & HOROWITZ, S.: **Bronchoscopy Carbon Dioxide Laser Surgery. Lasers in Surgery and Medicine, 1: 35-45, 1980.**
18. DANIELL, J.F. & BROWN, D.H.: **Carbon Dioxide Laser Laparoscopy: Initial Experience in Experimental Animals and Humans. Obstetrics and Gynecology, 59: 761-764, 1982.**
19. WILLSCHER, M.K.; FILOSO, A.M.; JAKO, G.J. & OLLSON, C.A.: **Development of a Carbon Dioxide Laser Cystoscope. Lasers in Surgery and Medicine, 1: 183-190, 1980.**
20. BERNIS, M.W.: **Viewpoint: Lasers in Biomedicine. Laser Focus, 1: (6), 66-71, 1983.**
21. BRUNETAUD, J.M. & DECOMPS, B.: **Les Laser en Médecine. La Recherche, 13: (137), 1122-1129, 1982.**

22. ESCOURROU, J.; FREXINOS, J.L.; MONROZIES, X.; BALAS, D.  
& RIBET, A.: Experimental Study of Laser Photocoagulation in the Treatment of Bleeding Canine Gastric Ulcers. *Lasers in Surgery and Medicine*, 1: 229-234, 1981.
23. HALLDORSSON, Th.; ROTHER, W.; LANGERHOLC, J. & FRANK, F.: Theoretical and Experimental Investigations Prove Nd:YAG Laser Treatment to be Safe. *Lasers in Surgery and Medicine*, 1: 253-262, 1981.
24. WANG, K.; YUE-HUA, W.; ZHANG, M.; SHI, X. & SHI, H.: Dye Laser in Ophthalmic Diseases. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2: 65-72, 1982.
25. CARRUTH, J.A.S.: The Establishment of Precise Physical Parameters for the Treatment of the Port Wine Stain with the Argon Laser. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2: 43-57, 1982.
26. COSMAN, B.: Role of Retreatment of Minimal-Power Argon Laser Therapy for Port Wine Stain. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2: 43-57, 1982.
27. MACRUZ, R.; ARMELIN, E.; BRUM, J.M.G.; RIBEIRO, M.P.; GOMES, O.M. & DÉCOURT, L.V.: Laser Application on Cardiovascular System. Experimental Data. *New Frontiers in Laser Medicine and Surgery*: pag. 288-295, Editor: Kazuhiko Atsumi, Amsterdam, Oxford, Princeton.

28. ZINN, K.M.: Clinical Aspects of Ophtalmic Argon Laser. **Lasers in Surgery and Medicine**, 1: 289-322, 1981.
29. GOLDMAN, L.: Laser Instrumentation, in: **Biomedical Aspects of the Laser**, Springer-Verlag, New York Inc., 1967, pag. 16-17.
30. NICOLA, J.H.: **Construção de um Laser de He-Ne e Uso em Estudo Experimental do Efeito Faraday**. Dissertação de Mestrado, UFRGS, 1970.
31. KUHL, I.A.; KUHL, G.: Obstrução Aguda da Laringe. **Clinica Pediátrica**, 1: (12), 30-35, 1977.
32. KUHL, I.A.; MALINSKY, A. & FERNANDES, H.J.: Tratamento da Papilomatose Laringea com Raios Laser. Comunicação Interna. Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1977.
33. KUHL, I.A.: Tumores Vasculares e Raios Laser. In: **Manual Prático de Laringologia**, Ed. 1, pag. 63-66, Editora da Universidade, UFRGS, 1982.
34. GOLDENBERG, S.; MINCIS, M.; HASHIBA, K.; DOMES, P.O. & GOLDENBERG, A.: Raio Laser de Dióxido de Carbono em Lesões Gástricas Sangrantes Provocadas Experimentalmente em Cães. **Rev. Assoc. Med. Brasil.**, 25: 175-178, 1979.

35. GOLDENBERG, S.; MINCIS, M.; HASHIBA, K.; GOMES, P.O.; HIDAL, J.T. & GOLDENBERG, A.: O Emprego do Raio Laser em Gastroenterologia. *Rev. Paul. Med.*, 90: 115-121, 1977.
36. GOLDENBERG, S.: Carbon Dioxide Laser in the Control of Experimentally Produced Gastric Bleeding Compared with Effects of Electrocautery and Adrenalin Solution. *Proceedings of the 2nd. International Symposium on Laser Surgery, Dallas, Texas, October 23-27, 1977.* Jerusalem Academic Press, Jerusalem, pag. 223-239, 1978.
37. GOLDENBERG, S.; MINCIS, M.; FRANÇA, L.C.M.; GOMES, P.O. & GOLDENBERG, A.: Estudio Comparativo entre el Efecto del Rayo Láser de Dióxido de Carbono y el del bisturi en la Cicatrizacion Gástrica en los Perros. *Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.*, 59: 79-92, 1981.
38. MACRUZ, R.; MARTINS, J.R.M.; TUPINAMBÁ, A.S.; LOPES, E.A.; VARGA, H.; PENA, A.F.; CARVALHO, V.B.; ARMELIN, E. & DÉCOURT, L.V.: Possibilidades Terapêuticas do Raio Laser em Ateromas. *Arq. Bras. Cardiol.*, 34: (1), 9-12, 1980.

39. MACRUZ, R.; ARMELIN, E.; BRUM, O.M.; FIORELLI, A.I.; RIBEIRO, M.; MNITTENTAG, J.; LOPES, E.A.; CAMARGO, P.R.; MADRIGANO, M.G.; PILLEGI, J.C.F.; DÉCOURT, L.V. & ZERBINI, E.J.: Aplicação do Laser no Sistema Cardiovascular. *Arq. Bras. Cardiol.*, 39: (1), 5-10, 1982.
40. NICOLA, E.M.D.; TREVISAN, M.; MELO, R.R.G.; NICOLA, J.H. & LIMA, E.J.: Desempenho de um Laser Nacional de Dióxido de Carbono para uso em Otorrinolaringologia *Rev. Bras. de ORL*, 47: 59-71, 1981.
41. NICOLA, E.M.D.; ENDO, L.H.; MELO, R.R.G.; LIMA, E.J. & NICOLA, J.H.: Nossa Experiência com um Laser Nacional de Dióxido de Carbono para uso em Cirurgias Otorrinolaringológicas: Estudo Preliminar. Trabalho apresentado no XXVI Congresso Brasileiro de ORL, Recife, Fernanbuco, 1982.
42. NUNES, P.H.F.; NICOLA, J.H.; NICOLA, E.M.D. & FAGUNDES, J.: Cirurgia Experimental com Laser: Sêmula de um Programa Interdisciplinar em Desenvolvimento na UNICAMP. *Anais do I Simpósio Estadual sobre Lasers e Aplicações*. Campinas, SP, 1983.



43. LIMA, E.J.; NICOLA, J.H. & NICOLA, E.M.D.:  
Desenvolvimento de um Laser de Dióxido de Carbono  
para Uso em Microcirurgias: Estudo Experimental em  
Mucosa Oral de Cobaia. **Anais do I Simpósio Estadual  
sobre Lasers e Aplicações**. Campinas, SP, 1983.
44. NICOLA, J.H.; NICOLA, E.M.D. & NUNES, P.H.F.: Cirurgia  
Experimental com Laser: Um Programa  
Interdisciplinar. **Anais do I Congresso Médico da  
FCM - UNICAMP**. Campinas, SP, 1983. (A publicar).
45. NICOLA, E.M.D.; NICOLA, J.H. & MELO, R.R.G.: Nossa  
Experiência com o Laser Nacional de Dióxido de  
Carbono na Cirurgia da Papilomatose da Laringe.  
**Anais do I Congresso Médico da FCM - UNICAMP**.  
Campinas, SP, 1983. (A publicar).
46. NICOLA, E.M.D.; ENDO, L.H. & NICOLA, J.H.: Amiloidose de  
Laringe: Tratamento com Laser Nacional de Dióxido  
de Carbono. **Anais do I Congresso Médico da FCM -  
UNICAMP**. Campinas, SP, 1983. (A publicar).
47. VERHULST, J. & VERHULST, D.: Le Laser en ORL. **Revue de  
Laryngologie**, 100: (3-4), 247-258, 1979.
48. BUETTNER, K.: Thermal Radiation and Reflection  
Properties of Human Skin. **Strahlentherapie**, 58: 345-360,  
1987.

49. HARDY, J.D.; HAMMELL, H.T. & MURGATROYD, D.: Spectral Transmittance and Reflectance of Excised Human Skin. *J. Appl. Physiol.*, 9: 257-264, 1957.
50. JACQUEZ, J.A.; KUPPENHEIM, H.F.; DIMITROFF, J.M.; McKEENAN, W. & HUSS, J.: Spectral Reflectance of Human Skin in the Region 235-700 Micrometers. *J. Appl. Physiol.*, 8: 212-214, 1955.
51. URBACH, F.: in: SLINEY, D. & WOLBARSH, M.: **Safety with Lasers and Other Optical Sources**, Plenum Press, New York, 1980, pag. 165.
52. ROCKWELL, R.J. & GOLDMAN, L. (1974); BROWNELL, A.S.; PARR, W.H. & HYSSELL, D.K. (1969); PARR, W.H. (1969): in: Cap. 5, pag. 168 da Ref. 51.
53. GOLDMAN, J.A.; CHIAPELLA, J.; CASEY, H.; BASS, M.; GRAHAN, J.; McCLATCHEY, W.; DRONAVALLI, R.V.; BROWN, R.; BENNETT, W.J.; MILLER, S.B.; WILSON, C.H.; PEARSON, B.; HAUN, C.; PERSINSKI, L.; HUEY, H. & MUCKERHEIDE, M.: Laser Therapy of Rheumatoid Arthritis. *Lasers in Surgery and Medicine*, 1: 93-101, 1980.
54. APFELBERG, D.B.; MASER, M.R. & LASH, H.: Argon Laser Treatment of Decorative Tattoos. *British Journal of Plastic Surgery*, 32: 141-144, 1979.

55. NOE, J.M.; BARSKY, S.H.; GEER, D.E. & ROSEN, S.: Port Wine Stains and the Response to Argon Laser Therapy: Successful Treatment and the Predictive Role of Color, Age and Biopsy. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 65: (2), 130-136, 1980.
56. GILCHREST, B.A.; ROSEN, S. & NOE, J.M.: Chilling Port Wine Stains Improves the Response to the Argon Laser Therapy. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 69: (2), 278-283, 1982.
57. GILBERT, D.A.; SILVERTEIN, F.E.; PROTELL, R.L.; DENNIS, M.B.; GULACSIK, C. & AUTH, D.C.: The Evaluation of Argon Laser Photocoagulation in a Series of Animal Models of Upper Gastrointestinal Bleeding. *Lasers in Surgery and Medicine*, 1: 177-182, 1980.
58. GUTTER, B.; SPECK, W.T. & ROSENKRANZ, H.S.: The Photodynamic Modification of DNA by Hematoporphyrin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 475: 307-314, 1977.
59. PROFIO, A.E. & DOIRON, D.R.: Laser Fluorescence Bronchoscope for Localization of Occult Lung Tumors. *Med. Phys.*, 6: 523-525, 1979.
60. DAHLMAN, A.; WILE, A.G.; BURNS, R.G.; MASON, G.R.; JOHNSON, F.H. & BERNS, M.W.: Laser Photoradiation Therapy of Cancer. *Cancer Research*, 43: 430-434, 1983.

61. McCAUGHAN, J.S.; GUY, J.T.; HAWLEY, P.; HICKS, W.; INGLIS, W.; LAUFMAN, L.; MAY, E.; MIMS, T.A. & SHERMAN, R.: Hematoporphyrin-Derivate and Photoradiation Therapy of Malignant Tumors. *Lasers in Surgery and Medicine*, 3: 199-209, 1983.
62. GOLDMAN, L.: Effects of New Lasers Systems on the Skin. *Arch. Dermatol.*, 108: 385-390, 1973.
63. GOLDMAN, L.; STEFANOVSKY, D.; GREGORY, R.O.; BAUMAN, W. & KOCH, M.: Research and Development of Additional Aids for Dermatologic and Plastic Surgery. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2: 323-330, 1983.
64. OMSHIRO, T.: The Carbon Dioxide Laser in the Treatment of Cavernous Haemangioma of the Lower Lip: A Case Report. *Lasers in Surgery and Medicine*, 1:337-345, 1981.
65. STRONG, M.S.; JAKO, G.J.; VAUGHAN, C.W.; HEALY, G.B. & POLANYI, T.: The Use of the Carbon Dioxide Laser in Otolaryngology: A Progress Report. *ORL*, 82: 595-602, 1976.
66. LYONS, G.D.; LOUSTEAU, R.J. & MOUNEY, D.F.: Carbon Dioxide Laser as a Clinical Tool in Otolaryngology. *The Laryngoscope*, 87: 689-691, 1977.

67. VAUGHAN, C.W.; STRONG, M.S. & JAKO, G.J.: Laryngeal Carcinoma: Transoral Treatment Utilizing the Carbon Dioxide Laser. *Am. J. Surg.*, 136: 490-493, 1978.
68. BELLINA, J.H. & SETO, Y.J.: Pathological and Physical Investigation into Carbon Dioxide Laser - Tissue Interactions with Specific Emphasis on Cervical Intraepithelial Neoplasm. *Lasers in Surgery and Medicine*, 1: 49-69, 1980.
69. STERN, L.S.; ABRAMSON, A.L. & GRIMES, G.W.: Qualitative and Morphometric Evaluation of Vocal Cord Lesions Produced by the Carbon Dioxide Laser. *The Laryngoscope*, 90: 792-808, 1980.
70. HALL, R.R.; BEACH, A.D.; BAKER, E. & MORISON, P.C.A.: Incision of Tissue by Carbon Dioxide Laser. *Nature*, 232: 131-132, 1971.
71. HEALY, G.B.; FEARON, B.; FRENCH, R. & MCGILL, T.: Treatment of Subglottic Hemangioma with the Carbon Dioxide Laser. *The Laryngoscope*, 90: 809-813, 1980.
72. LYONS, G.D.; LOUSTEAU, R.J. & MOUNEY, D.F.: Carbon Dioxide Laser in a Variety of Lesions. *The Laryngoscope*, 87: 1658-1662, 1977.
73. LYONS, G.D.; WEBSTER, D.B.; MOUNEY, D.F. & LOUSTEAU, R.J.: Anatomical Consequences of Carbon Dioxide Laser Surgery of Guinea Pig Ear. *The Laryngoscope*, 88: 1749-1754, 1978.

74. HOYE, R.C.; KETCHAM, A.S. & RIGGEL, G.C.: The Air-Born Dissemination of Viable Tumor by High-Energy Neodymium Laser. *Life Sciences*, 6: 119-125, 1967.
75. OOSTERHUIS, J.W.: Lymphatic Migration After Laser Surgery. *The Lancet*, 25: 446-447, 1978.
76. OOSTERHUIS, J.W.; WERSCHUEREN, R.C.J.; EIBERGEN, R. & OLDHOFF, J.: The Viability of Cells in the Waste Products of Carbon Dioxide Laser Evaporation of Cloudman mMouse Melanomas. *Cancer*, 49: 61-67, 1982.
77. LIMA, E.J.: Construção e Caracterização de um Laser de Dióxido de Carbono para Microcirurgias. Dissertação de Mestrado, UNICAMP, 1984.
78. FISHER, J.C.: The Power Density of a Surgical Laser Beam: Its Meaning and Measurement. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2: 293-299, 1983.