INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
Curso de Mestrado Profissionalizante
Lasers em odontologia

# "Verificação do comportamento de mastócitos na parede não mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea submetida à radiação laser de baixa intensidade"

(Estudo *in anima nobile*)

LÍVIO DE BARROS SILVEIRA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre profissional em Lasers em Odontologia

Orientador: PROF.DR. EDUARDO DE BORTOLI GROTH
Co-Orientadora: PROF.DRa. MARTHA SIMÕES RIBEIRO

São Paulo
2001

Dedicatória,

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

A MINHA QUERIDA ESPOSA DORISLÉIA E
NOSSA FILHA FLÁVIA HELENA

Agradecimentos

AGRADECEMOS A TODOS QUE DE ALGUMA FORMA COLABORARAM NA REALIZAÇÃO DESTE TRABALHO E EM ESPECIAL:

AO PROFESSOR ORIENTADOR:

EDUARDO DE BORTOLI GROTH (FOUSP)

À PROFESSORA CO-ORIENTADORA:

MARTHA SIMÕES RIBEIRO (IPEN)

AOS PROFESSORES COLABORADORES:

ARNALDO DE ALMEIDA GARROCHO (FOUFMG)

MOACYR DOMINGOS NOVELLI (FOUSP)

HELENICE DE ANDRADE MARIGO (FOPUCMG)

AOS PROFESSORES:

CARLOS DE PAULA EDUARDO (FOUSP)

FÉLIX ARAÚJO E SOUZA (FOPUCMG)

FRANCA ARENARE JEUNON (FOPUCMG)

AOS PROFESSORES DO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA DA FOPUCMG

AOS PROFESSORES E FUNCIONÁRIOS DO MESTRADO PROFISSIONALIZANTE

AOS TÉCNICOS DE LABORATÓRIO:

MARIA RENI GONÇALVES MOLTINHA

RUBENS MIRANDA

ÀS INSTITUIÇÕES:

IPEN – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

FOUSP – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

FOPUCMG – Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.

# "Verificação do comportamento dos mastócitos na parede não-mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea submetida à radiação laser de baixa intensidade"

**(ESTUDO *IN ANIMA NOBILE*)**

**Lívio de Barros Silveira**

## "RESUMO"

Nesta pesquisa foram selecionados 20 pacientes com enfermidade periodontal necessitando de tratamento periodontal cirúrgico do tipo ressectivo, pela técnica de gengivectomia, que consistiu em remover todo o excesso de tecido gengival com finalidade de restabelecer a anatomia e também a parte funcional. O tecido gengival foi irradiado com diferentes tipos de feixe laser para avaliação de possíveis alterações histológicas que possam ocorrer, principalmente, quando se refere ao comportamento de mastócitos, responsável entre outras alterações, por dilatação de vasos. Durante a intervenção cirúrgica, foram obtidos fragmentos gengivais que foram submetidos a irradiações com lasers de baixa intensidade de emissão infravermelha ($\lambda$=785nm) e vermelha ($\lambda$=688nm), ambos com 50mW de potência e fluência de 8 J/cm$^2$, como também fragmentos que não receberam nenhum tipo de irradiação. Todos os fragmentos foram fixados em formol, cortados e corados pelas técnicas de hematoxilina-eosina e azul de toluidina para análise histológica. Através da análise dos resultados foram concluídos que: 1)Dos mastócitos presentes a proporção de desgranulação foi estatisticamente significante e maior nas regiões que foram submetidas a aplicações lasers, independente dos dois comprimentos de onda utilizados; 2)Não houve diferença significativa da ação do laser entre os diferentes comprimentos de onda ($\lambda$=785nm) e ($\lambda$=688nm), ambos com 50mW de potência e fluência de 8 J/cm$^2$ sobre a desgranulação de mastócito pois ambos resultaram num índice de desgranulação similar; 3)Com relação às medidas de comprimento e largura de vasos escolhidos aleatoriamente nos campos de mensuração não houve diferenças estatisticamente significantes.

# " mast cells behavior analysi's: non mineralizece wall of suprabony periodontal pockets submitted to low intensity laser radiation "

**(AN IN *ANIMA NOBILE* STUDY)**

**Lívio de Barros Silveira**

## "ABSTRACT"

For this study 20 patients with periodontal disease were selected. The treatment required for all of then was the gingivectomy, a ressective periodontal surgery. This technique consists of removing the whole excess of gingival tissue with the intent of reestablishing the anatomy and the correct function. The gingival area was submitted to 2 different wavelenghts and then histologically analysed to search for alterations, mainly concerning mast cells behavior, a blood cell responsible, among other things, for blood vases enlargement. During the surgical procedure each gingival area was submitted to infrared low intensity laser( $\lambda$ = 785 nm ) or to red laser ( $\lambda$ = 688 nm ), both with 50 mW of power and fluence of 8 J/cm$^2$. A third area was analysed, the control area, in which no laser treatment was employed. The samples were fixated in formol, cut and stained by hematoxiline – eosine and toluidine blue.

Based on the result we can be conclude: 1) The 2 wavelenghts used in this study led to the reduction in the number of mast cells present in the tissue as well as to the increase on the degranulation of the remaining mast cells, considered statistically significant taken the degranulation index and ; 2)There was no significant difference caused by the action of the two laser wavelengths - $\lambda$=785nm and $\lambda$=688nm -50 mW of power and fluence of 8 J/cm$^2$-,over the degranulation of the mast cells; 3)The length and width of the randomly chosen blood vases were not statistically different among the analysed groups.

**SUMÁRIO**

***Página***

1.Introdução.....1

2.Revisão de Literatura.....2

2.1 - Do Laser.....2

2.2 - Do Mastócito.....17

2.3 - Do Tecido Gengival.....25

2.4 - Da Bolsa.....36

2.5 - Da Gengivectomia.....38

3.Materiais e Métodos.....40

3.1- Material.....40

3.2- Método.....42

4.Resultados .....54

5.Discussão.....81

6.Conclusões.....85

7. Anexos.....86

8.Referências Bibliográficas.....87

# *Lista de tabelas*

***Página***

4.1- Tabela 1-Número de mastócitos totais e desgranulados contados em cinco campos microscópicos 10x 40 na região subepitelial da vertente externa da parede não- mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea.....64

4.2- Tabela 2-Soma do número de mastócitos totais e desgranulados, nos cinco campos observados constando da área onde foram feitas as intervenções cirúrgicas.....65

4.3-Tabela 3-Representa a média e desvio padrão da soma de mastócitos totais, desgranulados e índice de desgranulação nas áreas controle , luz infravermelha (IV) e vermelha (VV)..... 71

4.4- Tabela 4-Valores do teste T de Student obtidos nas comparações das ordenações das médias dos números de mastócitos totais, desgranulados e o índice de desgranulação entre os grupos controle, luz infravermelha (IV) e luz vermelha (VV) de tecidos gengivais. Estão em negrito os valores que foram significativos do teste T de student.....72

4.5- Tabela 5-Medição em μm de comprimento (CO) e largura (LA) de cinco vasos escolhidos em cinco campos microscópicos no aumento de 400 vezes na região subepitelial da vertente externa da parede não-mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea..... 77

4.6- Tabela 6-Soma da medição em μm de comprimento (CO) e largura (LA) de cinco vasos escolhidos em cinco campos microscópicos 10x 40 na região subepitelial da vertente externa da parede não-mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea..... 78

4.7- Tabela 7-Valores do teste T de student obtidos nas comparações das ordenações das médias das medidas de largura e comprimento dos vasos entre os grupos controle, luz infravermelha (IV) e luz vermelha (VV) de tecidos gengivais..... 79

# *Lista de gráficos*

***Página***

4.7- Gráfico 1- Relação do número geral de mastócitos totais e desgranulados por pacientes no caso controle.....66

4.8- Gráfico 2-Relação do número geral de mastócitos totais e desgranulados por pacientes no caso que receberam irradiação laser emitindo no comprimento de onda infravermelho (λ=785nm).....67

4.9- Gráfico 3- Relação do número geral de mastócitos totais e desgranulados por pacientes no caso que receberam irradiação laser emitindo no comprimento de onda vermelho (λ=688nm).....68

4.10- Gráfico 4-Gráfico representativo das somas gerais de todos os mastócitos comparando o número de desgranulados e totais nos grupos controle , luz infravermelha λ=785nm (IV) e vermelha λ= 688nm(VV)..... 69

4.11- Gráfico 5-Gráfico ilustrativo da Tabela 4 mostrando os valores do teste T de student obtidos nas comparações das ordenações das médias entre os números de mastócitos totais, desgranulados e o índice de desgranulação entre os grupos controle, luz infravermelha (IV) e luz vermelha (VV) de tecidos gengivais.....73

4.12- Gráfico 6-Gráfico ilustrativo da Tabela 7 mostrando os valores do teste T de student obtidos nas comparações das ordenações das médias das medidas de comprimento e largura entre os grupos controle,luz infravermelha (IV) e luz vermelha (VV) de tecidos gengivais.....80

# *Listas de siglas ou abreviaturas*

AsGa: Arseneto de Gálio
AsGaAl:Arseneto de Gálio e Alumínio
AT: Azul de toluidina
ATP:Adenosina-trifosfato
ºC: Graus centígrados
cm: Centímetro
$cm^2$: Centímetro quadrado
$\lambda$ : Comprimento de onda
CO: Comprimento
$CO_2$: Dióxido de carbono
DE: Densidade de energia
DP: Densidade de potência
DNA: Ácido desoxirribonucleico
E: Energia
F: Fluência
He-Ne: Hélio e Neônio
HE: Hematoxilina e Eosina
Hz: Hertz
I: Intensidade
IDg: Índice de desgranulação
IgE: Imunoglobulina E
IR: Infravermelho
J: Joules
$J/cm^2$ : Joules por centímetro quadrado
LA: Largura
M: Mastócito
MCTC: Mastócito de tecido conjuntivo
MCM: Mastócito de mucosa
m: Metro
min : Minutos
mm: Milímetro
mW: Miliwatts
$mW/cm^2$ : Miliwatts por centímetro quadrado
$\mu$m: Micrômetro
nm: Nanometros
P: Potência
RNA: Ácido Ribonucléico
S : Segundo
T: Tempo
W: Watts
VV: Vermelho visível
X100: Aumento de 100 vezes
X200: Aumento de 200 vezes
X250: Aumento de 250 vezes
X400: Aumento de 400 vezes
$<$: Menor que
$>$: Maior que
et al: at allii, e colaboradores

# 1 Introdução

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

Constatou-se através dessas pesquisas, que o laser de baixa intensidade promove a desgranulação dos mastócitos e como conseqüência, libera mediadores químicos que determinam aumento da microcirculação local.

Por outro lado, a radiação laser de baixa intensidade quando aplicada sobre gengivas clinicamente sadias e bolsas periodontais, determina aumento da drenagem de fluido do sulco gengival SILVEIRA e SILVEIRA (1992) e de exsudato, SILVEIRA et al (1992).

A partir dessas observações, acreditamos ser válido um estudo no sentido de constatar em humanos o comportamento dos mastócitos localizados na parede não-mineralizada da bolsa periodontal submetida à radiação laser de baixa intensidade emitida em $\lambda$= 688nm, na região do visível, e $\lambda$=785nm, na região do infravermelho do espectro eletromagnético.

Atualmente estuda-se em diversos países o mecanismo de ação do laser em nível celular e bioquímico. Diversos trabalhos são registrados na literatura científica mundial, todavia, muita pesquisa terá ainda que ser realizada, com especial ênfase a interação do laser e a matéria viva.

Nesta ampla área da biologia, novos estudos se impõem com a finalidade de esclarecer pontos ainda obscuros que, uma vez evidenciados, poderão contribuir para o aperfeiçoamento da terapêutica pelo laser. Assim, a verificação ora proposta, irá sem dúvida fortalecer mais este recurso terapêutico na solução de problemas periodontais,e servirá de orientação segura e eficaz no uso da laserterapia.

# 2 Revisão de Literatura

## Do Laser

A palavra laser é uma abreviação de “light amplification by stimulated emission of radiation”, que significa amplificação da luz por emissão estimulada de radiação. Em 1917, Einstein descreveu a emissão estimulada de forma teórica COHERENT (1985). Para entendermos a emissão estimulada, é necessário que se compreenda a natureza quântica, ou descontínua, dos estados energéticos dos constituintes microscópicos de sistemas físicos (tais como: núcleos, átomos, moléculas, redes cristalinas,etc..). Um átomo possui seus elétrons distribuídos em diferentes níveis energéticos, definidos pela quantização de suas variáveis de movimento, e esses se comportam dando saltos de níveis de acordo com trocas energéticas, absorvendo ou emitindo quantidades de energia ressonantes compatíveis com cada mudança de estado, ou configuração, do elétron.

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

Sob certas condições, um átomo pode estar excitado e ser estimulado a emitir um fóton, provocado ou induzido por um fóton externo, de mesma energia. Em outras palavras , o fóton indutor possui a mesma freqüência e comprimento de onda que o fóton cuja emissão ele vai induzir. Este é um exemplo de emissão estimulada. Em geral, os materiais mais absorvem os fótons incidentes do que são estimulados a emitir fótons adicionais ressonantes.

Em 1950, A . Krastler e Brossel aperfeiçoaram o bombeamento óptico, que nada mais é do que a forma de fornecimento de energia externa adequada para

um determinado material, promovendo desta maneira a excitação do mesmo, o que irá resultar na produção de fótons, MAILLET (1987). Um estado de inversão de população pode ser obtido por um curto intervalo de tempo devido a este bombeamento, o que pode ser aproveitado para se obter mais emissão estimulada do que absorção, pelo material, levando ao efeito de amplificação da luz.

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

Os elementos fundamentais constituintes de um laser simultaneamente necessários são: meio ativo; bombeamento; tipo de câmara de ressonância ou ressonador. Outra característica de grande valia que devemos levar em consideração, são as maneiras de se conduzir o feixe laser depois de formado (FIG1).

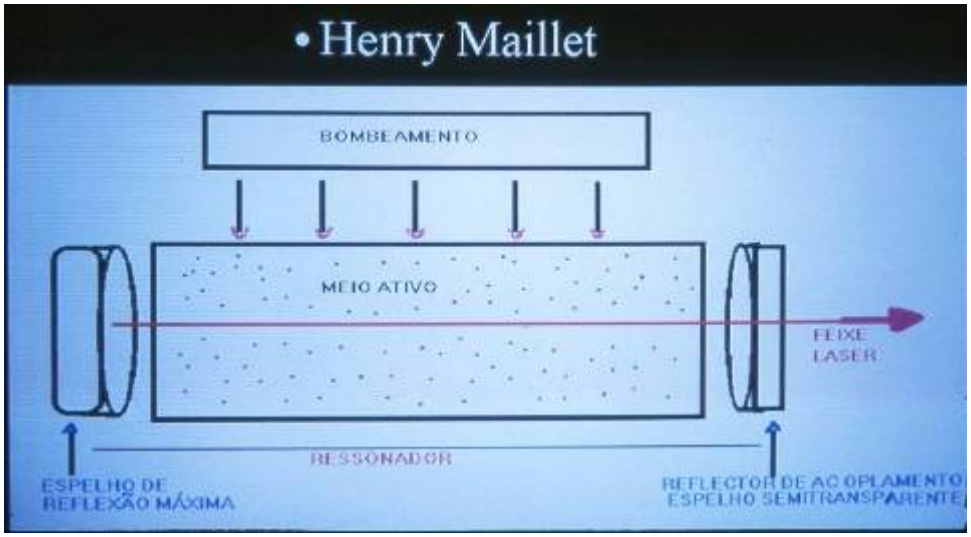


Fig.1Desenho esquemático de um laser constando de todos os seus componentes, BOULNOIS (1987).

O meio ativo de um laser é constituído pelo material que vai ser excitado, podendo ser sólido, líquido ou mesmo gasoso e é responsável pela definição do comprimento de onda e pelo nome do determinado tipo de laser. Muitos lasers sólidos possuem uma base de cristal ou vidro associado a algum tipo de dopagem iônica. Uma das bases mais comuns utilizadas é a granada de ítrio e alumínio, (YAG), e geralmente são excitados por lâmpadas flash.Entre estes lasers, podemos citar o de: Rubi, Neodímio-YAG, Erbium-YAG, Holmium-YAG e alguns diodos. Os lasers de meio ativo líquido são geralmente constituídos de corantes e são menos usados em odontologia. Os lasers gasosos possuem como meio ativo uma associação de gases em geral e são excitados por correntes elétricas,por exemplo, o laser de $CO_{2,}$ Argônio, Criptônio, Hélio-Neônio.

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

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

As principais propriedades físicas da luz laser são: monocromaticidade, coerência e direcionalidade, MYRING e KIMMITT (1984) e SVELTO,(1989) . Reflexão,absorção,transmissão e espalhamento são mecanismos de interação.

A monocromaticidade é a propriedade física que representa a pureza da luz, justificada por ser composta por apenas um único comprimento de onda, de forma que se atravessarmos essa luz por um prisma ela sairá do outro lado da

mesma forma como incidiu. Os lasers utilizados nas áreas biomédicas possuem comprimentos de onda situados entre a faixa do ultravioleta passando pelo visível e chegando até o infravermelho do espectro luminoso.

A coerência é a propriedade representada pelo alinhamento das ondas luminosas com mesma freqüência , com características de possuir coincidências de cristas e vales,destas mesmas ondas luminosas que compõem o feixe (Fig 2) .

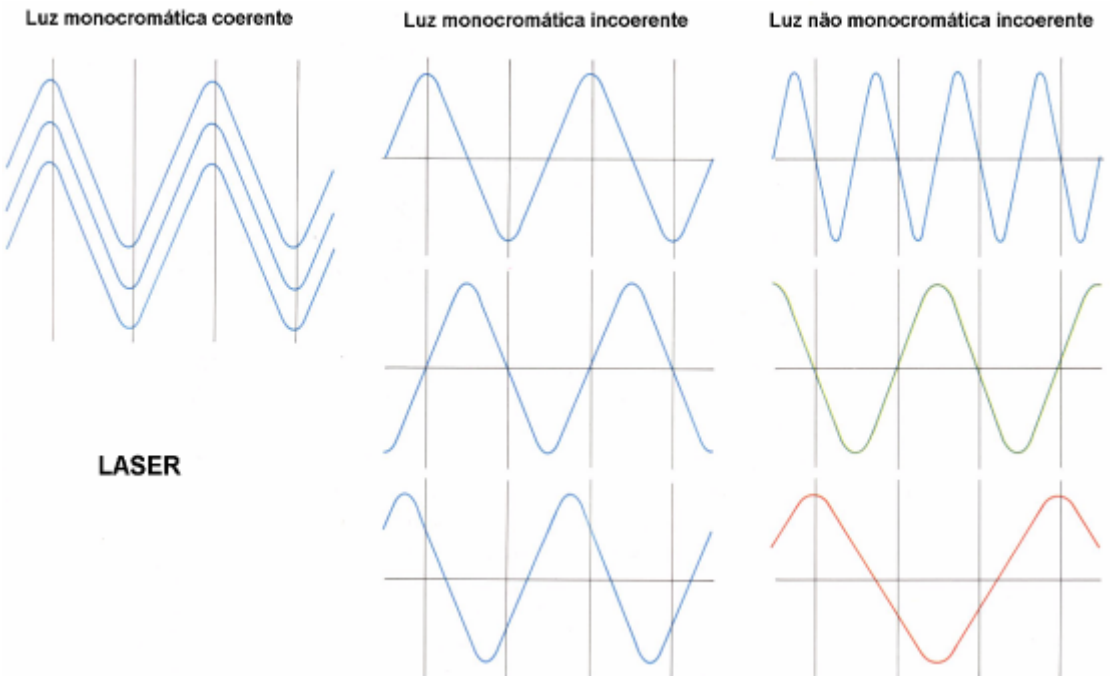


Fig. 2 Composição da luz: monocromaticidade e coerência, TAYLOR e FRENCH (1987) reproduzido por SILVEIRA

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

Depois de idealizada a teoria da emissão estimulada por Albert Einstein em 1917, que seria utilizada na construção do primeiro laser por Theodore Maiman em 1960, Goldman em 1961 fundou o primeiro laboratório de laser em Cincinnati, onde as primeiras experiências em animais foram realizadas, GOLDMAN (1990). A partir daí diversos tipos de lasers foram construídos e hoje são classificados em dois grandes grupos: lasers de baixa intensidade e lasers de alta intensidade

diferenciando-se basicamente no modo de atuação e que efeitos podem resultar nos materiais ou tecidos.

Os lasers de alta intensidade também conhecidos como *Power Laser* ou laser cirúrgico, podem ser usados para coagulação, corte, vaporização e carbonização de acordo principalmente, com o efeito térmico promovido após a absorção do feixe pela matéria. Vale a pena lembrar que alguns lasers de alta intensidade quando trabalhado de forma desfocada podem exercer um efeito de bioestimulação.

Os lasers de baixa intensidade, também conhecidos como *Soft Lasers* ou lasers terapêuticos são utilizados excluindo-se a possibilidade de manifestação dos efeitos térmicos. Neste caso, a interação da luz laser com o tecido, poderá promover alterações no mesmo, o que poderá culminar em efeitos analgésicos, antiinflamatórios, antiedematosos e cicatrizantes, CRUANES (1984), (Fig 3), TRELLES (1990).

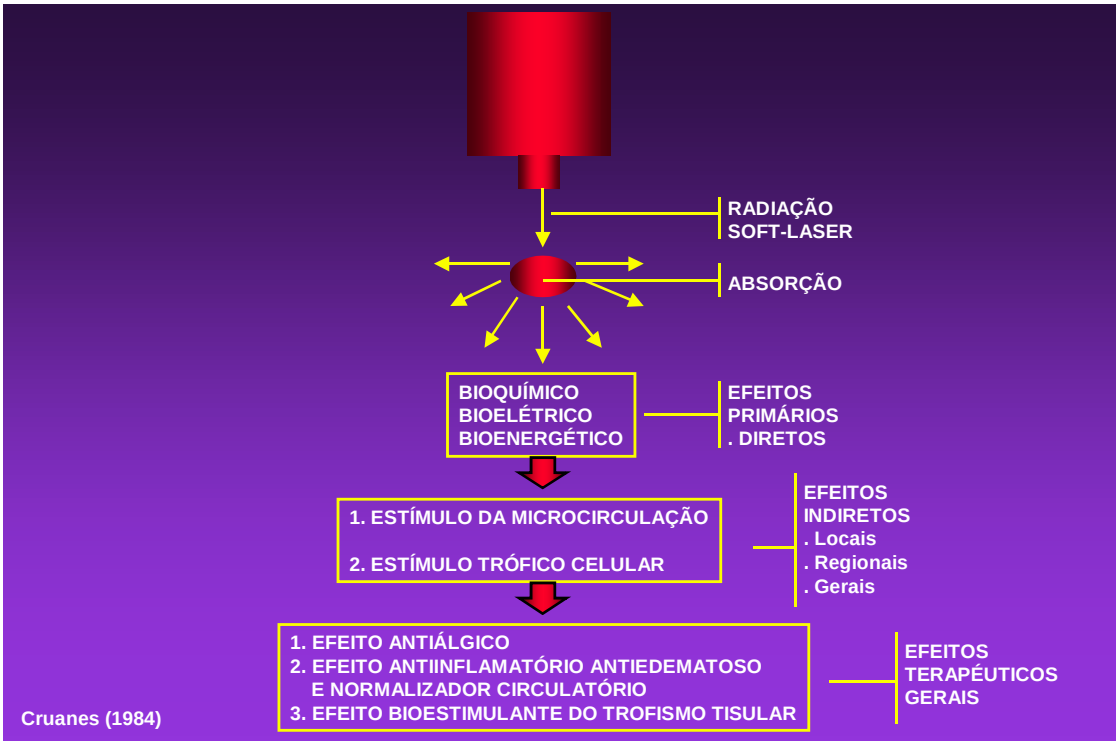


Fig. 3 Resumo de CRUANES(1984) para efeitos do laser de baixa intensidade traduzido e colorido por SILVEIRA.

Dentre os lasers de baixa intensidade mais utilizados estão os lasers de semicondutores (AsGa e AsGaAl) e os lasers de HeNe, que descreveremos a seguir.

Os semicondutores (Fig 4), idealizados e construídos por Keys,R.J. e Quist,T.M. em 1962; MARSHAL (1972), possuem diodo emissor constituído de Arseneto de gálio (AsGa), cuja radiação apresenta comprimento de onda de 904nm correspondente à faixa do infravermelho do espectro eletromagnético. Hoje já possuímos diodos que emitem luz em outros comprimentos de onda, inclusive na faixa do visível também como os de Arseneto de gálio e Alumínio (AsGaAl).

Fig 4 Considerações sobre cristais semicondutores , MUNCHERYAN (1983)

Esses diodos são pequenos cristais, definidos como tipo P e N (Fig 5). Pequenos cristais tipo P são compostos de mesmo material, mas dopado de um componente que, apesar de não tirar sua estabilidade, cria uma série de ausências de elétrons definida como lacunas e se encontra na ordem de $10^{18}$ lacunas (Fig 6), enquanto que no cristal tipo N a dopagem permite que fiquem livres elétrons na ordem de $10^{19}$ eletrons livres(Fig 7), que podem ser deslocados, MUNCHERYAN (1983) .Os dois cristais tipo P e N são posicionados, alinhados por um espaço muito pequeno denominado junção P e N. Quando se passa uma corrente elétrica neste componente P e N, elétrons livres transitam do cristal

negativo para o positivo, ocupando temporariamente as lacunas , emitindo fótons a cada vez que cruzam a junção PN, junção essa que se define por uma região muito pequena entre os cristais p e n de mesma composição.

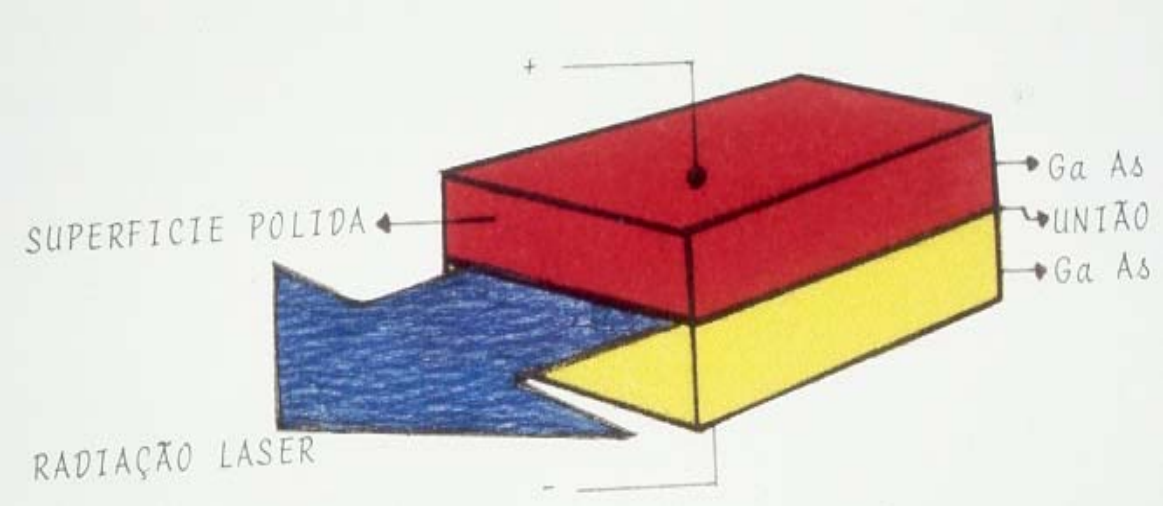


Fig 5 Desenho esquemático de um diodo de junção P e N mostrado por Cruanes

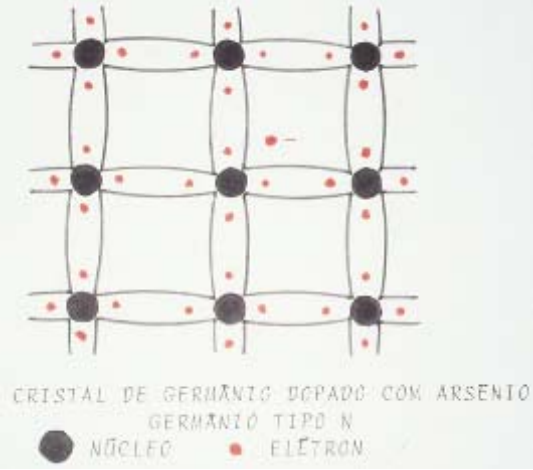


Fig 6 Desenho de um cristal com elétron tipo N

Fig 7 Desenho de um cristal com lacunas livre tipo P

O laser gasoso, desenvolvido por Javan em 1961, possui como meio ativo uma associação de gases com predominância de HeNe, que emite radiação num comprimento de onda de 632,8nm resultando numa luz visível vermelha , como também num comprimento de onda de 543,5nm, resultando numa luz verde. O

modo de funcionamento se define por cada vez que se passa uma corrente elétrica por esse meio gasoso, os átomos de He são excitados e começam a colidir com átomos de Ne. Uma vez transferida a energia, os átomos de He voltam para seu estado de repouso enquanto os de Ne permanecem excitados passando por um pequeno decaimento emitindo luz infravermelha e posteriormente passando por um outro decaimento emitindo fótons que resultam numa radiação vermelha visível (Fig 8) .

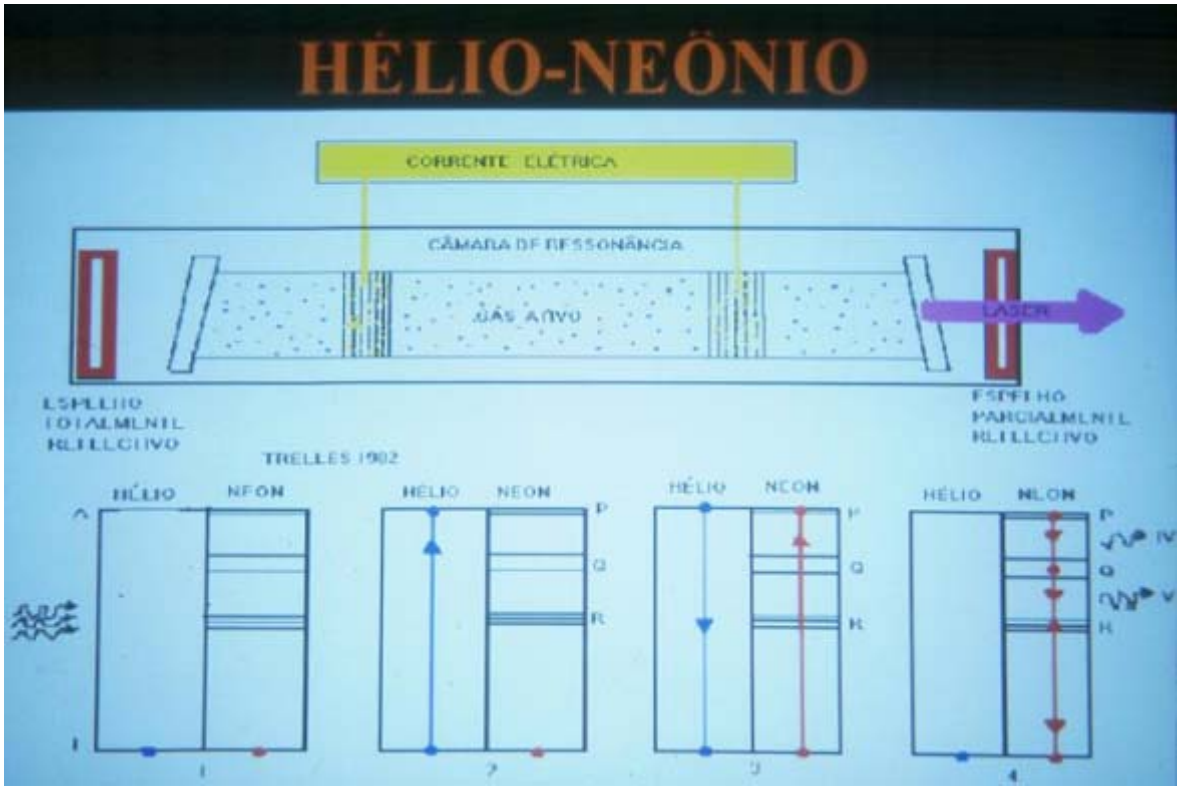


Fig 8 Demonstração esquemática do laser gasoso de He Ne

Quando utilizamos laser estamos lidando com energia e é fundamental conhecermos duas medidas físicas definidas como densidade de potência e densidade de energia.

Densidade de potência ou intensidade é a quantidade de potência, em Watts, sobre a área a ser depositada, em $cm^2$. Os diversos tipos de lasers possuem potências diferentes e esta relação entre grandezas pode modificar o tipo de efeito desejado dependendo do impacto sobre um material ou superfície.

$$\bullet I \text{ (INTENSIDADE)} = \frac{P \text{ (Watt)}}{\text{ÁREA } (cm^2)}$$

Densidade de energia ou fluência é a potência, em Watts, multiplicada pelo tempo, em segundos, sobre a área, em $cm^2$ , uma vez que potência, em Watts, multiplicada pelo tempo, em segundos, é igual à energia, em Joules; então temos que fluência é igual à quantidade de energia, em Joules, depositada por unidade de superfície, em $cm^2$ .

$$F \text{ (FLUÊNCIA)} = \frac{P(W) \times TEMPO(S)}{ÁREA(cm^2)}$$

***OU***

$$F \text{ (FLUÊNCIA)} = \frac{ENERGIA(Joule)}{ÁREA(cm^2)}$$

A interação entre a radiação laser e a matéria viva, pode resultar em efeitos térmicos, mecânicos, elétricos, fotoquímicos e quânticos; alguns desses mecanismos, como os fotomecânicos e fotoquímicos, dependem da absorção de fótons , resultando na ativação da microcirculação local, reduzindo ou eliminando edemas, seja de origem inflamatória ou não, promovendo maior atividade fibroblástica, quer induzindo sua proliferação ou realizando síntese de fibras e substância amorfa, auxiliando assim o processo de cicatrização, colaborando também com grande efeito antiálgico. Para que esses efeitos ocorram é fundamental que a luz laser seja absorvida.Com essas propriedades já verificadas, podemos aplicar mais esse recurso terapêutico nas diversas áreas da odontologia.

ALMEIDA-LOPES e PINHEIRO (1998) colocam como indicações para aplicações para o laser de baixa intensidade no alívio da dor (efeito antiálgico),

reparação tecidual (efeito bioestimulante do trofismo celular), redução de edema e de hiperemia (efeito antiinflamatório e normalizador circulatório).

Alguns trabalhos, entre muitos de grande valia, servem para ilustrar ou até mesmo justificar algumas das propriedades acima citadas resultantes da aplicações lasers e que achamos oportuno citar.

TAYLOR et al (1965) publicaram os resultados da ação do laser nos dentes, polpa dentária e mucosa oral.

MESTER et al (1972), usando o laser de rubi, estudaram a cicatrização de feridas induzidas artificialmente em camundongos.Foi observado maior rapidez no crescimento da pele na periferia de feridas irradiadas com 1 J/cm$^2$. Este fenômeno foi inibido quando esta dosagem foi aumentada.

O laser de baixa intensidade produz alteração na estrutura mitocondrial, promovendo o aumento da síntese do colágeno e o incremento do tecido conjuntivo, em razão do crescente poder de captação da glicina e da prolina pelos fibroblastos ,MESTER & JASZSAGI-NAGY (1973);

A irradiação de linfócitos humanos em culturas aumenta a quantidade de ATP mitocondrial, BENEDICENTI (1982).

Essa irradiação aumenta o número e a habilidade dos lisossomos com consequente ativação de hidrólise induzindo a digestão e autólise.O laser aumenta o número de células nos tecidos irradiados, MAYAYO (1984).

Os mecanismos de vasodilatação capilar ocorrem nos esfíncteres terminais desses vasos. Esse aumento é mantido em todos os casos por mais de vinte minutos após a cessação da aplicação da irradiação mesmo que a região seja resfriada, MIRO et al (1984). Os autores ainda afirmam que a vasodilatação e o aumento da circulação coincide com a aplicação do laser. Esse efeito não depende somente do efeito físico nos receptores celulares, mas de uma ativação

também de mediadores do balanço vascular humoral, como a liberação de histamina e da serotonina.

Laser de baixa intensidade interfere na respiração celular de cultura de tecidos promovendo inibição significativa quando a dose de irradiação excedia a 3 J/cm$^2$ de tecido. GIMENEZ & CASADO (1985).

Tem sido descrito que o laser de baixa intensidade promove o aumento de hormônio ACTH, através de estímulo hipofisário, que resulta na produção da cortisona na supra-renal, SMITH-AGREDA et al (1986).

Foi verificada a modulação do colágeno pelo laser em culturas de fibroblastos, sendo possível, a vista disto, indicá-lo nas doenças em que a síntese de colágeno é questionada, exemplo nos quelóides, ABERGEL et al (1986).

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

O laser de baixa intensidade aumenta a captura de Uridina , aumenta a atividade de síntese do RNA com consequente estimulação da produção do DNA, ABERGEL et al (1986 e 1988).

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

LIMIA (1988) relata que em conseqüência do aumento da capilaridade terminal, há um incremento da drenagem linfática e que a ação laser especificamente do AsGa de λ=904nm, atua como bioestimulante celular por incorporação de energia em uma freqüência facilmente assimilável pelo tecido sem nenhum efeito secundário, mas revela o perigo com relação a necessidade do uso de óculos protetor para proteção da retina do paciente , profissional e auxiliar. Recomenda-se ainda evitar sua aplicação sobre as glândulas de secreção interna e glândulas sexuais , pois sua ação poderia incrementar sua função não-desejável.

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

TRELLES et al (1988) utilizaram um laser de emissão vermelha emitindo em λ=632,8 nm, variando potências de 4 mW ou 50 mW, com fluência de 2,4 Joules por $cm^2$ para irradiar ratos e concluíram que para P= 4 mW, o aumento de histamina foi de 100% enquanto que com potência de 50 mW, o aumento de histamina foi de 30 %.

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

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

Também não podemos deixar de relatar outros efeitos ou alterações teciduais que foram comprovados por diversos autores, que achamos neste momento importante citar, relacionando o tipo de laser e a dosimetria, quantidade de energia aplicada sobre determinado tecido. WOLBARSHT (1987 e 1991), GOLDMAN(1981),MUNCHERYAN(1983) , PIMENTA(1990) e GENOVESE(2000).

O laser acelera a reprodução de células epiteliais e sua maturação através do aumento da atividade da fosfatase ácida, esterase, desidrogenase láctica e succinildesidrogenase. Esses achados demonstraram que as células filhas apresentaram-se com características morfológicas e funcionais idênticas às antecessoras, sem apresentar sinais de atipia, TRELLES et al (1989).

CARUSO et al (1990) , estudou os efeitos de excitação celular com laser de baixa intensidade sobre mucosa oral do rato para um efeito de bioestimulação. Os resultados deste estudo mostraram um aumento de queratina no epitélio e uma variação da disposição e do número de grânulos de pré-queratina no local tratado.

EL-SAYED-SO & DYSON-M (1990) realizando estudo utilizando lasers emitindo em seis diferentes comprimentos de onda com fluência de 10,8J/cm$^2$ observaram a desgranulação e o número de mastócitos nesses grupos era maior e que o efeito era maior em pele lesada.

SILVEIRA E LOPES (1991) comprovaram a participação do efeito da radiação laser no processo de desgranulação dos mastócitos como também uma proliferação fibroblástica, aumento significativo da substância fundamental do tecido conjuntivo e que uma pequena infiltração leucocitária não chegou a caracterizar processo inflamatório em sua plenitude. Os autores ainda observaram uma diminuição de mastócitos nas zonas que receberam aplicação de laser e definiram que esta diminuição é decorrente da desgranulação total e completa dissolução dos grânulos liberados, não sendo possível sua identificação. Revelaram ainda que os mástócitos em desgranulação diminuíram a medida que

o tempo decorria após a irradiação, mas os intactos , por sua vez, aumentavam em número e esta evidência pôde ser observada após 72 horas seguidas a irradiação. Ainda no mesmo trabalho, os autores observaram que além de promover desgranulação de mastócitos, provocando alterações circulatórias locais (vasodilatação), determina de alguma forma o aumento da atividade fibroblástica, auxiliando na recomposição tecidual e que o infiltrado leucocitário observado foi de pequeno porte.

O aumento na quantidade de fluido drenado do sulco gengival, em gengivas humanas clinicamente normais, após aplicação laser de AsGa $\lambda$=904nm, foi comprovado por SILVEIRA e SILVEIRA (1992).

SILVEIRA et al (1992) verificaram a ativação da drenagem do exsudato de bolsas periodontais após aplicação de laser de AsGa $\lambda$=904nm também em gengivas humanas.

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

Ainda EL-SAYED-SO & DYSON-M em (1996), após provocarem feridas em ratos Wistar, aplicaram luz monocromática coerente (comprimento de onda 820 nm) de emissão pulsada em 2.5, 20, 292, ou 20.000 Hz de freqüência , a uma intensidade de 800 mW/cm2 por 27 segundos; a densidade de energia foi 21.6J/cm2. Foram avaliados os efeitos em número de mastócitos e desgranulação. O número total de mastócitos foi aumentado significativamente por todas as freqüências quando comparado ao grupo controle após duas horas, mas não havia nenhuma diferença significante entre freqüências . Porém, embora o número de mastócitos desgranulados seja mais alto em todas as feridas que foram submetidas à radiação laser em comparação com o grupo controle, só as freqüências de 20 Hz (largura temporal de 45 ms) e 292 Hz (largura temporal 3

ms) eram significativamente efetivas . Os autores concluíram que o aumento em número de mastócitos não é dependente da freqüência, entretanto, a desgranulação é.

CONLAN,MJ et al (1996) relatam princípios de bioestimulação incluindo proliferação celular e síntese de colágeno.

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

ALMEIDA-LOPES (1999) concluiu que a fluência de 2 J/cm$^2$ estimula o crescimento de fibroblastos de gengiva humana que estejam em déficit nutricional e que o menor tempo de exposição da célula à radiação laser é mais eficaz na indução de resposta celular, obtendo resultados mais efetivos para comprimento de onda na faixa do visível.

HERRERO(1986) comenta que é mais confiável, em termos de dosimetria, realizar aplicações pontuais do que a técnica de varredura; que há variações na dosimetria a ser aplicada de acordo com cada situação ou área e que não é aconselhável ultrapassar a densidade de 15 J/cm$^2$ sobre um ponto em uma única aplicação.

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

WIGDOR et al (1995) relata que no futuro muitos tipos de lasers virão , com diversos comprimentos de ondas e métodos de aplicações e diferentes modos de pulsos que serão usados na prevenção ,detecção e tratamento quando considerar o seu uso na área da odontologia

## Do mastócito

Com a sua identificação em 1877 por Ehrlich , muitos trabalhos sobre mastócitos, ou com eles foram encontrados, ajudando a entender ainda mais esta importante célula do tecido conjuntivo, SILVEIRA (1981).

De acordo com MOTA (1995) o mastócito deriva de precursores hematopoéticos e que migram posteriormente para o tecido conjuntivo.

DEVITT et al (1954) afimaram que uma rápida estáse circulatória local, distúrbios da osmose e desequilíbrio bioquímico pela aplicação de água destilada e metanol, determinam modificações morfológicas nos mastócitos , perda de suas propriedades tintoriais e seu arrebentamento, liberando grânulos citoplasmáticos.

Já CARRANZA E CABRINI (1955) observaram, em estudo feito em gengiva humana, um grande número de mastócitos no tecido conjuntivo, visualizando-os também no epitélio.

FIGUEIREDO (1957) relata que mastócitos começam a se tornar mais freqüentes nas áreas em que se atenua  a intensidade da reação exsudativa.

Pesquisando sobre mastócitos, FULTON et al (1957) afirmam que eles podem produzir ácido hialurônico, desta forma contribuindo para a formação da substância fundamental que atua como uma barreira entre as paredes dos capilares e as células do tecido.

DEWAR (1958) relatou que a presença do mastócito e seu aumento numérico na inflamação crônica da gengiva podem ser um sinal de cicatrização.

De acordo com UVNAS (1964), os mastócitos contêm substâncias capazes de induzirem resposta tecidual constituindo sinal característico da inflamação

aguda e que a histamina e a 5 hidroxitriptamina (5HT) produzem reação vascular, provocando alterações na passagem transcapilar promovendo o edema, substâncias estas citadas também por ROBBINS E COTRAN (1983) . Agentes irritantes como o trauma mecânico, agentes químicos, calor, frio, luz ultravioleta, radiações ionizantes podem determinar a desgranulação dos mastócitos. O seu número reduzido na fase inicial e seu aumento na fase final da reação inflamatória foram observados em tecido inflamado.

TERNER (1967) relata que o número de mastócitos tende a desaparecer na inflamação aguda , enquanto seu número aumenta na inflamação crônica. O seu desaparecimento é em decorrência do fenômeno de desgranulação através do qual o mastócito libera substâncias quimicamente ativas, tais como : histamina,heparina e serotonina.

Estudando mastócitos , ZACHRISSON(1969) observou casos em que o infiltrado de células inflamatórias sendo denso, ocorreu diminuição de mastócitos. A maior parte deles, entretanto, aparece nas proximidades do infiltrado celular, quando alterações proliferativas e reparativas são visualizadas. Há raros mastócitos em áreas de inflamação aguda com presença de polimorfonucleares. O mesmo autor verificou que vários agentes podem causar a desgranulação dos mastócitos que liberam substâncias biologicamente ativas, sendo as principais a histamina, serotonina , heparina e que em conseqüência de desgranulação decrescem em número.

ONICESCU et al (1970) verificaram que a gengiva normal apresenta um número apreciável de mastócitos agrupados nas proximidades dos vasos e debaixo do epitélio. Eles diminuem aparentemente nos processos inflamatórios agudos, mas aumentam em número nos processos crônicos e também nas fases de acentuada fibrose gengival e confirmam ainda que quando sofrem o fenômeno de desgranulação, liberam heparina e histamina, necessárias ao aumento da permeabilidade vascular.

KELLER & SCHAUWECKER(1972) afirmam que os mastócitos são ricos em histamina , heparina, proteínas e enzimas ativas.

BARNETT (1973) encontrou mastócitos no epitélio gengival e afirmou que o espaço intercelular da região onde há desgranulação de mastócitos parece estar aumentado em comparação com outras regiões onde não ocorreu o fato. Ainda confirmou o autor a existência de enzimas vasoativas.

SCHWARTZ e DIBBLEE (1975) consideraram os mastócitos a maior fonte de histamina presente no organismo.

Ainda sobre o assunto , BOGLIOLO (1976 e 1978) relata que a liberação de histamina causada pela atuação do agente inflamatório ocorre por mecanismos diversos, sendo dois os principais: 1- Agressão direta à membrana do mastócito, o que determina sua lise (enzimas proteolíticas,ação anticorpo,e complemento)2- Ação sobre os receptores de membrana, cuja estimulação promove liberação de histamina sem lise (IgE) ou como ação de peptídeos básicos, anafilotoxina e prostaglandinas, e algumas substâncias de alto peso molecular (dextran) , citada também por MOTA (1995).

BEAVEN (1976) e BOGLIOLO (1976 e 1978) consolidam o conceito de que os mastócitos podem sofrer o processo de desgranulação em condições normais , contudo, este fenômeno ocorre de maneiras adversas ou patológicas e ainda sob ação de estímulos os mais variados. Esta desgranulação se faz de maneira intensa, escapando dos padrões de normalidade , muito embora, em casos especiais, esta situação se reverta tão logo cesse a ação dos fatores desencadeantes de tal fenômeno. Isto acontece quando se aplica um estímulo dosado, disciplinado, favorecendo ativar a microcirculação de determinada área e induzir uma reação tecidual também organizada, SILVEIRA e LOPES (1991).

SILVEIRA (1981) conclui dentre outras, que o mastócito participa da cicatrização dos enxertos livres autógenos de gengiva de duas maneiras: uma fase inicial, após enxertia liberando histamina; e na fase final de cicatrização, sintetizando ácido hialurônico.

FANTONE & WARD (1988) relataram que os mastócitos constituem fontes adicionais de mediadores vasoativos (Fig.9) . Quando um antígeno se une a imunoglobulina IgE por ligação cruzada destas moléculas sobre as superfícies dos mastócitos , ocorre liberação secretora destes mediadores de grânulos citoplasmáticos eletrondensos para os tecidos extracelulares. Esses grânulos contêm histamina, mucopolissacarídeos ácidos (inclusive heparina) e mediadores quimiotáticos para neutrófilos e eosinófilos. Por esse motivo, os mastócitos desempenham um importante papel na regulação da permeabilidade vascular

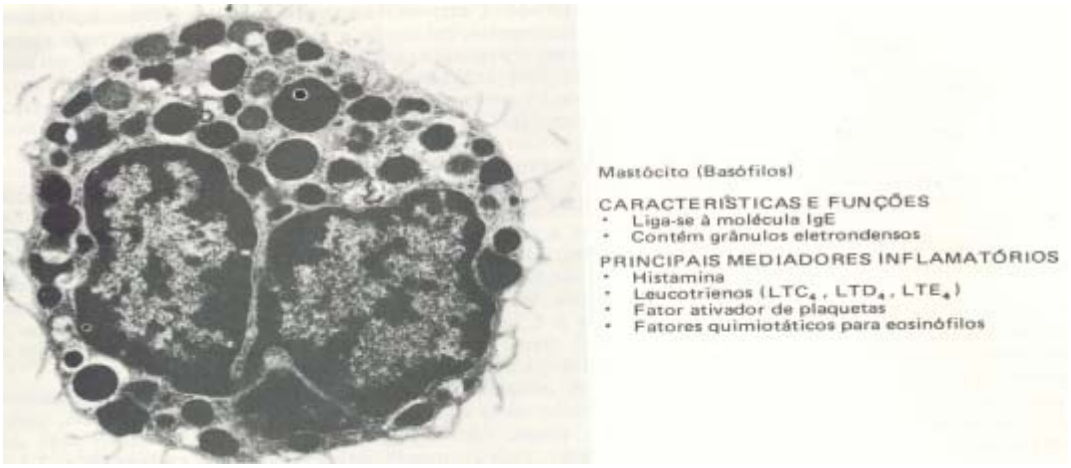


Fig. 9 Mastócito em microscopia eletrônica, FANTONE e WARD (1988)

Os efeitos mais importantes da histamina e serotonina ocorrem precocemente na evolução das reações inflamatórias. A ação da histamina sobre a vasculatura é o resultado de sua ligação a receptores $H_1$ específicos na parede vascular, um efeito que pode ser inibido farmacologicamente através de antagonistas dos receptores $H_1$. A desgranulação do mastócito também pode ser induzida através de agonistas físicos, como frio e o traumatismo, bem como através de proteínas catiônicas derivadas dos grânulos de plaquetas e de lisossomos de neutrófilos.

O estímulo de mastócitos também leva a liberação de produtos do metabolismo do ácido aracdônico, inclusive as chamadas substâncias de reação lenta da anafilaxia (SRS-As), que são constituídas pelos leucotrienos $C_4$($LTC_4$), leucotrienos $D_4$ ($LTD_4$) e leucotrienos $E_4$ ($LTE_4$). Estes produtos de lipooxigenase do metabolismo do ácido aracdônico induzem a contração da musculatura lisa e aumentam a permeabilidade vascular. Outra conseqüência desse estímulo dos mastócitos é a geração de outra classe de mediadores vasoativos , inicialmente caracterizada como fator ativador de plaquetas (PAF) sendo que esta substância induz agregação e desgranulação plaquetárias nos sítios de lesão tecidual e aumenta  a liberação de histamina e serotonina, causando assim alterações na permeabilidade vascular. Além disso, aumenta o metabolismo do ácido aracdônico nos neutrófilos, um efeito associado a um aumento na motilidade, produção de superóxido e desgranulação dos leucócitos polimorfonucleares. O PAF também exerce efeitos sobre a microvasculatura, causando vasodilatação e aumentando a permeabilidade vascular nos sítios de lesão tecidual,FANTONE e WARD (1988),(Fig10 e 11).

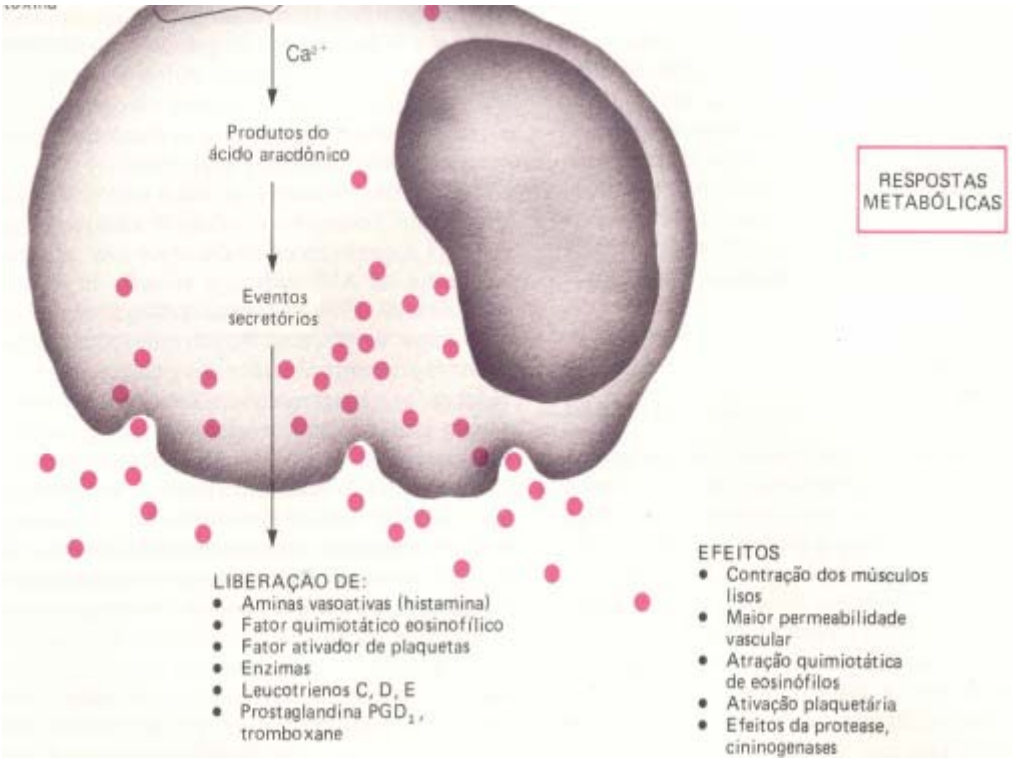


Fig.10  Mastócito liberando grânulos e seus produtos com seus efeitos nos tecidos FANTONE e WARD (1988)

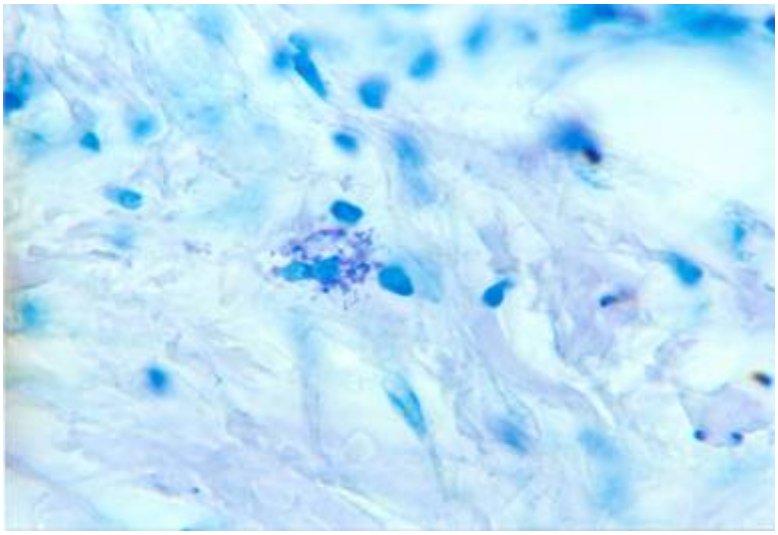

Fig 11 Mastócito desgranulado, AT - aumento de1000**x**

ROITT et al (1989) consideraram que estimuladores imunológicos pertubam a membrana do mastócito, levando ao influxo de íon de cálcio que é decisivo para a desgranulação. A formação de microtúbulo e o movimento dos grânulos para a membrana celular, leva a fusão do grânulo e da membrana plasmática e liberação de mediadores associados ao grânulo no espaço intercelular.

Ainda ROITT et al (1989) , relataram que há muito se reconheceu que existe uma diferença de espécie na morfologia dos mastócitos . As diferenças morfológicas podem ser vistas nas propriedades tintoriais das células, na estrutura externa de seus grânulos e no mecanismo detalhado do processo de desgranulação. Além das diferenças morfológicas, existem também diferenças funcionais entre as espécies e entre os mastócitos provenientes de locais diferentes dentro do mesmo animal. As diferenças funcionais são observadas em resposta a secretagogos (liberadores de histamina) e a medicamentos que bloqueiam ou intensificam a liberação de histamina.

Costuma-se considerar que os mastócitos compreendem uma população homogênea em células, sendo a morfologia semelhante a que é atualmente reconhecida como mastócito do tecido conjuntivo (MCTC). A técnica de coloração utilizada para demonstrar os MCTC envolve a fixação pelo formol de cores e coloração de azul de toluidina, ROITT et al (1989). A substância responsável por esta coloração é a heparina que é um mucopolissacarídeo  sulfatado que se

encontra associado à matriz protéica dos grânulos, CALICH et al (1988). Considera-se atualmente que esses corantes não mostram adequadamente os mastócitos da mucosa (MCM), que são vistos apenas com fixadores e corantes especiais.

Os MCTC são encontrados ao redor dos vasos sanguíneos na maioria dos tecidos. Embora os MCTC de locais diferentes possam ter propriedades semelhantes, a morfologia macroscópica de MCTC do peritônio e da pele pode ser muito diferente em termos de número e tamanhos de grânulos , densidade de coloração e propriedades farmacológicas. Os MCM mostram distribuição diferente dos MCTC, sendo encontrada no homem a concentração mais elevada na mucosa do intestino médio e pulmão.

MOTTA (1995) confirma a identificação dos dois tipos de mastócitos citadas por ROITT et al (1989), definido como mastócito do tecido conjuntivo e mastócito da mucosa, ilustrando em um quadro comparativo suas possíveis diferenças (FIG 12 e 13) .

| | MCTC (tecido conjuntivo) | MCM (Mucosa ) |
|---|---|---|
| Origem | Medula óssea | Medula óssea |
| Dependente da célula t | Não | Sim |
| Citologia | Muitos grânulos de tamanhos uniformes | Poucos grânulos de diversos tamanhos |
| Diâmetro | 19.6μm | 9.7μm |
| Localização in vivo | Onipresente | Intestino e pulmão |
| Histamina | 15pg/célula | 1.3pg/célula |
| Composto 48/80 | Susceptível | Resistente |
| Principal proteoglicano | Heparina | Sulfato de condroitina |
| Receptores Fc | $3 \times 10^4$ | $2 \times 10^5$ |
| Serina protease | Tripisina | Quimiotripisina |
| Período de vida | Mais de 6 meses | Menos de 40 dias |

Fig 12 Quadro comparativo entre os tipos de mastócitos existentes do tecido conjuntivo MCTC e da mucosa MCM , contendo dados de MOTTA (1995) e ROITT(1989).

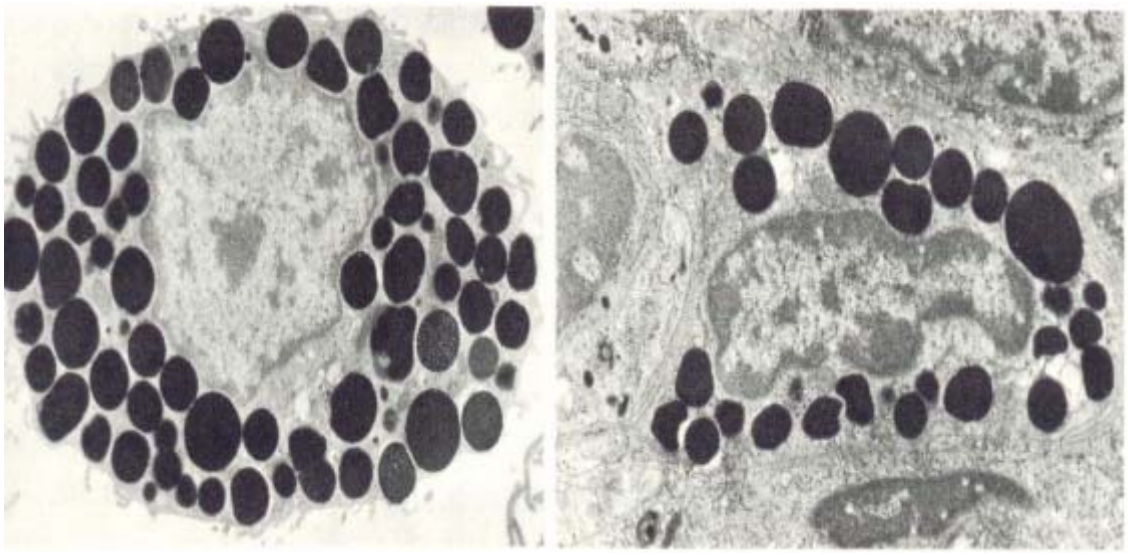

Fig 13 Micrografias eletrônicas mostrando MCTC peritoneais do rato e MCM intestinais. O MCTC(Esquerda) tem múltiplos grânulos eletrondensos e o tamanho do núcleo é pequeno quando comparado com a massa citoplasmática total. No MCM do núcleo de uma vilosidade intestinal do rato (direita) os grânulos são mais escassos e o núcleo é grande. X 4000 Cortesia do Dr. T.S.C.Orr. ROITT 1989).

## Do tecido gengival

- Características Clínicas Normais

A gengiva pode ser dividida em marginal, inserida e interdentária.

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

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

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

- Aspéctos microscópicos normais

Apesar de o epitélio gengival se constituir de um contínuo revestimento de epitélio escamoso estratificado, podem se definir três áreas distintas do ponto de vista morfológico e funcional: epitélio oral ou externo, o epitélio sulcular e o epitélio juncional (Fig14 e 15).

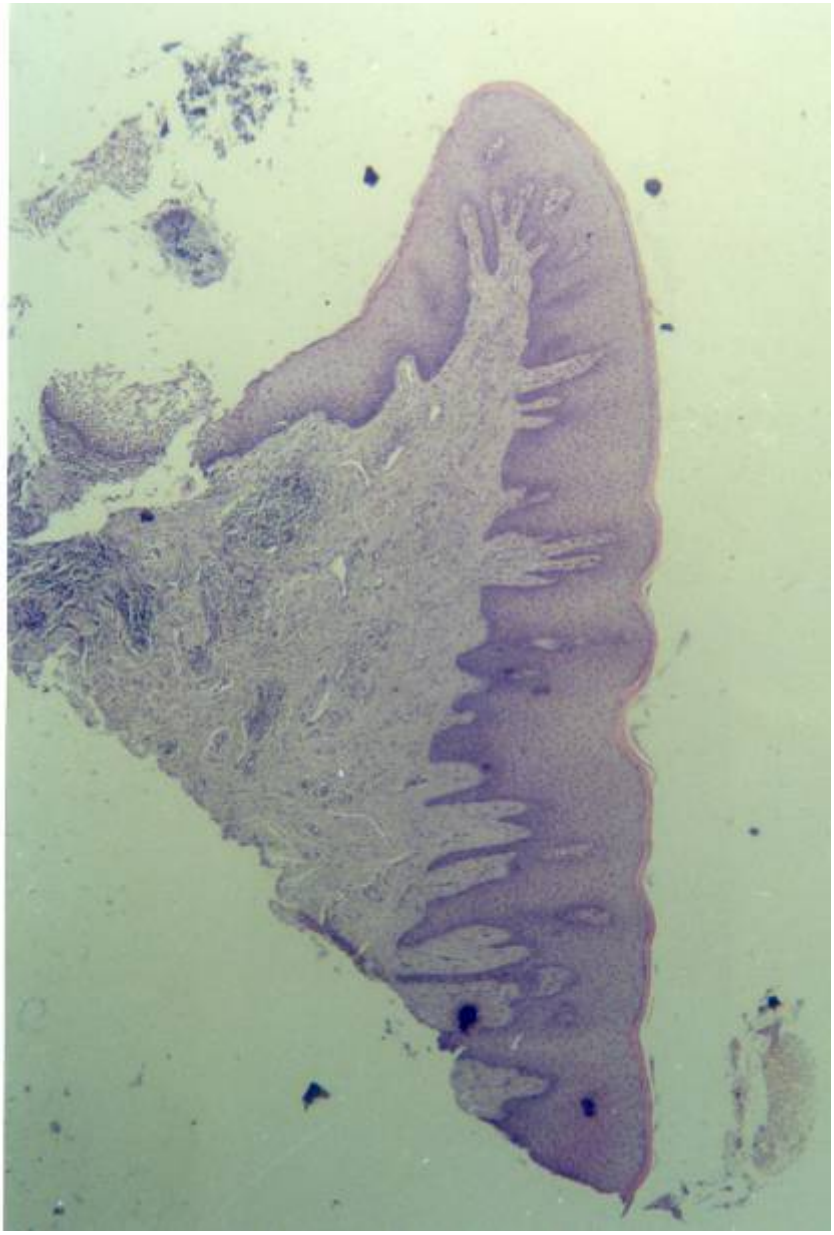

Fig.14 Corte  20 vezes - HE – Fragmento gengival mostrando vista panorâmica do tecido.

Fig 15 Vista panorâmica de uma papila gengival com suas duas vertentes externa e interna, acompanhando o desenho anterior - Mallory aumento de 40 vezes .

O principal tipo celular do epitélio oral e gengival , assim como também de outros epitélios escamosos estratificados é o queratinócito. Outros tipos não queratinócitos ou células claras são as de Langerhans, Merkel, e os melanócitos.

A função do epitélio gengival é proteger as estruturas mais profundas e permitir trocas seletivas com o ambiente local .

Características estruturais e metabólicas do epitélio gengival

Epitélio oral ou externo

Esse epitélio, que reveste a crista e a superfície externa da gengiva marginal como também a superfície da gengiva inserida, é paraqueratinizado (Fig16 e17). O grau de queratinização diminui com a idade .

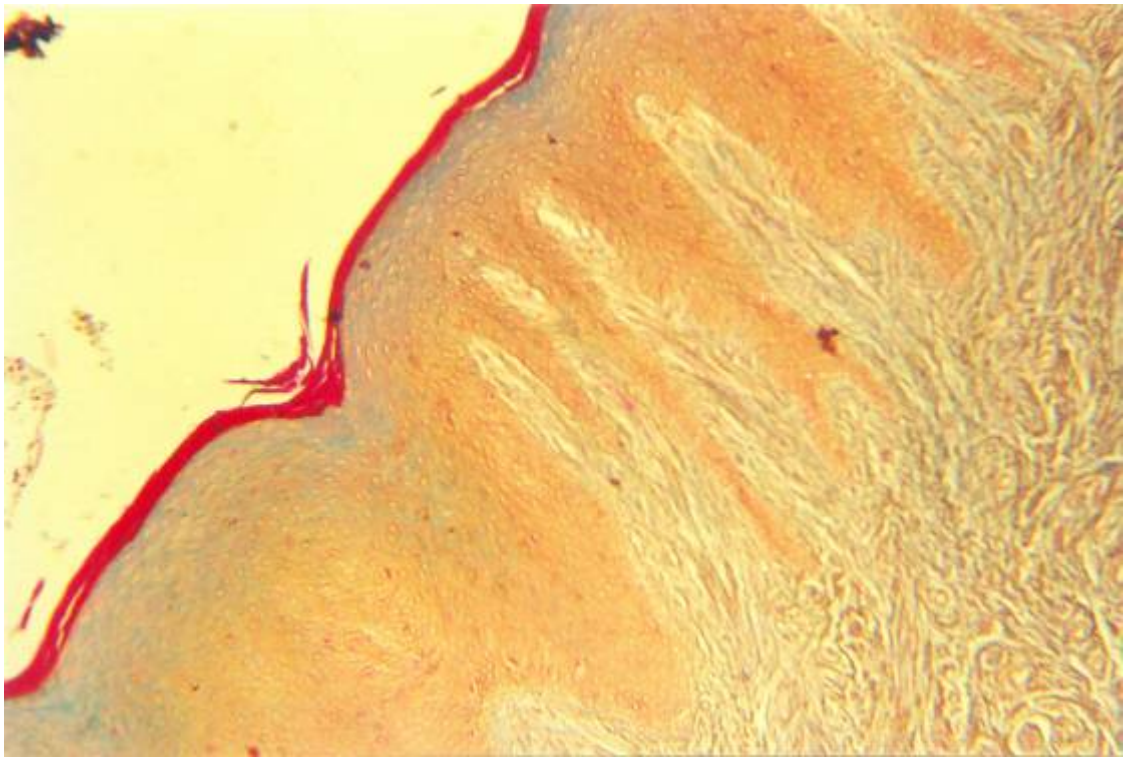

Fig 16 Vertente externa Mallory aumento100vezes.No detalhe o epitélio externo com as projeções Conjuntivas .

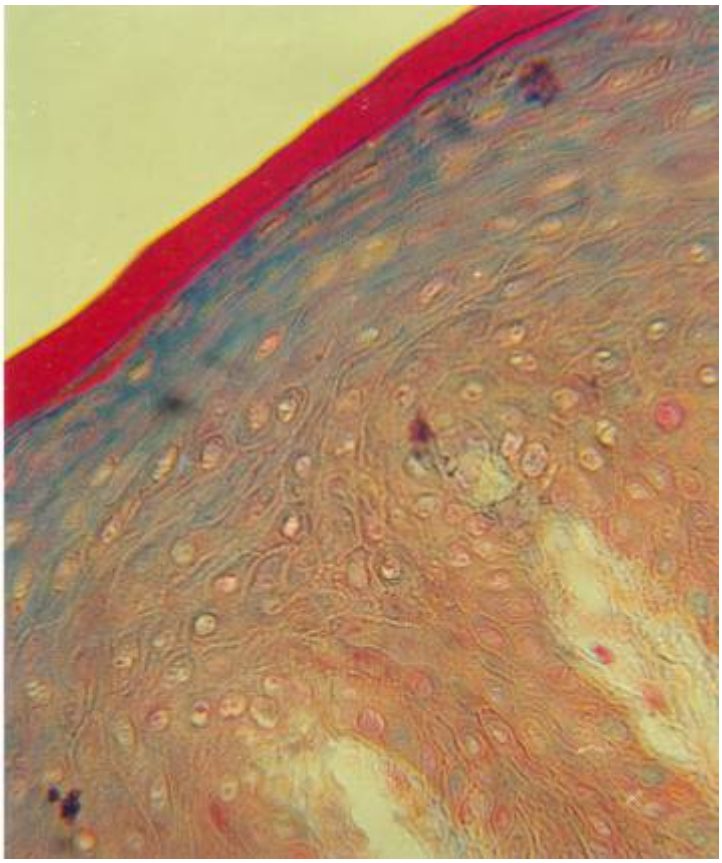

Fig 17 Vertente externa mostrando epitélio ceratinizado- Mallory –aumento 400vezes.

- Epitélio sulcular

Responsável pelo revestimento do sulco gengival, ele é escamoso estratificado fino , não-queratinizado, sem cristas epiteliais, estendendo-se desde a porção coronária do epitélio juncional até a crista da margem gengival. Apresentam numerosas células com degeneração hidrópica (Fig18). Como outros epitélios não-queratinizados, não apresenta os estratos córneo e granuloso. Estudos histoquímicos revelam consistentemente um grau menor de atividade do que o epitélio externo, particularmente no caso de enzimas relacionadas à queratinização . Este epitélio tem o potencial de se queratinizar se for refletido e exposto à cavidade oral ou se a flora bacteriana do sulco for totalmente eliminada. Inversamente, o epitélio externo perde sua queratinização quando entra em contato com o dente. O epitélio sulcular é extremamente importante porque pode agir como uma membrana semipermeável através da qual produtos bacterianos prejudiciais passam para dentro da gengiva e através da qual o fluido tissular é exsudato para dentro do sulco (Fig18).

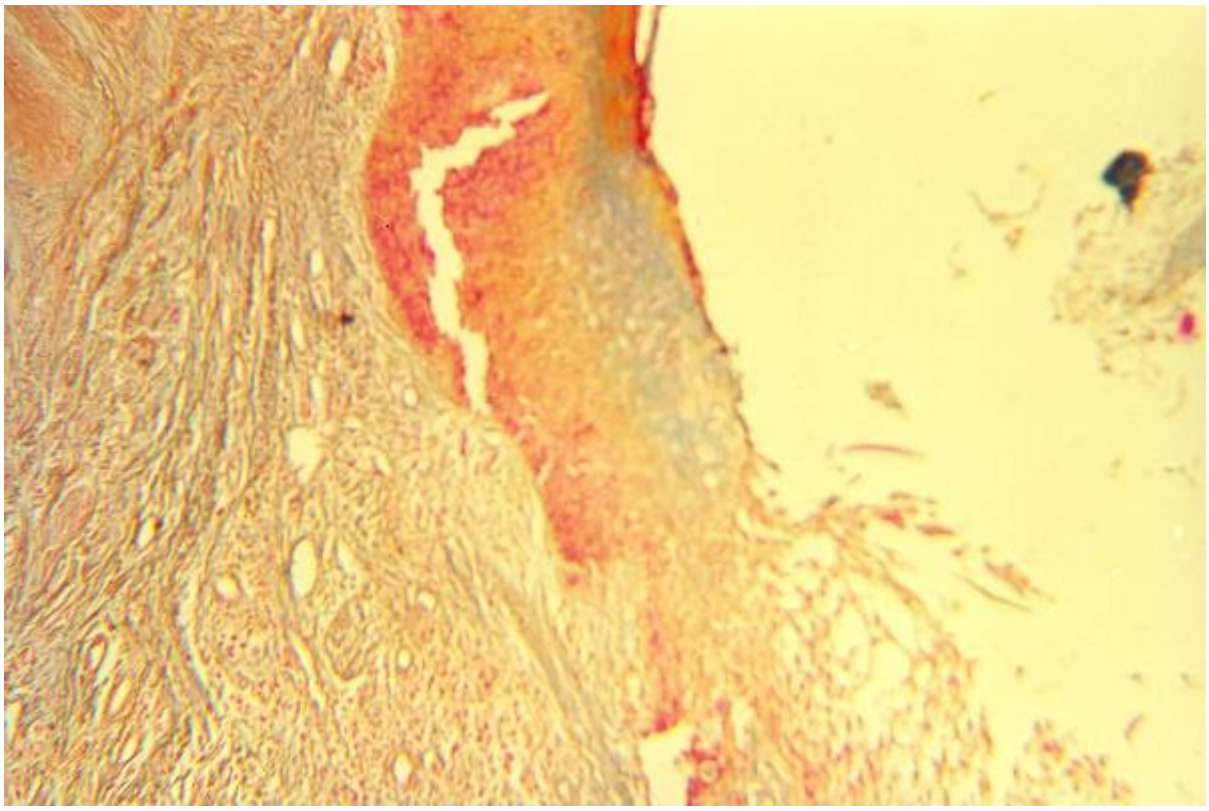

Fig 18 Vertente interna Mallory aumento de 100 vezes no detalhe epitélio interno com áreas de exulceração e conjuntivo com fibras colágenas em azul e com presença de alguns vasos.

- Epitélio juncional

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

- Desenvolvimento do sulco gengival

Depois de completada a formação do esmalte, esse é recoberto pelo epitélio reduzido do esmalte, que está aderido ao dente por uma lâmina basal e hemidesmossomas.Quando o dente penetra a mucosa oral , o epitélio reduzido do esmalte une-se com o epitélio oral e transforma–se no epitélio juncional . À medida que o dente faz erupção , esses epitélios unidos condensam-se ao longo da coroa , e os ameloblastos , que formam a camada interna do epitélio reduzido do esmalte, são gradualmente substituídos por células epiteliais escamosas.

O sulco gengival é formado quando o dente irrompe na cavidade oral definido pelo espaço ou sulco em forma de um V formado entre a gengiva e o dente que circunda a ponta da coroa do dente recém-irrompido.

- Renovação do epitélio gengival

O epitélio oral sofre renovação contínua. Sua espessura é mantida pelo equilíbrio entre nova formação celular nas camadas basal e espinhosa e a esfoliação das células velhas na superfície. Pela manhã, taxas mais altas de

mitoses ocorrem enquanto que pela noite essa taxa diminui. Mitoses são mais acentuadas em áreas desprovidas de queratina e são mais elevadas nas gengivites.

- Fluido Gengival

O sulco gengival contém um fluido que exsuda no seu interior proveniente do tecido conjuntivo gengival passando através do fino epitélio sulcular. Acredita-se que o fluido possa lavar o sulco de substâncias, conter proteínas plasmáticas que podem melhorar a adesividade do epitélio ao dente , possuir propriedades antimicrobianas e iniciar a atividade dos anticorpos na defesa da gengiva.

- Tecido conjuntivo gengival

O tecido conjuntivo da gengiva é conhecido como lâmina própria e consiste de duas camadas: camada papilar subjacente ao epitélio, que consiste em projeções papilares entre as cristas epiteliais , e a camada reticular adjacente ao periósteo do osso alveolar , confirmando a descrição de GLICKMAN(1983) .

O tecido conjuntivo possui ainda um compartimento celular e um intercelular. O colágeno tipo I forma o corpo da lâmina própria e garante resistência à tensão ao tecido gengival. O colágeno tipo IV (fibras reticulares argirofílicas) ramifica em braços que são contínuos com aqueles da membrana basal e parede de vasos.

Os sistemas de fibras elásticas são compostos de oxitalanina, eulânina e fibras elásticas distribuídas entre fibras colágenas . A matriz intercelular também contém proteoglicanas (principalmente o ácido hialurônico e condroitina sulfato) e glicoproteínas (principalmente fibronectina). As glicoproteínas são responsáveis pela fraca reação pas-positiva da substância basal. As fibronectinas unem os fibroblastos com as fibras e com vários outros componentes da matriz intercelular.

- Fibras colágenas gengivais

O tecido conjuntivo da gengiva marginal é composto de colágeno denso, contendo um proeminente sistema de feixes de fibras colágenas conhecido como fibras gengivais, que consistem em colágeno tipo I.

As fibras gengivais possuem as seguintes funções:

1. Comprimir a gengiva marginal firmemente de encontro ao dente;
2. Prover a rigidez necessária para suportar as forças mastigatórias sem ser descolada da superfície do dente;
3. Unir a gengiva marginal livre com o cemento radicular e a gengiva inserida adjacente.

As fibras gengivais são divididas em três grupos: dentogengival, circular e transseptal.

- Grupo dentogengival : são as fibras das superfícies vestibular, lingual, e interproximal. Elas estão embebidas no cemento imediatamente abaixo do epitélio, na base do sulco gengival. Nas superfícies vestibular e lingual projetam-se a partir do cemento na forma de leque , em direção à crista e à superfície externa da gengiva marginal e terminam próximas ao epitélio. Elas também se estendem externamente ao periósteo do osso alveolar vestibular e lingual e terminam na gengiva inserida, ou se fundem com o periósteo. Interproximalmente, as fibras dentogengivais estendem-se à crista da gengiva interdental.

- Grupo circular: Essas fibras caminham através do tecido conjuntivo da gengiva marginal e interdentária circundando o dente, formando um anel.

- Grupo transseptal: Localizadas interproximalmente, formam feixes horizontais que se estendem entre o cemento de dentes adjacentes, nos quais elas estão embebidas.ITOIZ & CARRANZA,(1997)

- Compartimento celular do tecido conjuntivo

O elemento celular preponderante no tecido conjuntivo é o fibroblasto e neste tecido, como em qualquer tecido conjuntivo em outro local do organismo , os fibroblastos sintetizam colágeno e fibras elásticas, assim como glicoproteínas e glicosaminoglicanos da substância amorfa intercelular. Ele também regula a degradação do colágeno.

Mastócitos, que estão distribuídos por todo o organismo, são numerosos no tecido conjuntivo da mucosa oral e da gengiva.

Macrófagos fixos e histiócitos estão presentes no tecido conjuntivo gengival como componentes do sistema fagocitário mononuclear (sistema retículo-endotelial) derivados de monócitos do sangue.

Células adiposas e eosinófilos, apesar de raros, também estão presentes na lâmina própria.

Em gengiva clinicamente normal, pequenos focos de linfócitos e células plasmáticas são encontradas no tecido conjuntivo, próximo à base do sulco.

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

- Suprimento sanguíneo, linfático e nervos

Existem três fontes de suprimento sanguíneo para a gengiva:

1- Arteríolas supraperiósticas ao longo das superfícies vestibulares e linguais do osso alveolar, a partir das quais se estendem capilares ao longo do epitélio sulcular e entre as papilas digitiformes da superfície externa da gengiva. Eventuais ramificações das arteríolas passam através do osso alveolar em direção ao ligamento periodontal (FIG 19 e 20);

2- Vasos do ligamento periodontal, os quais se estendem para dentro da gengiva e se anastomosam com os capilares da área do sulco;

3- Arteríolas que emergem da crista do septo interdentário e se estendem paralelamente à crista óssea para se anastomosar com vasos do ligamento periodontal, com capilares nas áreas do sulco gengival e com vasos que correm sobre a crista alveolar.

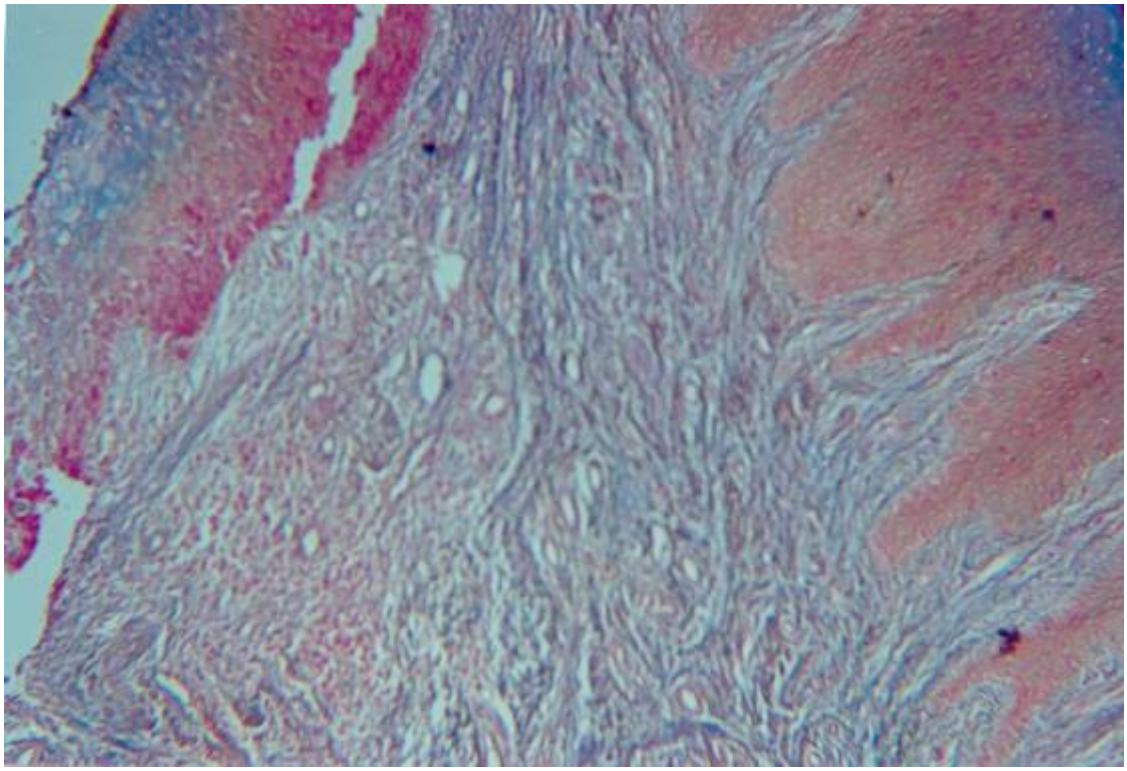

Fig 19 Área de conjuntivo entre as vertentes próxima da vertente interna com presença de alguns vasos Mallory aumento100vezes .

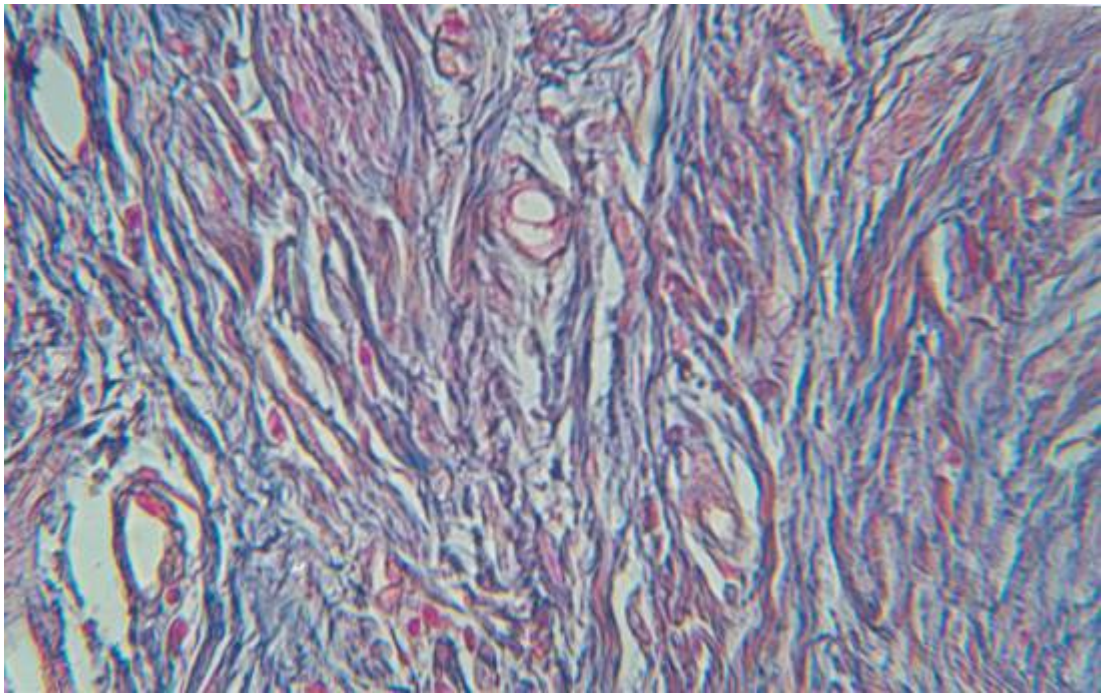

Fig 20 Conjuntivo com fibras colágenas em azul e alguns vasos - Mallory aumento de 400vezes-.

A drenagem linfática da gengiva é feita pelos linfáticos do tecido conjuntivo da papila. Ela prossegue pela rede coletora externa do periósteo dos processos

alveolares, indo para os nódulos linfáticos regionais (particularmente submaxilares). Além disso, os vasos linfáticos situados logo abaixo do epitélio juncional se estendem em direção ao ligamento periodontal, acompanhando os vasos sanguíneos.

A inervação gengival é derivada de fibras provenientes de nervos do ligamento periodontal e dos nervos palatino, bucal e lingual. As seguintes estruturas nervosas estão presentes no tecido conjuntivo: uma rede de terminais argirófilas, das quais algumas penetram no epitélio; corpúsculos táteis do tipo Meissner; terminações em bulbo do tipo Krause, que são receptores de temperatura e aspirais encapsuladas, ITOIZ & CARRANZA,(1996).

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

O conjuntivo próximo à parte mais apical do epitélio sulcular ou da bolsa periodontal sempre apresentou uma reação inflamatória mais intensa, com acúmulo de células do sistema imunológico, como também uma redução do número de mastócitos em relação a vertente externa, como definiu SILVEIRA (1985).

Algumas alterações patológicas do tipo: exulceração, ulceração, degeneração e alterações morfológicas principalmente acantose e presença de queratina no epitélio da vertente interna ou seja na parede do sulco gengival em alguns casos foram descritas por GARROCHO E LOPES (1990).

## Da bolsa periodontal

A formação da bolsa começa com uma alteração inflamatória na parede do tecido conjuntivo do sulco gengival, causada pela placa bacteriana. O exsudato inflamatório celular e do fluido causa degeneração do tecido circundante, incluindo fibras gengivais . Em associação à inflamação , o epitélio juncional prolifera ao longo da raiz, projetando-se em forma de dedo com duas ou três células de espessura. A porção coronária do epitélio juncional se desprende da raiz à medida que migra a porção apical.

O único método seguro de localizar bolsas periodontais e determinar sua extensão é a sondagem cuidadosa da margem gengival ao longo da face de cada dente, GLICKMAN (1983).

Cita ainda GLICKMAN (1983), que os seguintes sinais clínicos indicam a presença de bolsas periodontais:

1. Gengiva marginal vermelho-azulada aumentada , com um bordo roliço separado da superfície do dente;
2. Uma zona vertical azul-avermelhada desde a margem gengival até a gengiva inserida, e às vezes até a mucosa alveolar;
3. Ruptura na continuidade vestíbulo-lingual da gengiva interdentária;
4. Gengiva brilhante , descolorida e edemaciada, associada às superfícies radiculares expostas;
5. Sangramento gengival;
6. Exsudato purulento na margem gengival ou sua aparição em resposta à pressão digital sobre a superfície da margem gengival;
7. Mobilidade, extrusão e migração de dentes;
8. Desenvolvimento de diastemas onde não havia.

O mesmo autor relata que as bolsas são classificadas de acordo com a morfologia e suas relações com as estruturas adjacentes, como se segue:

- Bolsa gengival (relativa ou falsa): uma bolsa gengival é formada pelo crescimento gengival, sem destruição dos tecidos periodontais subjacentes. O sulco é aprofundado por causa do volume aumentado da gengiva.

- Bolsa periodontal (absoluta ou verdadeira): este é o tipo de bolsa que ocorre com a destruição dos tecidos periodontais de suporte. As bolsas absolutas são de dois tipos : 1- Supra-óssea (supra-marginal), na qual o fundo da bolsa é coronário ao osso alveolar subjacente, e 2- infra-óssea (sub- marginal ou intra-alveolar) na qual o fundo da bolsa é apical ao nível do osso adjacente.

Alterações de dois tipos na profundidade do sulco são observadas e definidas de acordo com a migração do epitélio juncional. Quando não há migração do epitélio juncional, define-se como bolsas periodontais falsas ou pseudo-bolsas e quando há migração do epitélio juncional em direção apical, bolsa verdadeira propriamente dita, é relatado por MOUSSALLI & LASCALA (1994).

Paralelamente com o aumento de volume, a margem gengival que se posicionava a poucos metros da junção cementária (0,5mm) passa a ocupar uma posição mais coronária no esmalte, nascendo o conceito clínico conhecido por falsa bolsa , ou seja , há um deslocamento da margem para uma posição oclusal , enquanto a inserção epitelial se mantém inalterada. A profundidade da “falsa bolsa” vai depender da nova disposição marginal em superfície coronária.

Ainda segundo MOUSSALLI & LASCALA (1994), dá-se o nome de bolsa periodontal ao sulco gengival aprofundado. É a entidade que se estende da margem gengival livre da gengiva (onde ela estiver) até a porção mais apical do epitélio juncional migrado.

## Da Gengivectomia

Segundo GLICKMAN (1983), num sentido literal , o termo gengivectomia significa a excisão da gengiva.Na realidade, ela é uma cirurgia em dois estágios, consistindo na remoção da gengiva doente e na raspagem e alisamento da superfície radicular.

A abordagem cirúrgica como alternativa para raspagem subgengival na terapia de bolsas já era reconhecida na parte final do século XIX , quando Robicsek (1884) foi o pioneiro na gengivectomia e que foi posteriormente definida por Grant et al (1979) como sendo “a excisão da parede de tecido mole de uma bolsa periodontal patológica” , WENNSTROM et al (1992).

Ainda , WENNSTROM et al (1992), o procedimento destinado à eliminação de bolsa estava geralmente associado à restauração do contorno alterado da gengiva, para restabelecer a forma fisiológica.

GIORGI et al (1994), definem como sendo a excisão da parede mole da bolsa periodontal . A incisão forma um bisel externo com a superfície exposta à cavidade bucal.

A gengivectomia amputa radicalmente o tecido e espera que por processos de reparação, esse tecido se refaça . Esse tipo de cirurgia é classicamente indicada dentro do conceito das condições fundamentais, na eliminação de bolsas periodontais supra-ósseas de paredes fibróticas, porém, a mesma gengivectomia também é utilizada onde não existem bolsas periodontais, como por exemplo nos crescimentos gengivais, nas hiperplasias sem migração do epitélio juncional, nos casos de papilas invertidas, seqüelas de gengivite úlcero necrosante aguda, em que a base da cratera está dentro do plano de gengiva inserida . Também é indicada nos casos de erupção passiva alterada, na qual é necessário excisar o tecido para expor a coroa clínica e nos casos de deformidade gengivais

procedentes de pacientes portadores de aparelhos fixos ortodônticos de longo tempo. Resumindo temos:

Indicações: - Bolsas supra-ósseas de profundidades semelhantes.

- Bolsas gengivais ou falsas bolsas
- Hiperplasias gengivais
- Crateras gengivais interproximais
- Erupção passiva alterada

Contra-indicações: - Bolsas intraósseas

- Bolsas que atingem ou ultrapassam o limite mucogengival
- Bolsas supra-ósseas de profundidades diferentes
- Inflamação aguda local .

A eficiência da gengivectomia segundo GLICKMAN (1983), resulta do seguinte:

1- Pela remoção da parede doente da bolsa que esconde a superfície do dente, ela facilita a visibilidade e o acesso que são essenciais para a completa remoção de depósitos superficiais irritantes e perfeito alisamento das raízes.

2- Pela remoção do tecido mole doente e irritantes locais , ela cria um ambiente favorável para a cicatrização gengival e a restauração do contorno gengival.

# 3 Materiais e métodos

## 3.1 Materiais

1-Vinte pacientes voluntários com indicação de tratamento periodontal ressectivo da disciplina de Periodontia da ABOMG e de consultório particular;

2-Para a cirurgia foram utilizadas:

Espelho clínico , pinça para algodão, sonda milimetrada
Seringa tipo carpule, agulha para anestesia e tubetes de anestésico
Pinça Crane-Kaplan.
Bisturis de bardparker, Kirkland 15 e 16 e de Orban
Lâmina de bisturi Bard Parker
Curetas e raspadores para as regiões específicas
Alicates de cutícula
Seringa Hipodérmica
Cavitron
Clorexidina 0,12% (Periogard), Soro fisiológico
Cimento Cirúrgico (Coe-paK)

3-Aparelho de laser de baixa intensidade , modelo IR500 da Medical Laser (Laser Beam),com ponteiras de diodo emitindo no comprimento de onda vermelho visível ($\lambda$=688nm) e, infravermelho ($\lambda$=785nm), ambas com 50mW de potência (Fig 21);

Fig 21 Aparelho usado na pesquisa com as duas ponteiras de λ=688nm e λ=785nm

4-Película de PVC Magipack;

5-60 vidros numerados com solução de formol 10% para fixação do material;

6-Laboratório de patologia da F.O. da PUCMG;

7-Histosec para inclusão do material;

8-Micrótomo ;

9-Lâminas e Lamínulas;

10- Solução acetificada de azul de toluidina a 1% e Hematoxilina – Eosina;

11-Microscópios Zeiss Winkel , ocular 10, objetiva 40;

12-Estufa 50ºC;

13-Laboratório de patologia da FOUSP

## 3.2 Métodos

Os fragmentos de gengivas foram aproveitados para investigação científica após autorização do paciente. De 20 pacientes, utilizamos 20 fragmentos de parede não-mineralizada de bolsas periodontais supra-ósseas, obtidos por gengivectomias, técnica cirúrgica demonstrada esquematicamente (fig. 22) , realizada com finalidade terapêutica e de restabelecer a anatomia funcional  A idade e o sexo dos pacientes, assim como as localizações dos fragmentos foram anotadas.

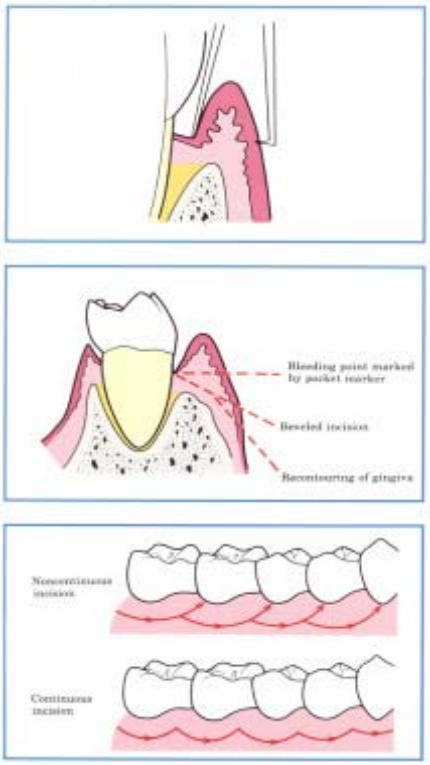


Fig.22 Desenho esquemático sobre a técnica cirúrgica utilizada incluindo marcação de profundidade de bolsa e tipos de incisão contínuas e descontínuas,KINOSHITA'S (1985)

Para obter cada um dos 20 fragmentos, procedemos da seguinte maneira: após medição de bolsa e anestesia, foram utilizadas pinças de Crane-Kaplan para delimitar o limite apical das bolsas e cada fragmento foi previamente dividido em três áreas. Tipo de incisão descontínua foi executada com bisturi de Bard Parker e logo depois foi utilizada a cureta para remoção do primeiro terço do fragmento

sem ter sido submetido a qualquer irradiação para servir de controle. O segundo terço do fragmento foi irradiado na técnica de aplicação pontual por contato, na região próxima da papila, com a potência de 50mW, com comprimento de onda de 785nm, com uma fluência de 8J/cm$^2$ ,antes da remoção cirúrgica e posteriormente removidos também por incisão descontínua. O último terço foi submetido à irradiação pontual sobre a região da papila antes da remoção cirúrgica, com potência de 50mW, com comprimento de onda de 688nm, também com fluência de 8J/cm$^2$, programada previamente no aparelho . O regime de operação foi pulsado com freqüência de 36 Hz . Após retirar o último terço do fragmento, o tecido de granulação remanescente foi removido com cureta para favorecer a formação de um novo tecido mais saudável e utilizamos o bisturi de kirkland para realizar o acabamento na região de ângulo da incisão com a vertente externa. Na região interdentária o acerto foi dado com alicate de cutícula. Após a irrigação da área com soro e clorexidina 0,12%, colocou-se de cimento cirúrgico Coe-pak. Esse protocolo foi repetido em todos os 20 pacientes.

Durante a cirurgia, o material coletado foi fixado em solução aquosa de formol a 10% rotulado em paciente 1, vidro A (controle), B (laser IV), C (laser VV) e enviado para o laboratório de patologia da FOPUCMG, onde posteriormente foram incluídos em Histosec (FIG 23), cortados com 5μm de espessura no micrótomo (FIG 24), sendo que cada fragmento originou quatro lâminas, duas coradas pela técnica de ATKINS (azul de toluidina) para mastócitos e duas pela HE.

Fig 23 Fragmentos incluídos em Histosec

Fig.24 Micrótomo realizando os cortes de 5 μm.

A seguir mostraremos uma seqüência de um caso clínico relatando dados da ficha clínica do paciente, aspecto radiográfico, demonstrando todos os passos da intervenção cirúrgica e como foram obtidos os fragmentos,(FIG 25, 26 e 27) .

Caso Clínico

Paciente: A. T. V. Sexo : Masculino Idade :14 anos
Indicação: Eliminação de bolsas gengivais e correção da anatomia gengival
Diagnóstico: Gengivite com bolsa periodontal sem envolvimento ósseo.
Sondagem: Bolsas variavam de 3 a 5 milímetros
Área: 13,12,11,21,22,23
Exame Complementar: Radiográfico (Fig25)

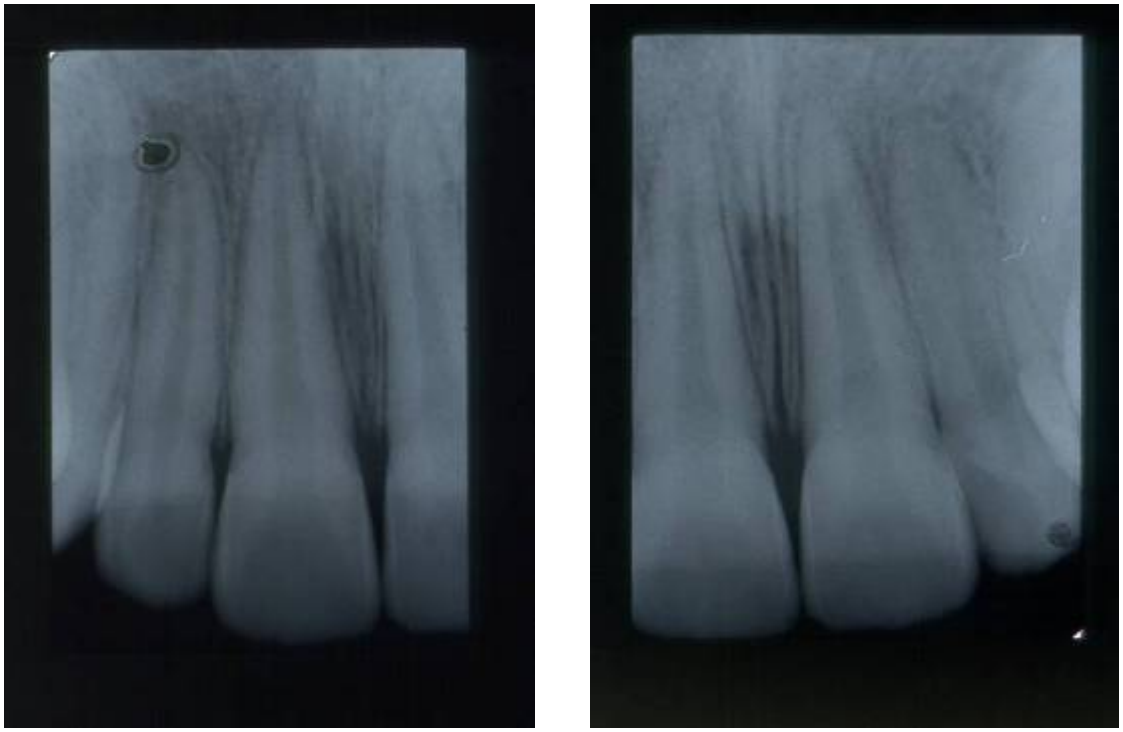

Fig 25 Radiografias da área que irá sofrer intervenção

1- Visão clínica do caso; 2- Sondagem da área identificando presença de bolsa; 3- Vista palatina e presença da isquemia após anestesia;

4- Marcação do limite apical da bolsa – Pinça Crane-Kaplan ;

5- Visão palatina já marcada;

6- Incisão inicial com bisturi Bad Parker;

7-Incisão interdental com bisturi .de Goldmam-fox;

8- Remoção de fragmento controle;

9- Aplicação do laser infravermelho (λ=785 nm) 8 J/cm$^2$ com posterior retirada do fragmento ;

10- Aplicação do laser vermelho visível (λ=688nm) 8 J/cm$^2$ com posterior retirada do fragmento;

11-Acerto através de biselamento do ângulo da incisão com bisturi de Kirkland ;

12-Acerto da região interdental papilar com alicate de cutícula ;

13- Colocado cimento cirúrgico Coe-pak

14- Os três fragmentos colhidos; já submersos em formol;

15- Aspecto clínico vestibular com uma semana;

16- Aspecto clínico vestibular após um mês de cirurgia;

17- Aspecto clínico após um mês de cirurgia , vista palatina;

18-Aspecto clínico final .

Fig 26 Seqüência de fotos da intervenção cirúrgica com obtenção do material .

Antes

Depois

Fig 27 Aspecto clínico antes e após a intervenção cirúrgica corretiva .

Os mastócitos foram contados em 5 campos microscópicos com aumento de 400 vezes (microscópio Zeiss Winkel) no tecido conjuntivo da região subepitelial da vertente externa da parede não-mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea tomando como limite do campo a camada basal do epitélio (fig 28 e 29).

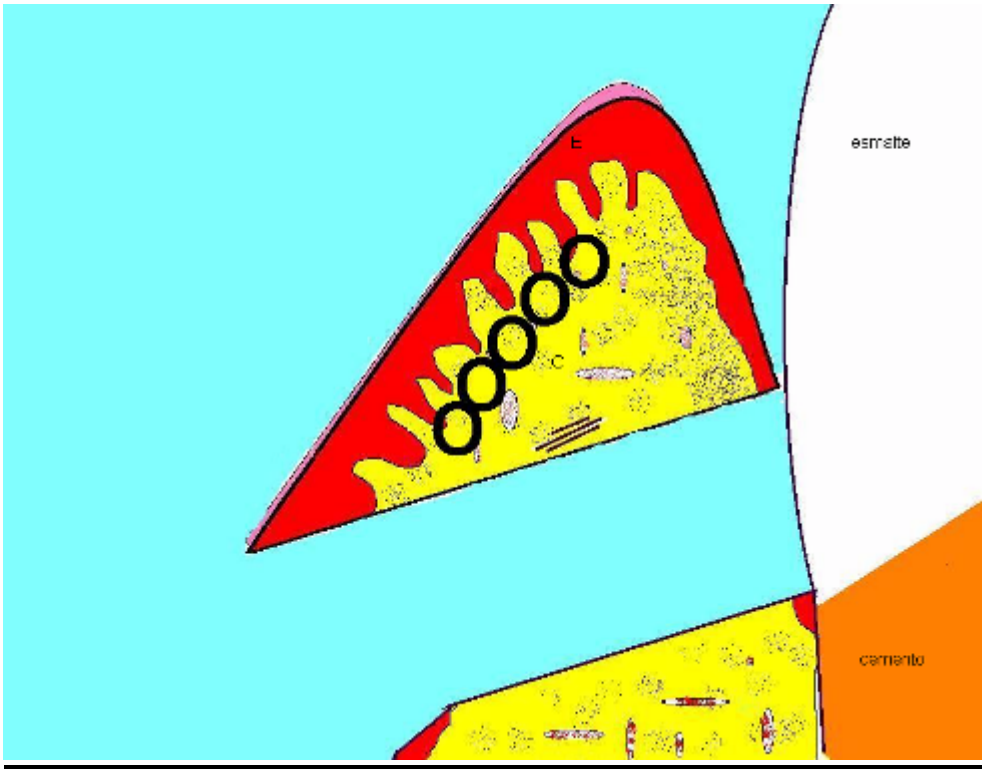


Fig. 28 Esquema para observação de 5 campos microscópicos E -Epitélio, C - Conjuntivo 0s círculos pretos indicam os 5 campos a serem observados .

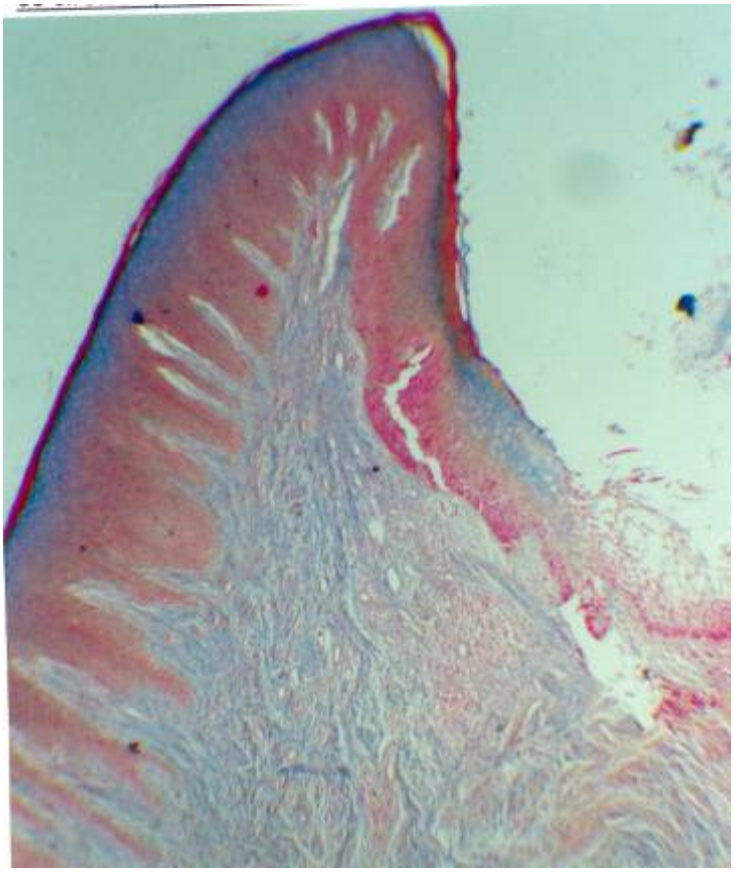

Fig 29 Vista panorâmica de uma papila gengival com suas duas vertentes externa e interna, acompanhando o desenho anterior-MALLORY- aumento de 40 vezes.

Em cada caso, tanto no fragmento controle como nos irradiados, as características morfológicas de cada mastócito e a condição da rede capilar local foram anotadas.

Produzidas as lâminas, estas foram enviadas para análise computadorizada no departamento de patologia da FOUSP. As observações foram submetidas à análise comparativa e obtidas as conclusões.

Para visualização e posterior contagem de mastócitos foi utilizada a coloração de azul de toluidina que é específica e metacromática para esse tipo de célula. Os números de mastócitos estão registrados nas TABELAS 1,2,3 e 4. Alguns cortes em azul de toluidina estão a seguir (Fig 30 ,31 32):

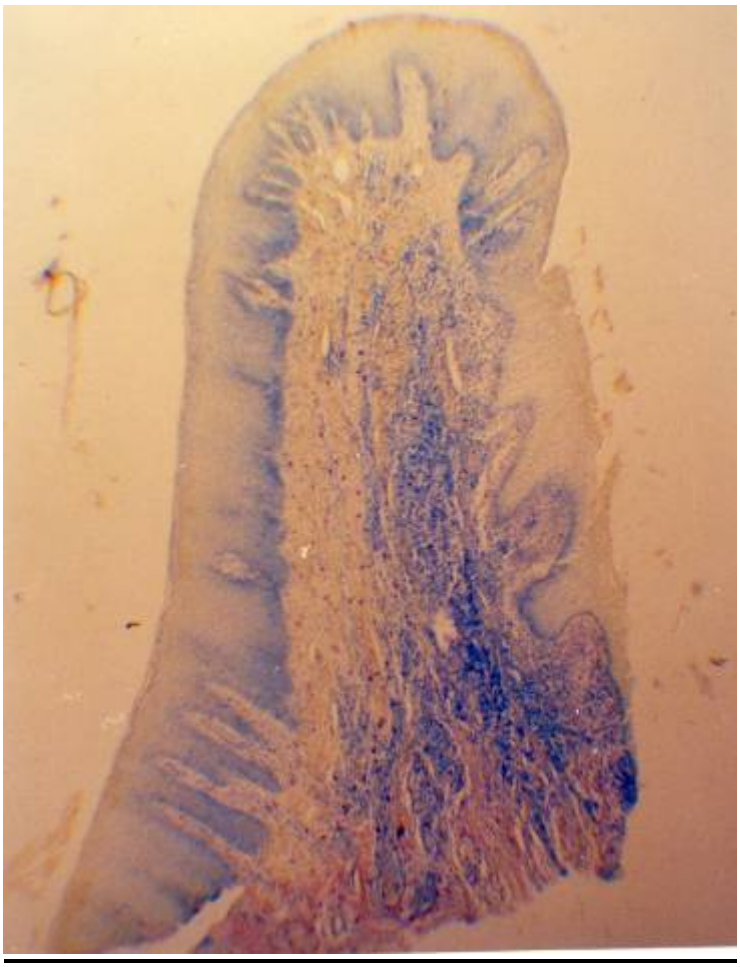

fig 30 Vista panorâmica ,papila toda com vertente externa e a interna – AT - aumento 40 vezes-

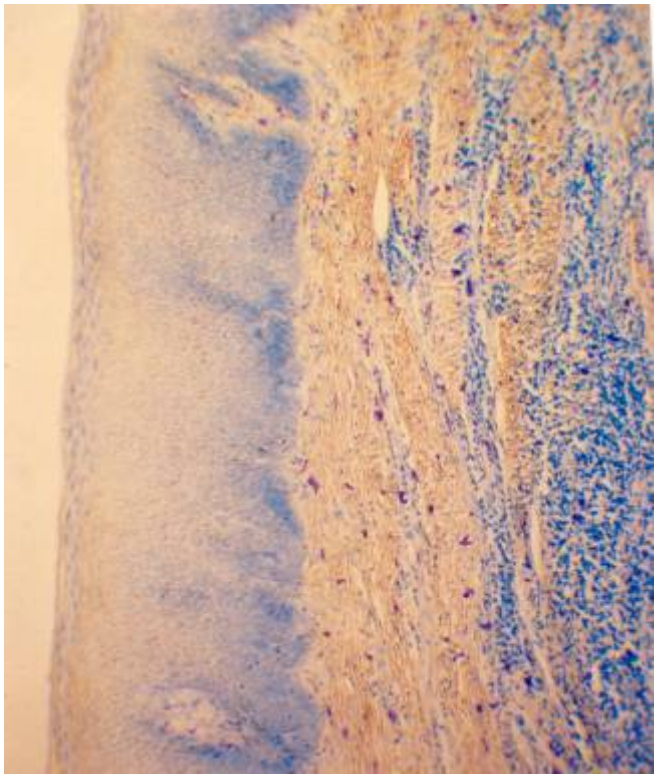

Fig 31  Vista da vertente externa  AT aumento 100 vezes, detalhes: epitélio externo , camada papilar do conjuntivo e vaso.

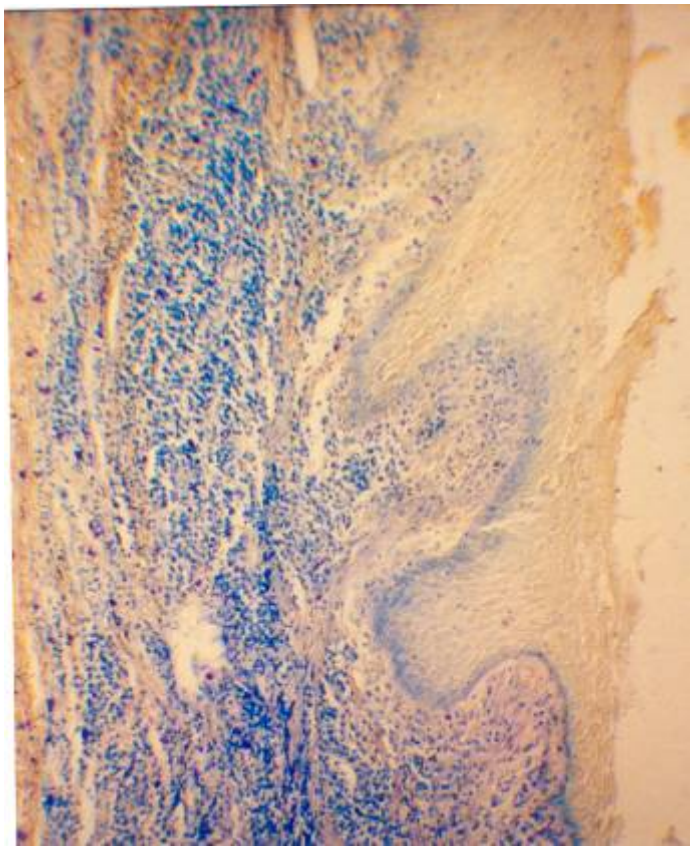

fig 32  Vista da vertente interna  AT aumento 100 vezes epitélio, camada interna sofrendo alteração morfológica.

Com a finalidade de facilitar a visualização para a medição de vasos foi usada a coloração de hematoxilina–eosina em aumento de 400 vezes e a seguir algumas fotografias de cortes histológicos em aumentos variados de um fragmento gengival identificando a área da vertente externa , interna com as características de tecido epitelial e conjuntivo. (Fig 33,34,35,36,37).

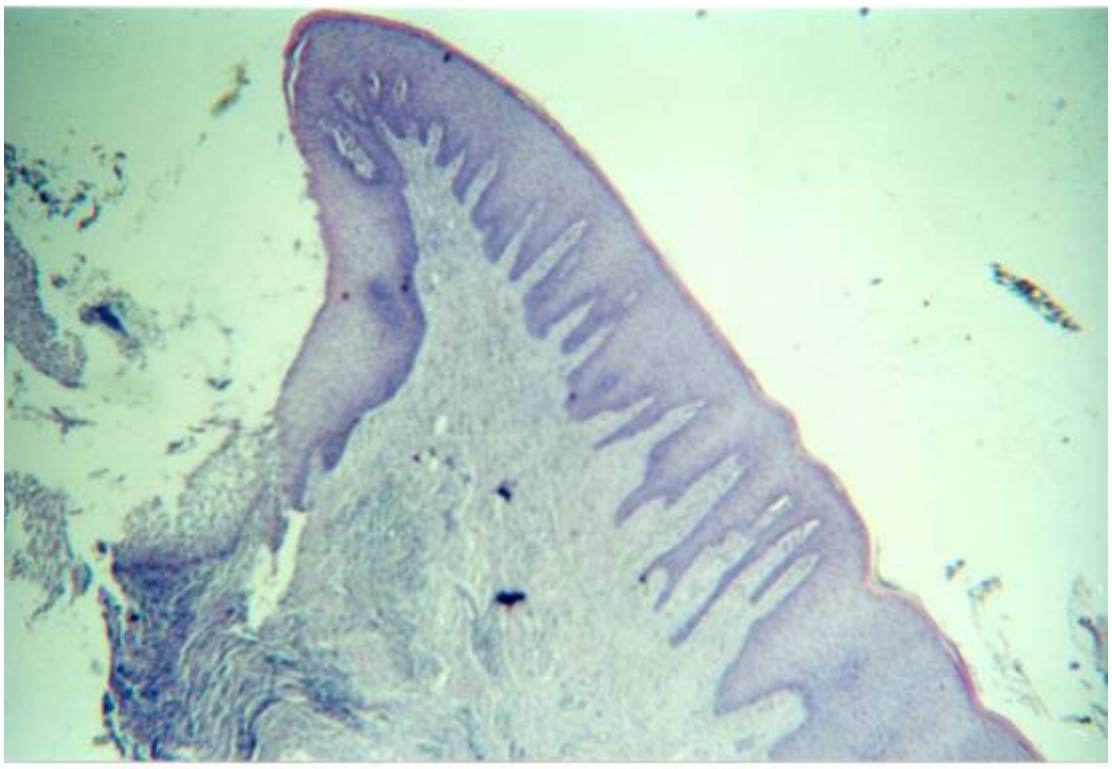

Fig 33 Vista panorâmica da papila gengival mostrando as duas vertentes externa e a interna - HE aumento de 40 vezes.

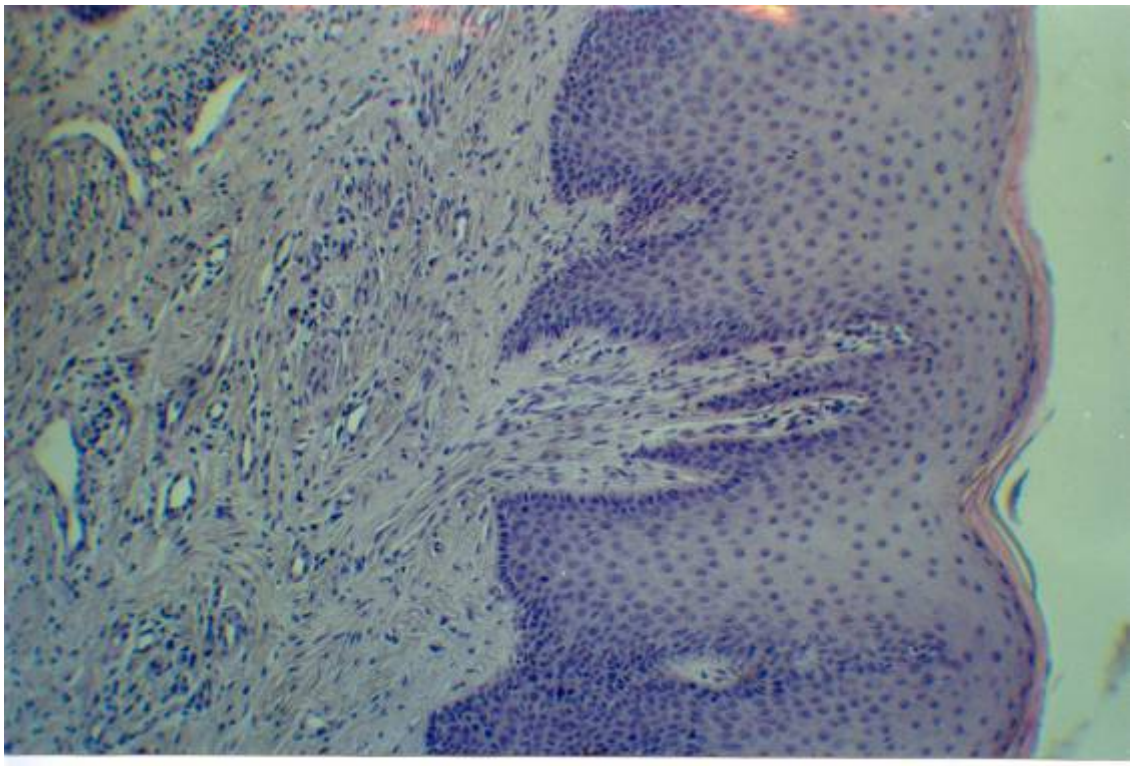

Fig 34 Vertente externa - HE – aumento200vezes: epitélio queratinizado, conjuntivo e alguns vasos.

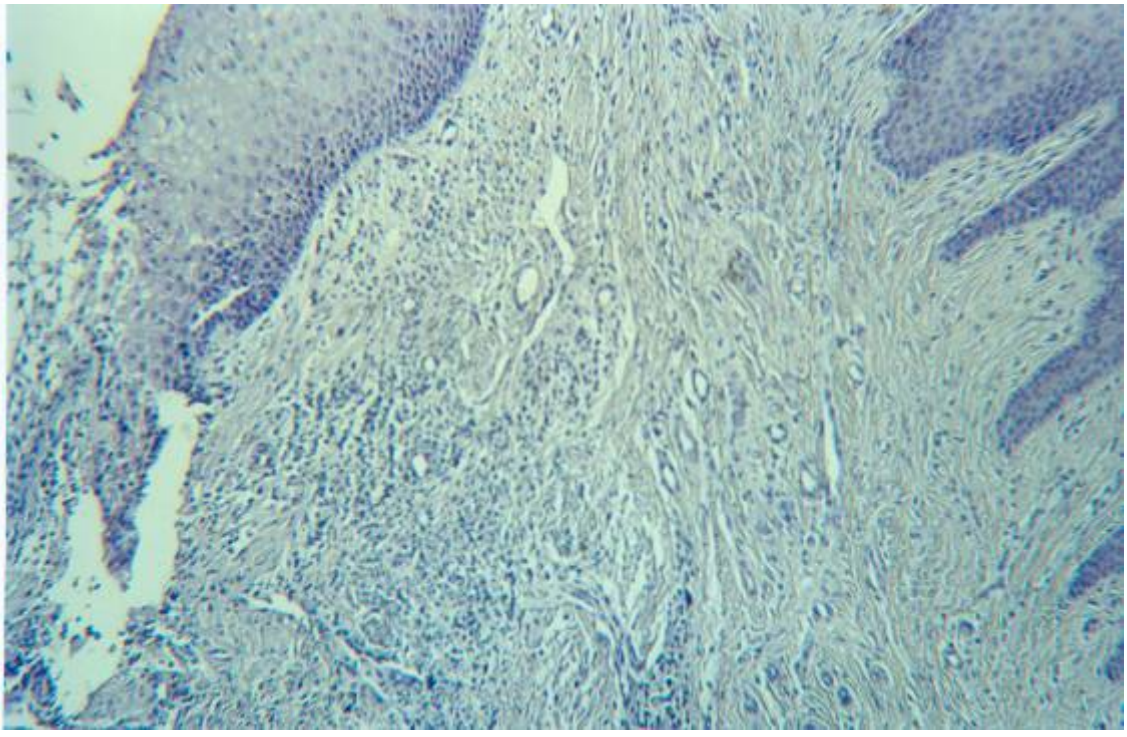

Fig 35 Vertente interna – HE - aumento de 100 vezes ; epitélio do sulco , conjuntivo com infiltrado inflamatório e alguns vasos.

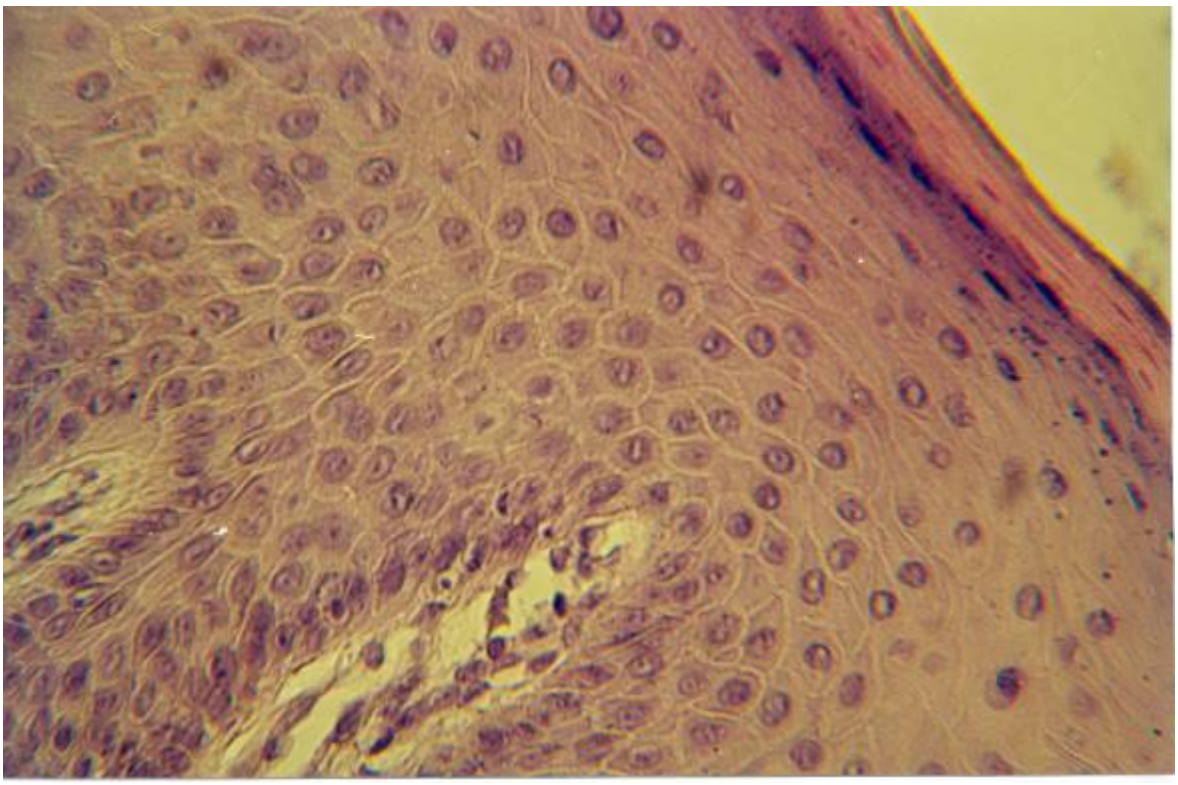

Fig 36  Vertente externa - HE - aumento  400vezes: Epitélio queratinizado.

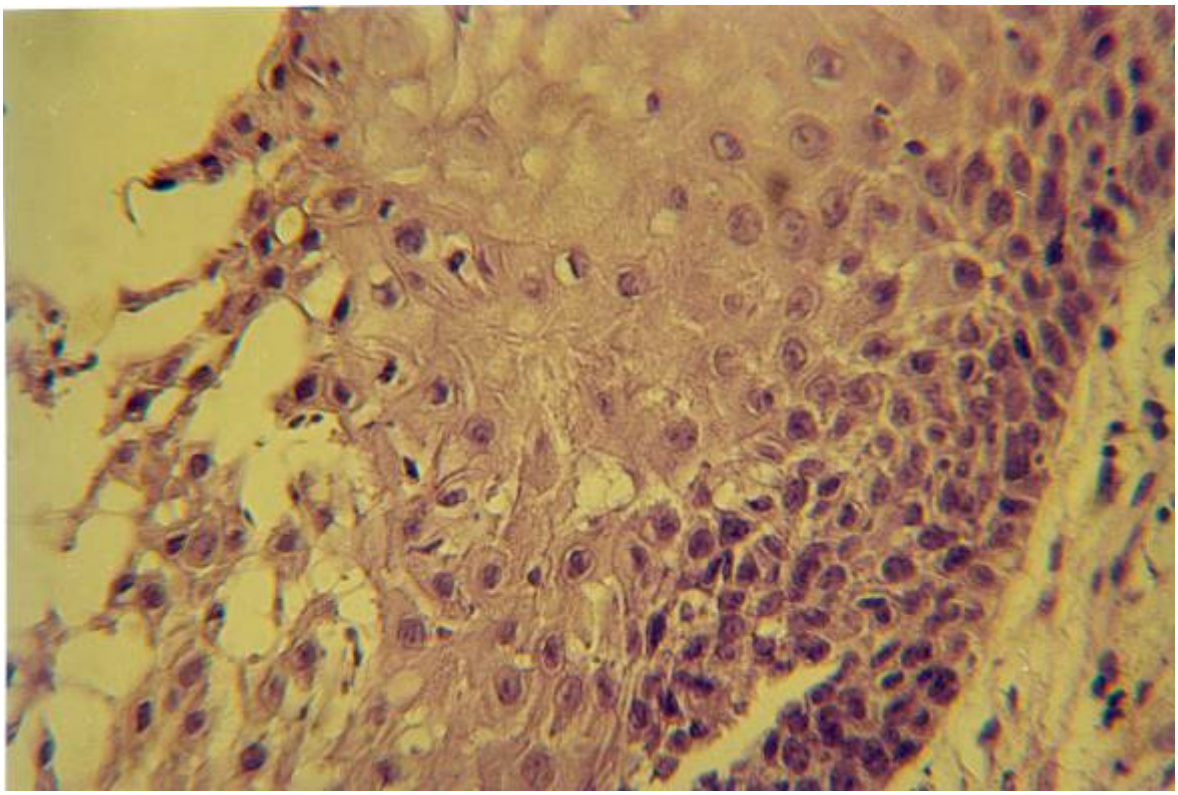

Fig 37 Vertente interna ,áreas de exulceração- HE aumento de 400vezes.

Para medição dos vasos foi usado o aumento de 400 vezes utilizando o microscópio e computador da Universidade de São Paulo. Foram medidos a largura e comprimento (Fig 38) e registrados na TABELA 5 e 6.

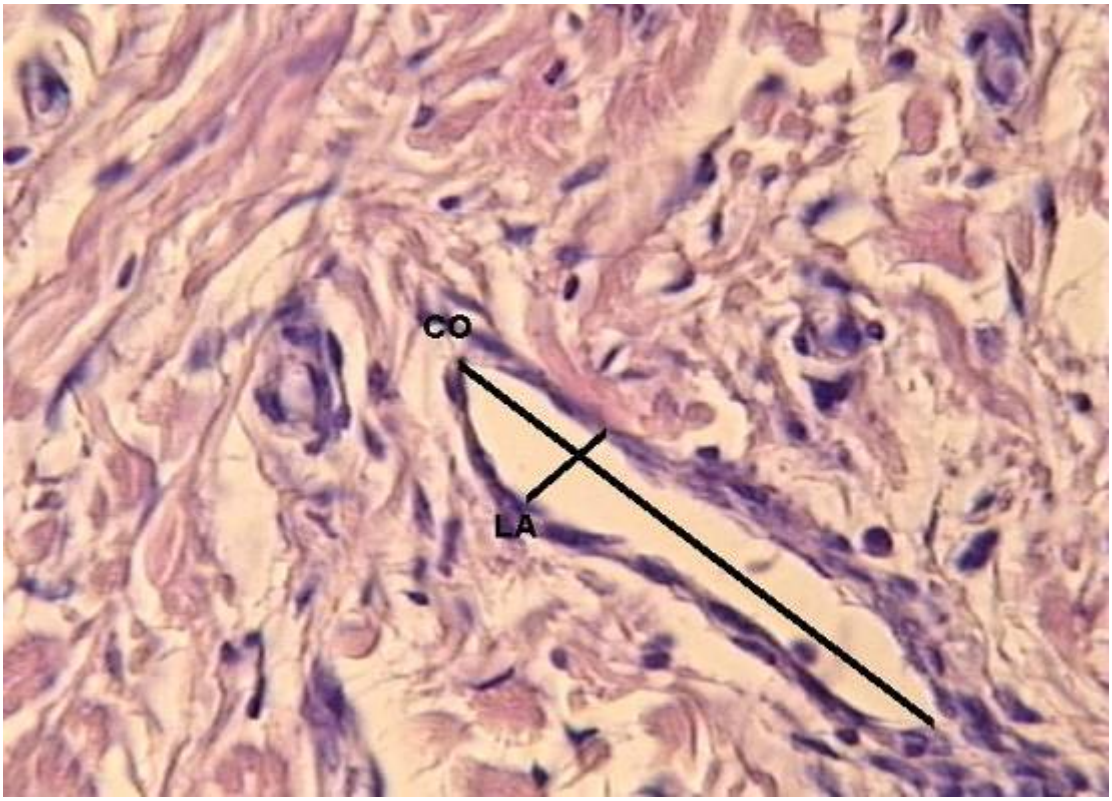


Fig 38 Aumento de 400 vezes HE no centro um vaso mostrando como foi feita a medição com LA-largura e CO-comprimento.

Os resultados registrados em tabelas foram submetidos à análise estatística e as conclusões anotadas.

- Análise estatística

Utilizou-se o teste não-paramétrico de KRUSKAL-WALLIS, onde se comparou o número de mastócitos desgranulados, número de mastócitos totais, índice de desgranulação , a largura e o comprimento dos vasos em fragmentos de tecido gengival. A análise não paramétrica de KRUSKAL-WALLIS foi feita através de um programa desenvolvido pelo prof. Ivan Barbosa Machado Sampaio, que se encontra em domínio público no LCC-UFMG (Laboratório de computação científica) .

# 4 Resultados

Na contagem foi observado mastócitos intactos e desgranulados (Fig 39 e 40), o número de mastócitos totais como também o número de mastócitos desgranulados em cinco campos microscópicos com aumento de 400x no grupo controle (Fig 41 a e b, 42 a e b e 43 a e b), no grupo que recebeu o laser de emissão infravermelha (Fig 44 a e b, 45 a e b e 46 a e b) e no grupo que recebeu o laser de emissão vermelha (Fig 47 a e b, 48 a e b, 49 a e b) foram anotados (TAB1 e 2) e estão representados nos GRÁFICOS 1, 2, e 3 como também o número total representado no GRÁFICO 4.

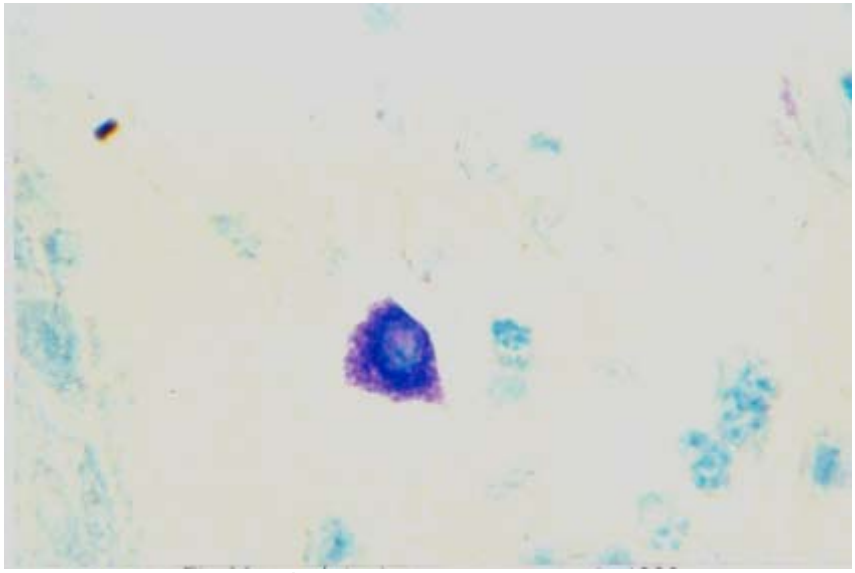

Fig 39 mastócito intacto - aumento de 1000x.

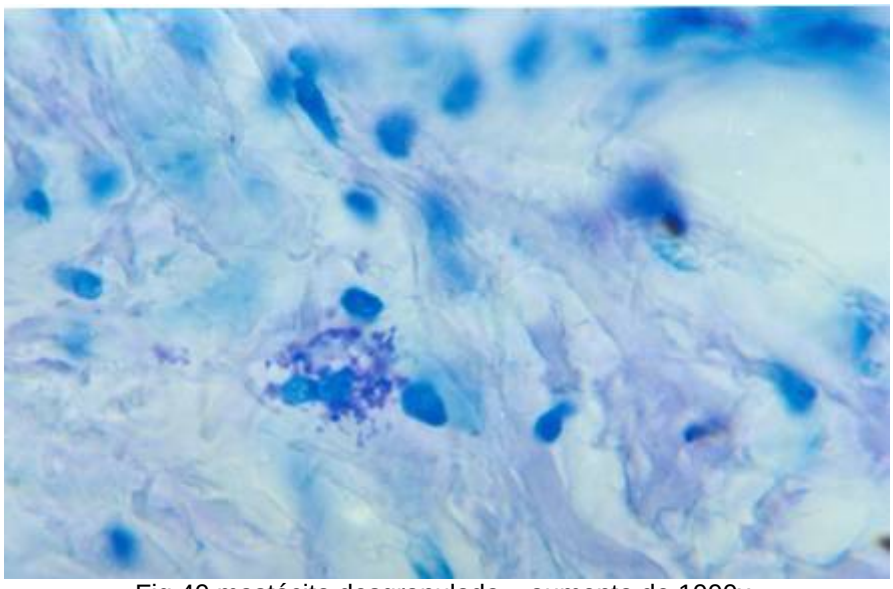

Fig.40 mastócito desgranulado – aumento de 1000x.

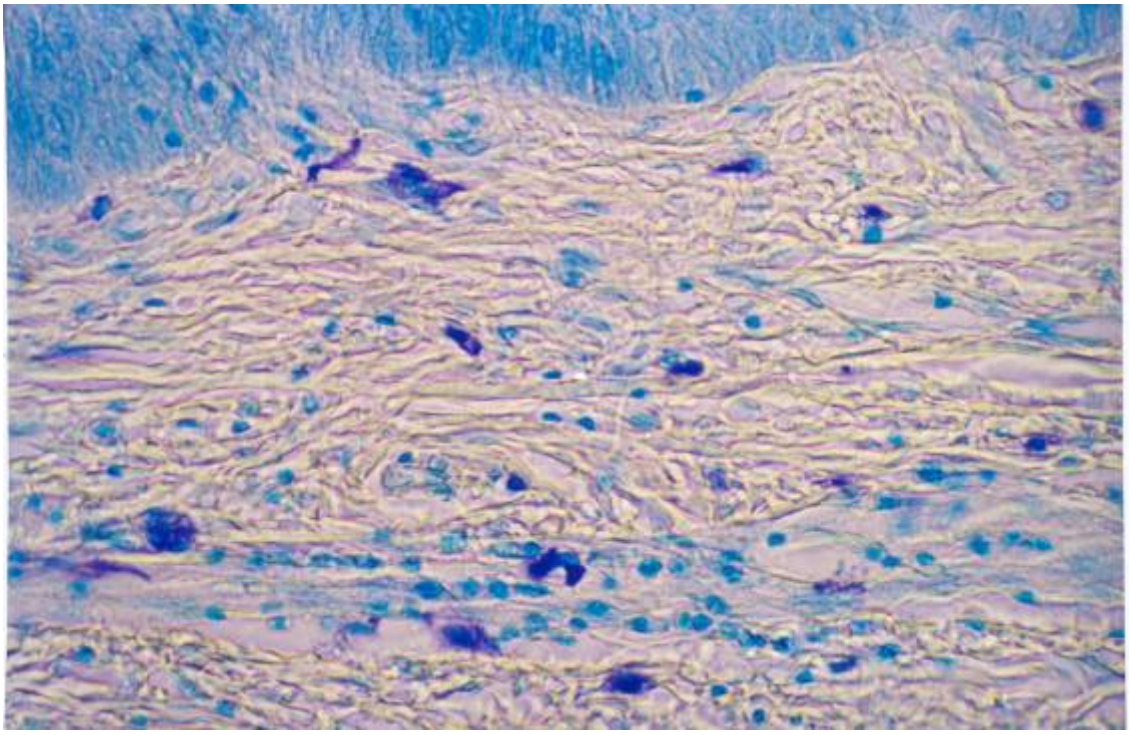

Fig 41a. Campo Histológico da área controle- AT aumento de 250 x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos.

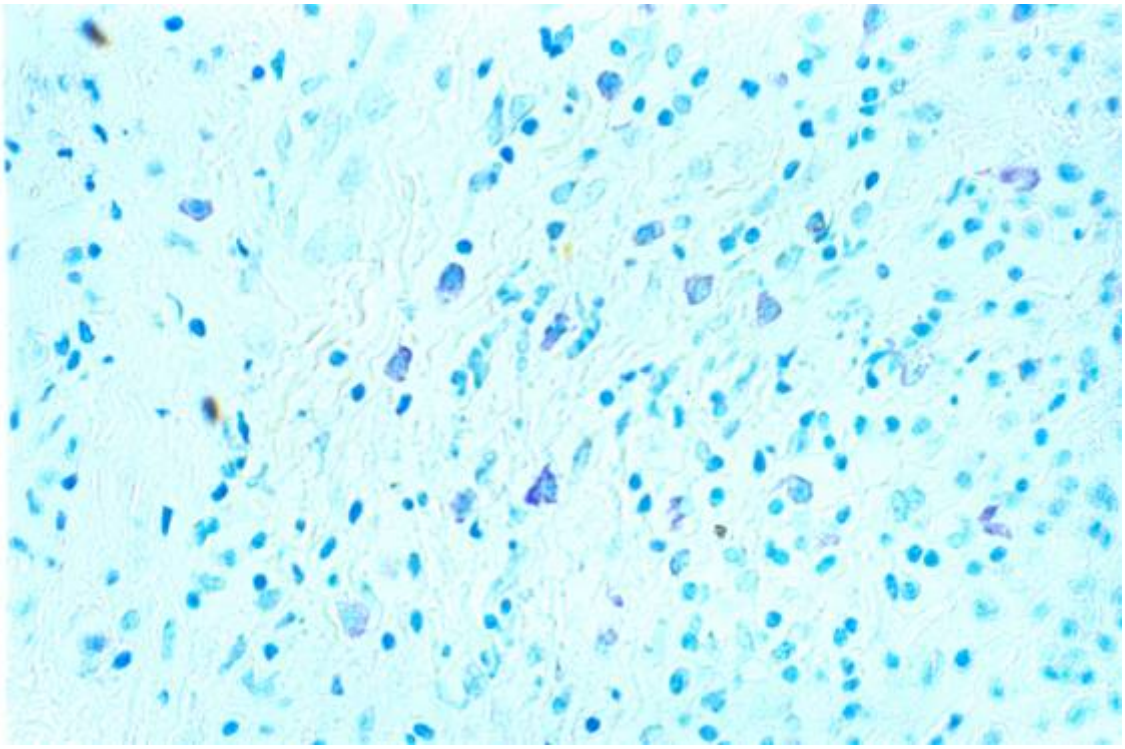

Fig 41b. Campo Histológico da área controle- AT aumento de 200 x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos.

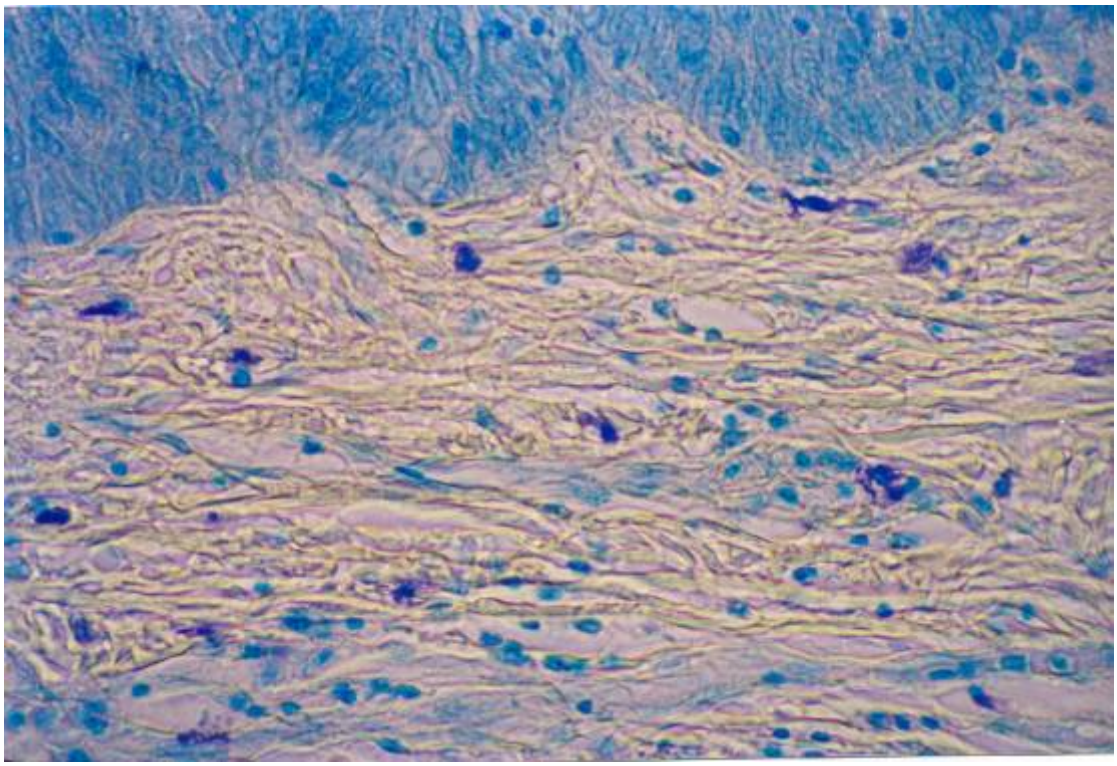

Fig 42a. Campo Histológico  da área controle- AT aumento de 250 x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos.

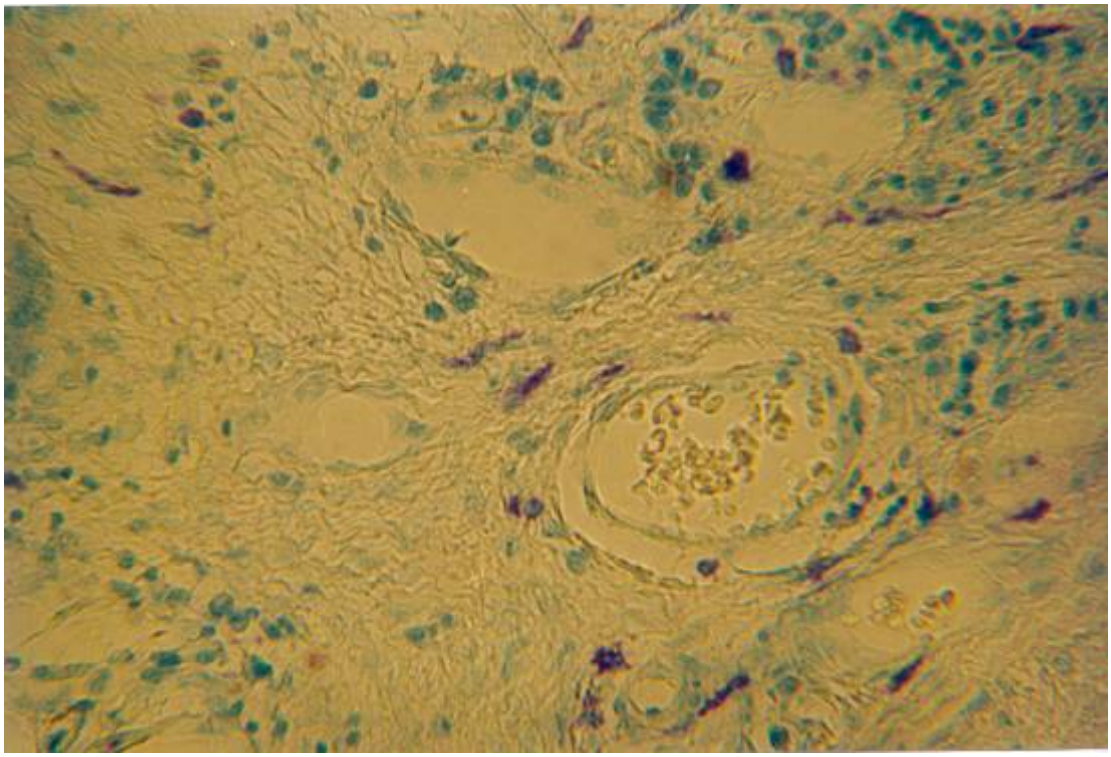

Fig 42b. Campo Histológico da área controle- AT aumento de 400 x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos , vaso com hemácias.

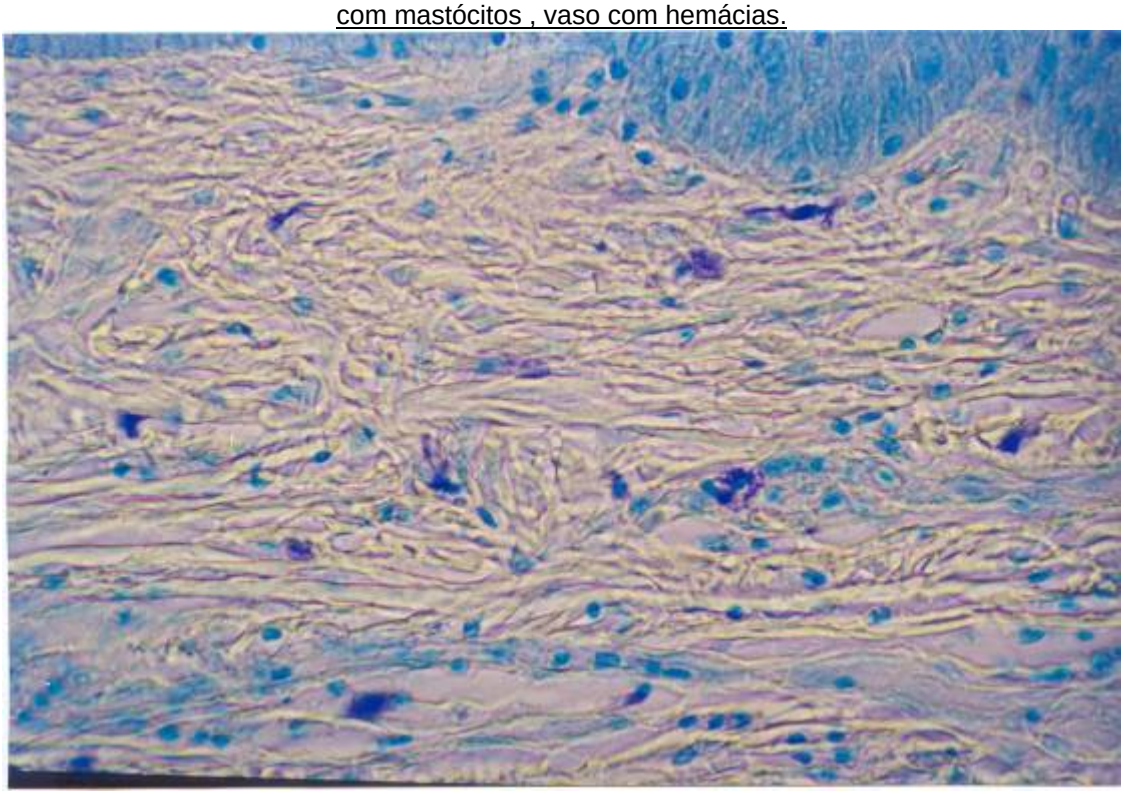

Fig 43a. Campo Histológico da área controle- AT aumento de 250 x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos.

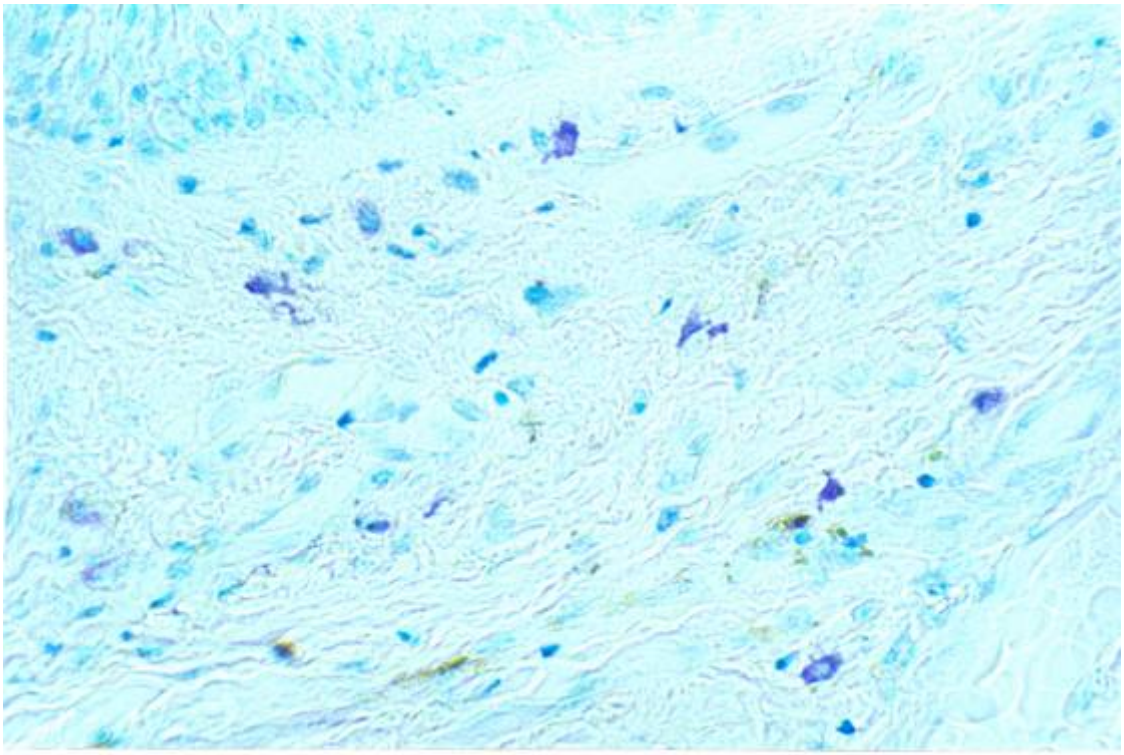

Fig 43b. Campo Histológico da área controle- AT aumento de 400 x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos.

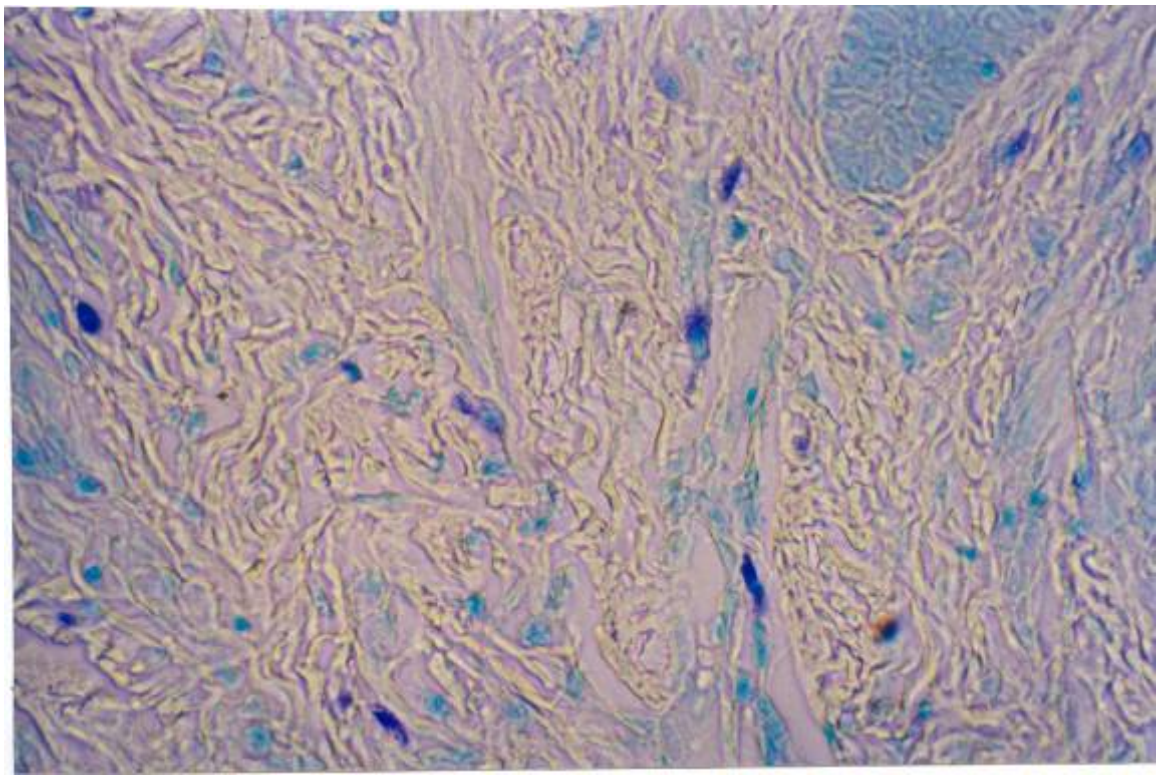

Fig 44 a. Campo histológico da área que recebeu luz infravermelha-AT aumento de 250x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos.

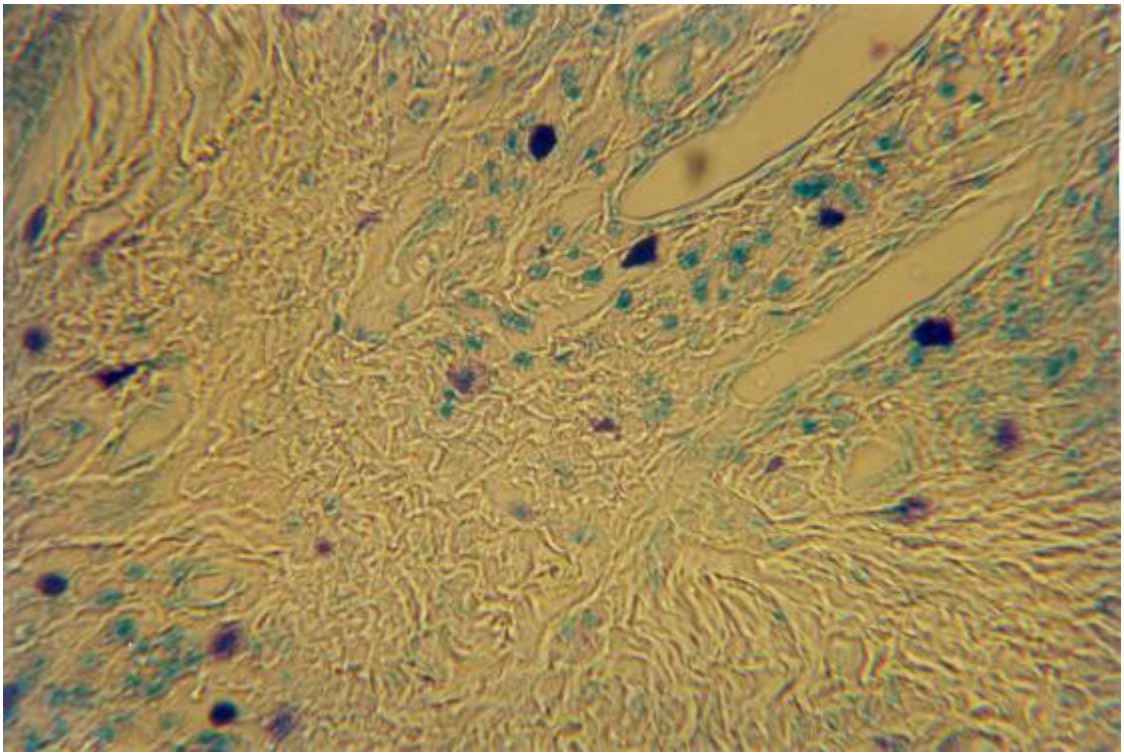

Fig 44 b. Campo histológico da área que recebeu luz infravermelha-AT aumento de 400x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos.

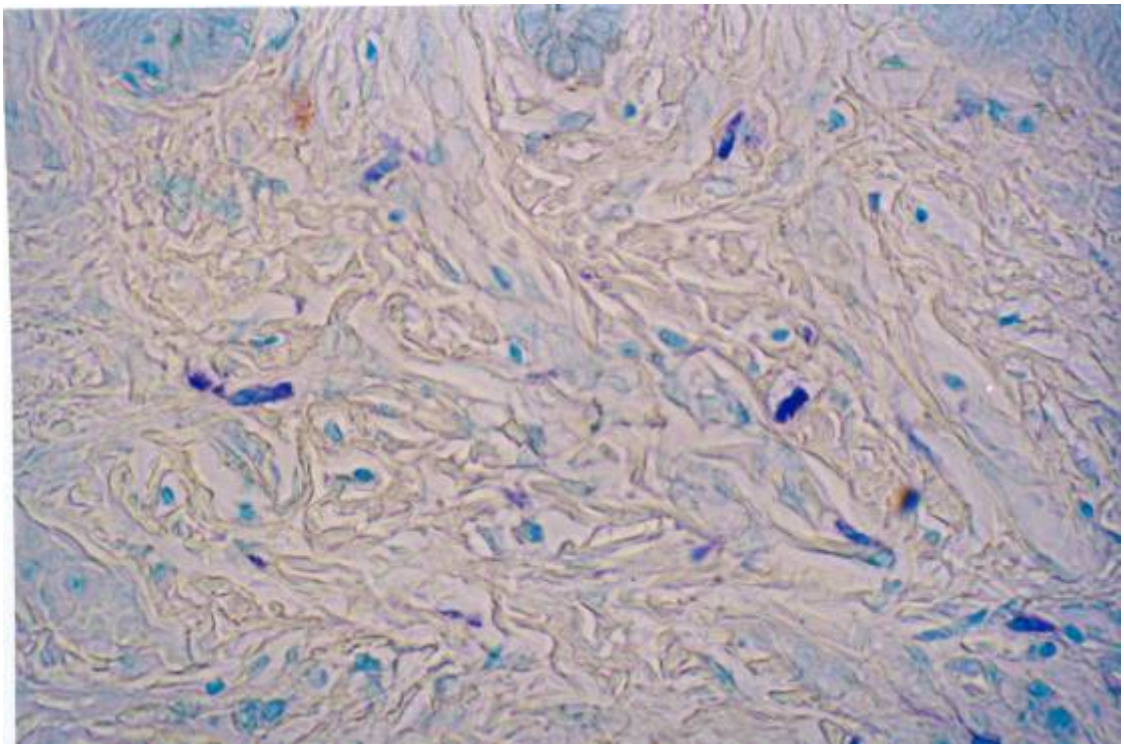

Fig 45a . Campo histológico da área que recebeu luz infravermelha-AT aumento de 250x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos.

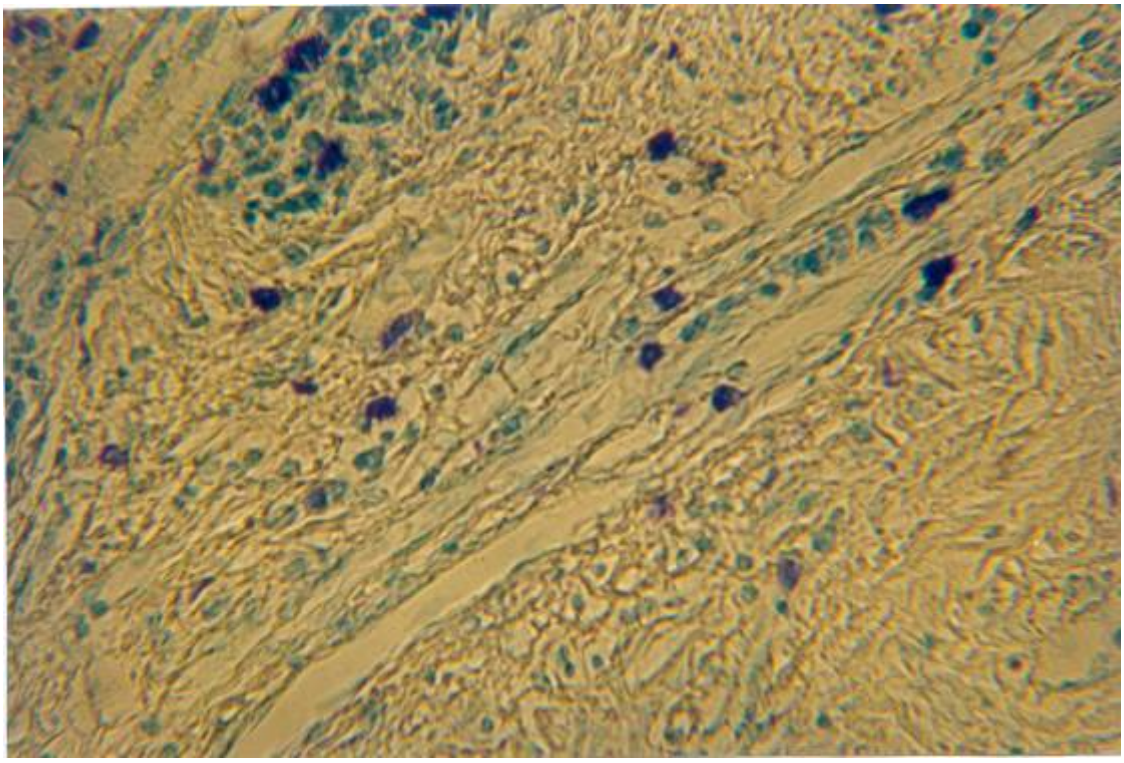

Fig 45b . Campo histológico da área que recebeu luz infravermelha-AT aumento de 400x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos.

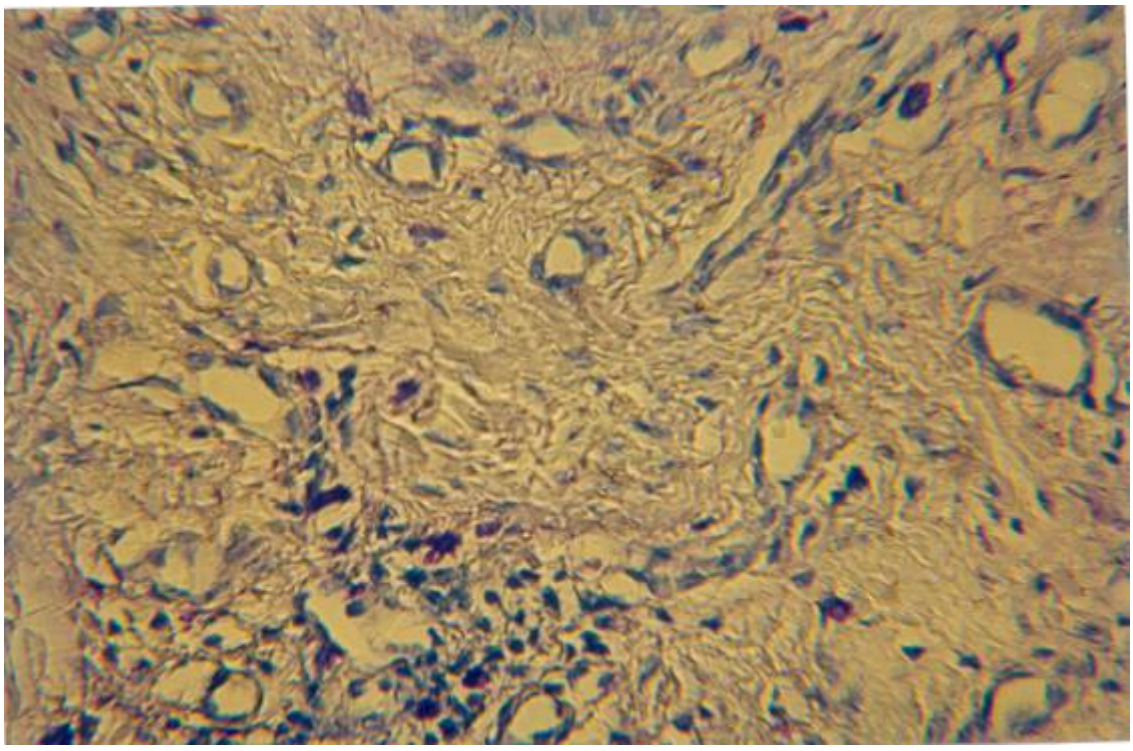

Fig 46a . Campo histológico da área que recebeu luz infravermelha-AT aumento de 250x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos.

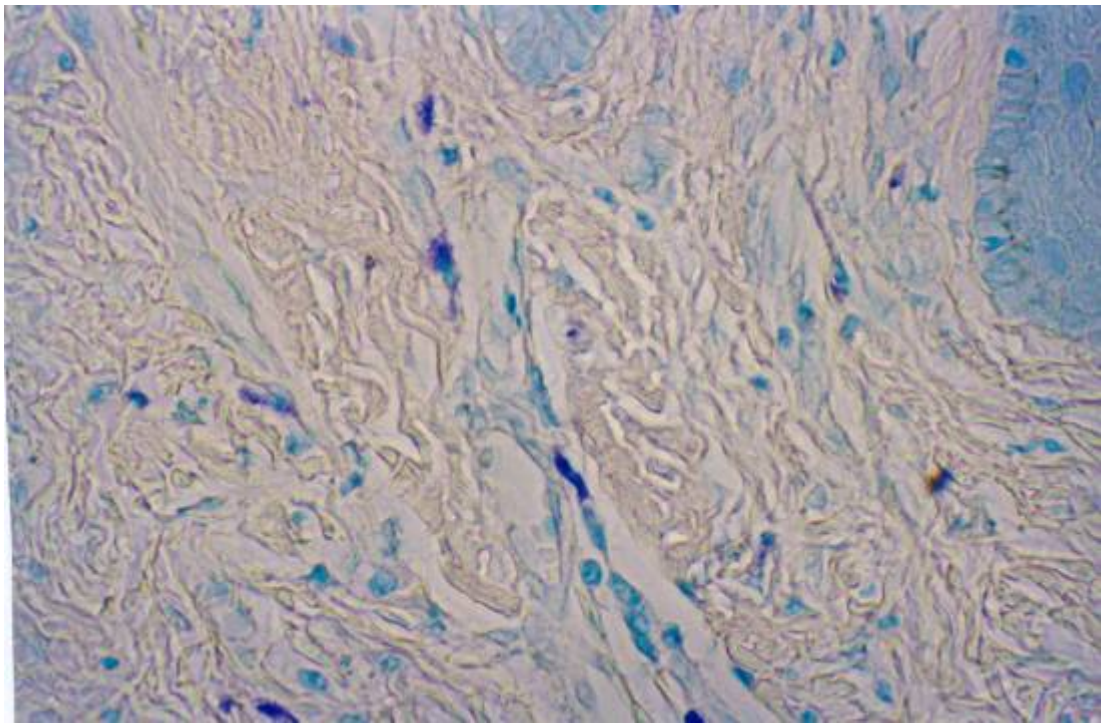

Fig 46 b. Campo histológico da área que recebeu luz infravermelha-AT aumento de 250x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos.

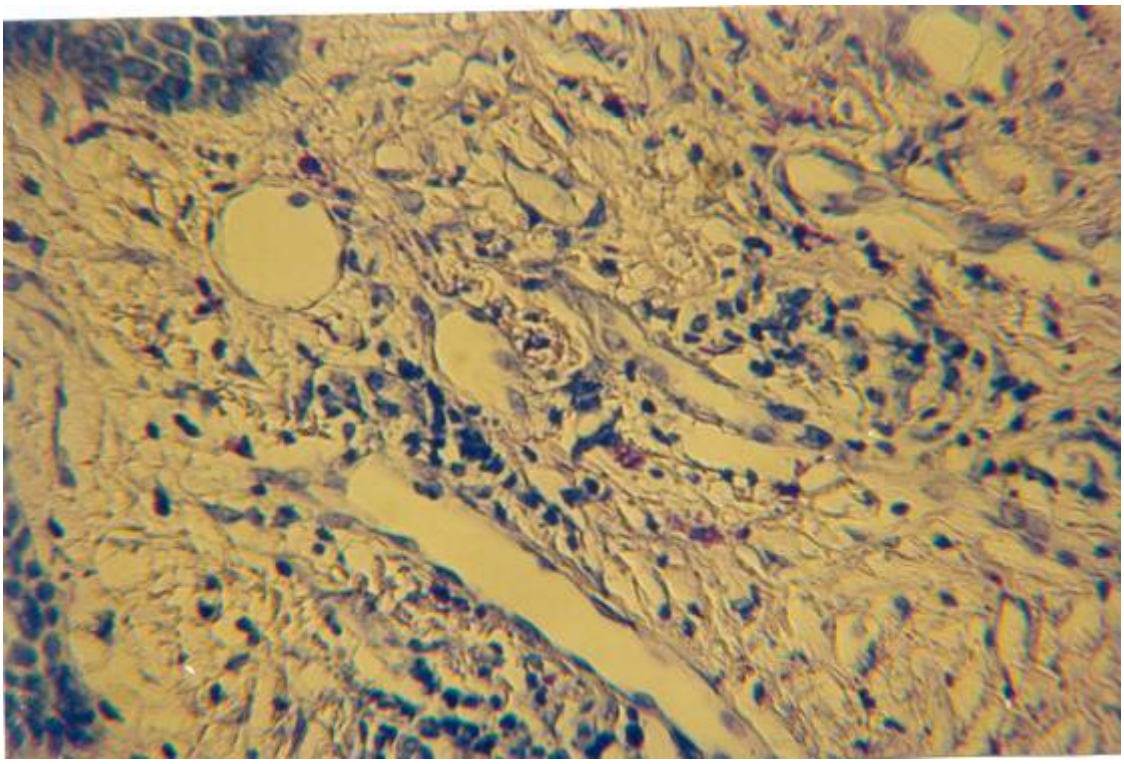

Fig. 47a. Campo histológico da área que recebeu luz vermelha - AT aumento de 250x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos .

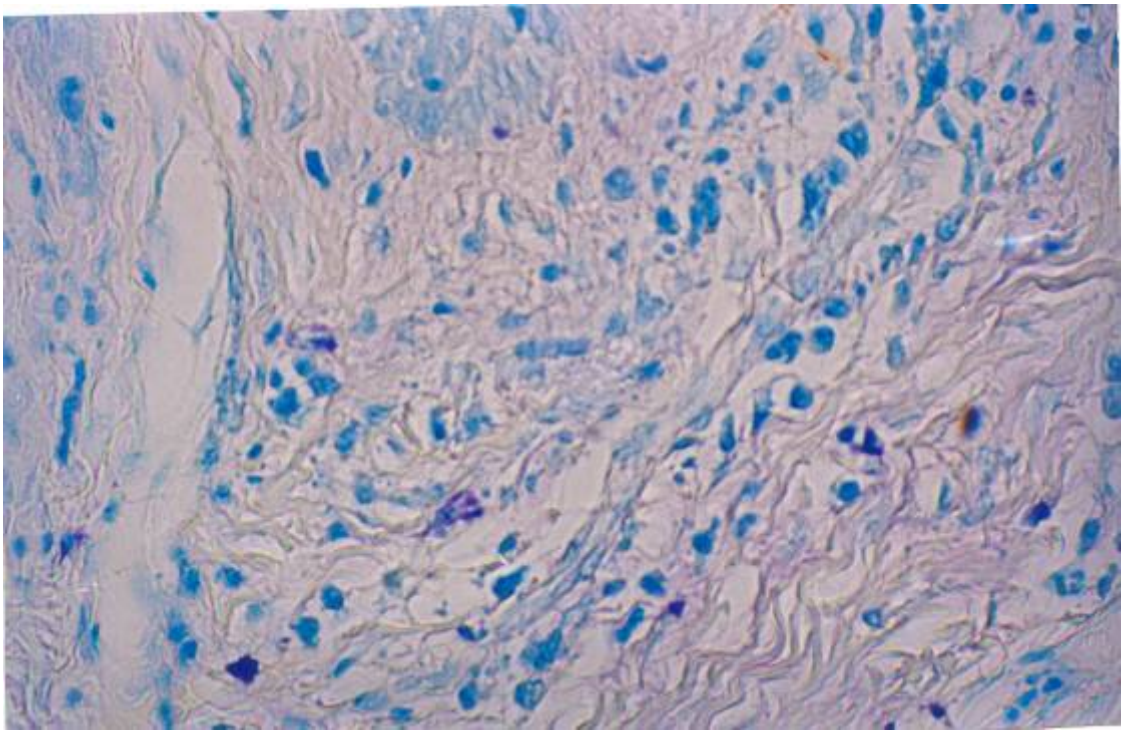

Fig. 47b. Campo histológico da área que recebeu luz vermelha - AT aumento de 400x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos .

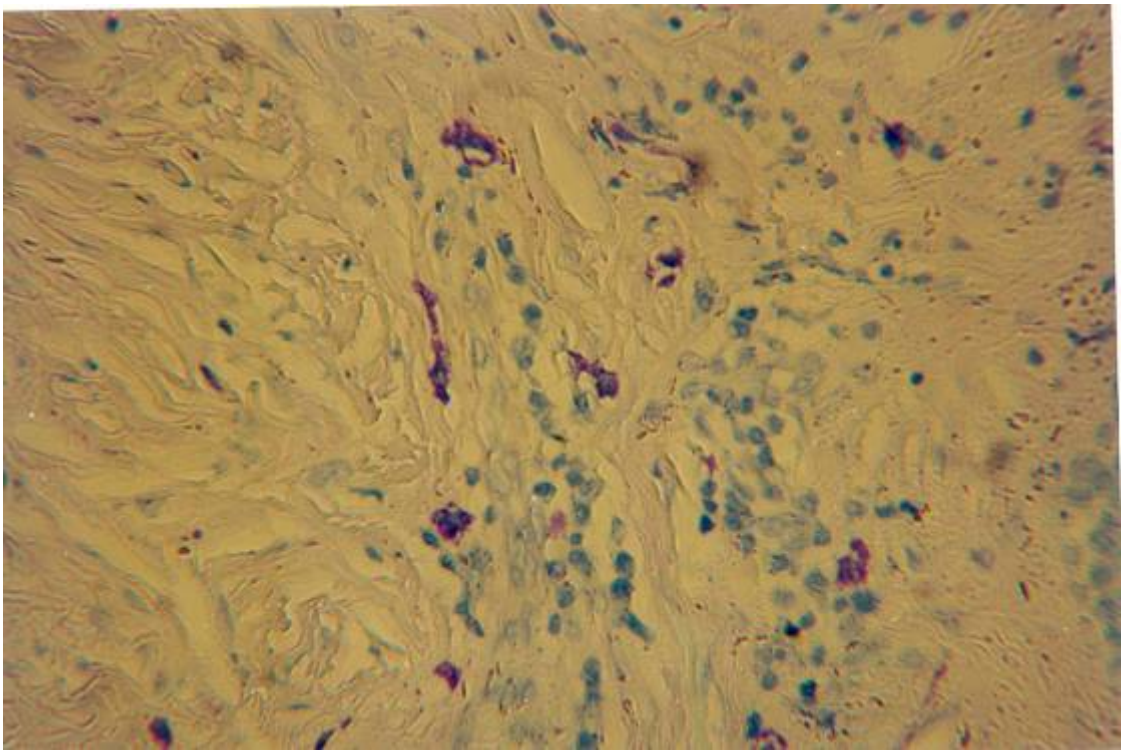

Fig. 48a. Campo histológico da área que recebeu luz vermelha - AT aumento de 250x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos

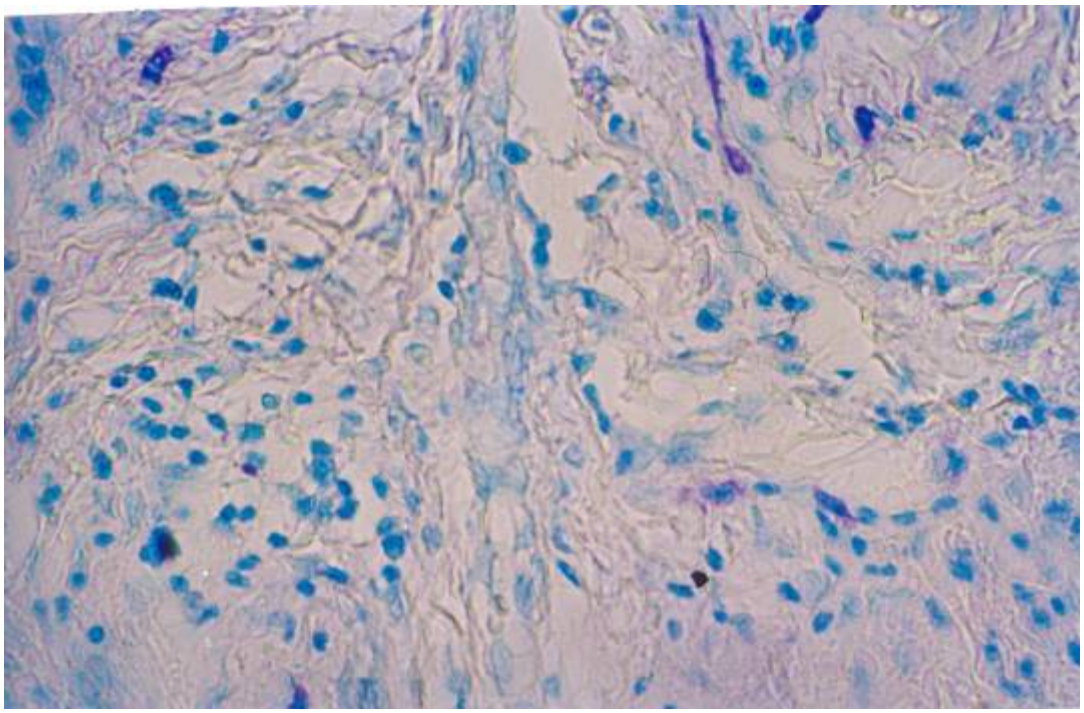

Fig. 48b. Campo histológico da área que recebeu luz vermelha - AT aumento de 400x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos

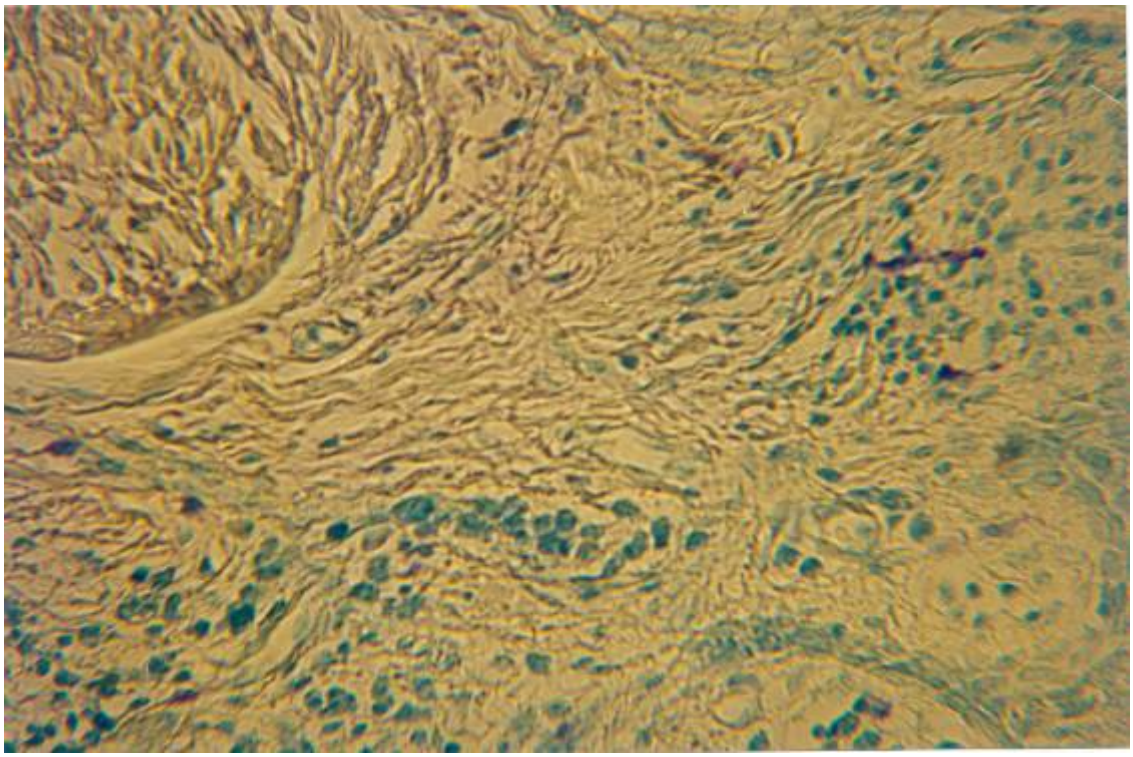

Fig. 49a. Campo histológico da área que recebeu luz vermelha - AT aumento de 250x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos

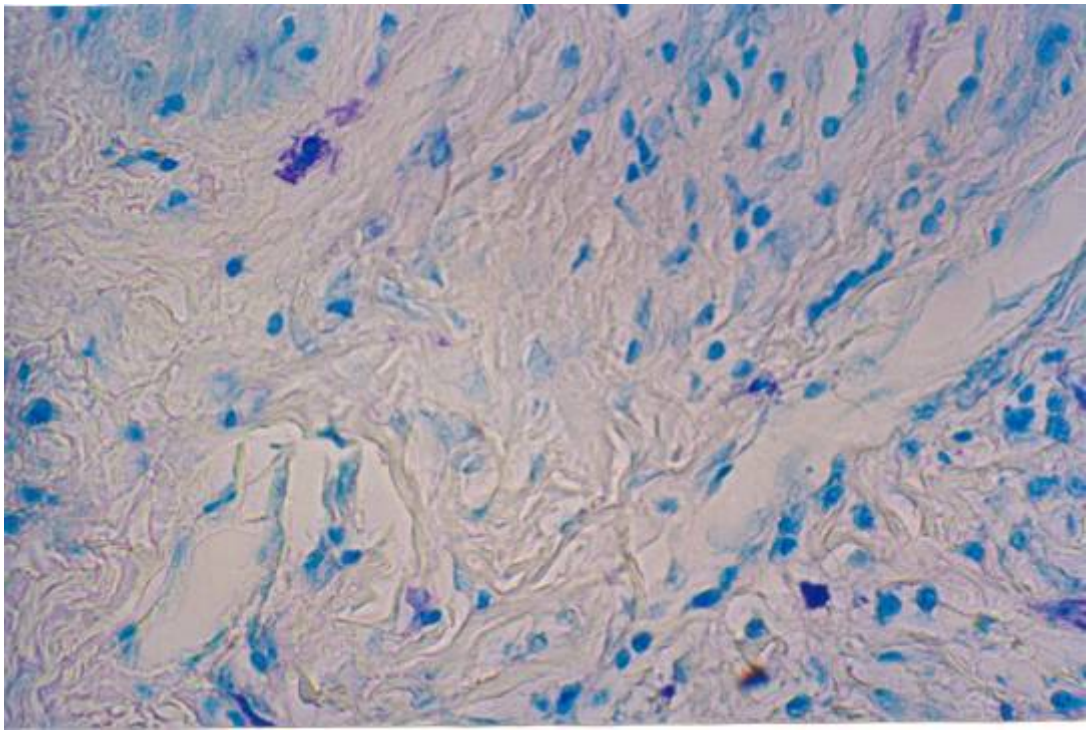

Fig. 49b. Campo histológico da área que recebeu luz vermelha - AT aumento de 400x – tecido conjuntivo gengival com mastócitos

# TABELA 1

Número de mastócitos totais e desgranulados contados em cinco campos microscópicos 10x 40 na região subepitelial da vertente externa da parede não- mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea.

| | | | A (controle) | | | | | B (infravermelho) | | | | | C (vermelho) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **CASO** | **CLIENT. Sexo IDADE** | **MASTÓCITO** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** |
| 01 | JMO | DE | 21 | 10 | 14 | 08 | 12 | 25 | 06 | 15 | 10 | 15 | 19 | 17 | 15 | 17 | 18 |
| | F - 28 | TO | 40 | 24 | 33 | 22 | 16 | 26 | 07 | 19 | 11 | 17 | 29 | 27 | 22 | 23 | 22 |
| 02 | JMO | DE | 22 | 13 | 13 | 11 | 09 | 13 | 07 | 25 | 13 | 08 | 37 | 20 | 23 | 29 | 20 |
| | F – 28 | TO | 44 | 24 | 26 | 32 | 24 | 14 | 09 | 33 | 19 | 10 | 44 | 22 | 28 | 34 | 22 |
| 03 | ROSS | DE | 06 | 09 | 11 | 17 | 08 | 24 | 12 | 21 | 25 | 21 | 17 | 15 | 14 | 15 | 06 |
| | F – 25 | TO | 15 | 21 | 20 | 33 | 24 | 33 | 17 | 25 | 36 | 28 | 21 | 19 | 18 | 20 | 08 |
| 04 | ROSS | DE | 09 | 10 | 08 | 11 | 08 | 07 | 11 | 17 | 11 | 15 | 07 | 05 | 10 | 05 | 09 |
| | F – 25 | TO | 26 | 22 | 24 | 20 | 22 | 11 | 15 | 23 | 13 | 16 | 11 | 08 | 18 | 07 | 14 |
| 05 | ATV | DE | 19 | 12 | 20 | 14 | 25 | 27 | 12 | 18 | 09 | 10 | 35 | 31 | 18 | 19 | 32 |
| | M – 14 | TO | 42 | 39 | 47 | 36 | 56 | 29 | 13 | 20 | 10 | 11 | 38 | 36 | 22 | 22 | 33 |
| 06 | GCF | DE | 19 | 10 | 19 | 20 | 22 | 14 | 11 | 12 | 10 | 14 | 18 | 10 | 14 | 10 | 13 |
| | F – 16 | TO | 35 | 28 | 26 | 29 | 31 | 19 | 15 | 16 | 14 | 20 | 22 | 13 | 18 | 14 | 17 |
| 07 | GCF | DE | 09 | 10 | 14 | 12 | 09 | 35 | 18 | 11 | 15 | 09 | 13 | 08 | 05 | 16 | 15 |
| | F – 16 | TO | 20 | 21 | 22 | 19 | 17 | 40 | 26 | 13 | 20 | 13 | 20 | 10 | 09 | 20 | 23 |
| 08 | MLF | DE | 30 | 26 | 20 | 10 | 12 | 26 | 27 | 24 | 36 | 28 | 22 | 34 | 25 | 32 | 42 |
| | F – 33 | TO | 58 | 44 | 35 | 22 | 23 | 30 | 31 | 26 | 42 | 32 | 23 | 38 | 28 | 35 | 43 |
| 09 | JGM | DE | 13 | 09 | 06 | 05 | 05 | 07 | 15 | 14 | 09 | 10 | 11 | 11 | 09 | 10 | 19 |
| | M – 39 | TO | 20 | 15 | 19 | 12 | 15 | 15 | 19 | 20 | 11 | 13 | 13 | 14 | 11 | 12 | 22 |
| 10 | LRR | DE | 12 | 07 | 13 | 09 | 10 | 39 | 20 | 24 | 14 | 17 | 30 | 18 | 24 | 35 | 21 |
| | F – 36 | TO | 19 | 12 | 29 | 28 | 17 | 40 | 23 | 27 | 18 | 19 | 32 | 22 | 27 | 39 | 23 |
| 11 | NSC | DE | 10 | 08 | 10 | 04 | 08 | 11 | 08 | 09 | 08 | 10 | 16 | 13 | 11 | 12 | 05 |
| | F – 67 | TO | 18 | 17 | 20 | 09 | 22 | 12 | 10 | 11 | 12 | 11 | 19 | 16 | 14 | 18 | 08 |
| 12 | JGM | DE | 05 | 03 | 05 | 07 | 04 | 14 | 12 | 13 | 11 | 16 | 07 | 04 | 11 | 11 | 11 |
| | M – 39 | TO | 14 | 07 | 14 | 25 | 12 | 19 | 20 | 21 | 19 | 20 | 09 | 06 | 14 | 15 | 12 |
| 13 | JGM | DE | 09 | 10 | 08 | 09 | 09 | 14 | 08 | 17 | 12 | 08 | 10 | 18 | 15 | 25 | 09 |
| | M – 39 | TO | 20 | 19 | 16 | 20 | 17 | 18 | 14 | 27 | 16 | 11 | 17 | 24 | 20 | 27 | 15 |
| 14 | SMB | DE | 08 | 07 | 08 | 02 | 03 | 08 | 06 | 04 | 04 | 09 | 09 | 11 | 07 | 10 | 10 |
| | M – 42 | TO | 17 | 12 | 17 | 05 | 06 | 12 | 10 | 08 | 07 | 12 | 13 | 14 | 10 | 11 | 12 |
| 15 | SAB | DE | 23 | 14 | 22 | 11 | 19 | 16 | 13 | 07 | 13 | 08 | 10 | 08 | 14 | 11 | 27 |
| | F – 33 | TO | 35 | 20 | 34 | 16 | 29 | 18 | 17 | 11 | 16 | 12 | 15 | 12 | 17 | 17 | 32 |
| 16 | SAB | DE | 06 | 11 | 13 | 11 | 17 | 11 | 21 | 16 | 11 | 14 | 11 | 11 | 15 | 18 | 09 |
| | F – 33 | TO | 14 | 20 | 17 | 20 | 19 | 13 | 23 | 19 | 13 | 20 | 14 | 12 | 17 | 21 | 13 |
| 17 | EML | DE | 12 | 17 | 13 | 13 | 10 | 09 | 13 | 10 | 24 | 19 | 18 | 18 | 16 | 17 | 18 |
| | F - 41 | TO | 21 | 29 | 24 | 17 | 14 | 12 | 14 | 11 | 26 | 21 | 23 | 25 | 19 | 19 | 20 |
| 18 | SAFS | DE | 22 | 15 | 28 | 18 | 26 | 36 | 19 | 32 | 31 | 29 | 27 | 26 | 13 | 22 | 23 |
| | F – 26 | TO | 35 | 27 | 44 | 35 | 43 | 42 | 22 | 37 | 34 | 33 | 30 | 33 | 18 | 26 | 27 |
| 19 | SAFS | DE | 20 | 23 | 27 | 20 | 16 | 21 | 17 | 14 | 15 | 16 | 24 | 17 | 23 | 19 | 20 |
| | F – 26 | TO | 36 | 38 | 41 | 28 | 29 | 30 | 21 | 18 | 19 | 21 | 28 | 22 | 28 | 25 | 24 |
| 20 | SAFS | DE | 17 | 18 | 16 | 18 | 15 | 10 | 13 | 13 | 16 | 10 | 20 | 11 | 09 | 15 | 12 |
| | F – 26 | TO | 24 | 23 | 21 | 27 | 20 | 15 | 18 | 16 | 21 | 17 | 26 | 15 | 12 | 21 | 17 |

# TABELA 2

Soma do número de mastócitos totais e desgranulados, nos cinco campos observados constando da área onde foram feitas as intervenções cirúrgicas.

| | | | | A(controle) | B(infravermelho) | C(vermelho) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| CASO | CLIENTE Sexo IDADE | ÁREA CIRÚRGICA ELEMENTOS DENTAIS | MASTÓCITO | SOMA DOS 5 CAMPOS | SOMA DOS 5 CAMPOS | SOMA DOS 5 CAMPOS |
| 01 | JMO F - 28 | 22,23,24,25 | DE | 65 | 71 | 86 |
| | | | TO | 135 | 80 | 123 |
| 02 | JMO F – 28 | 15,14,13,12 | DE | 68 | 66 | 129 |
| | | | TO | 150 | 85 | 150 |
| 03 | ROSS F – 25 | 14,13,12,11 | DE | 51 | 103 | 67 |
| | | | TO | 113 | 139 | 86 |
| 04 | ROSS F – 25 | 23,24,25,26 | DE | 46 | 61 | 36 |
| | | | TO | 114 | 78 | 58 |
| 05 | ATV M – 14 | 13,12,11,21,22,23 | DE | 90 | 76 | 135 |
| | | | TO | 220 | 83 | 151 |
| 06 | GCF F – 16 | 21,22,23,24 | DE | 90 | 61 | 65 |
| | | | TO | 149 | 84 | 84 |
| 07 | GCF F – 16 | 14,13,12,11 | DE | 54 | 88 | 57 |
| | | | TO | 99 | 112 | 82 |
| 08 | MLF F – 33 | 43,42,41,31,32,33 | DE | 98 | 141 | 155 |
| | | | TO | 182 | 161 | 167 |
| 09 | JGM M – 39 | 23,24,27 | DE | 38 | 55 | 60 |
| | | | TO | 81 | 78 | 72 |
| 10 | LRR F – 36 | 47,46,45 | DE | 51 | 114 | 128 |
| | | | TO | 105 | 127 | 143 |
| 11 | NSC F – 67 | 31,32,33 | DE | 40 | 46 | 57 |
| | | | TO | 86 | 56 | 75 |
| 12 | JGM M – 39 | 15,14,13 | DE | 24 | 66 | 44 |
| | | | TO | 72 | 99 | 56 |
| 13 | JGM M – 39 | 17,16,15 | DE | 45 | 59 | 77 |
| | | | TO | 92 | 86 | 103 |
| 14 | SMB M – 42 | 47,46,45 | DE | 28 | 31 | 47 |
| | | | TO | 57 | 49 | 60 |
| 15 | SAB F – 33 | 46,45,44 | DE | 89 | 57 | 70 |
| | | | TO | 134 | 74 | 93 |
| 16 | SAB F – 33 | 34,35,36 | DE | 58 | 73 | 64 |
| | | | TO | 90 | 88 | 77 |
| 17 | EML F - 41 | 17,16,15 | DE | 65 | 75 | 87 |
| | | | TO | 105 | 84 | 106 |
| 18 | SAFS F – 26 | 25,26,27 | DE | 109 | 147 | 111 |
| | | | TO | 184 | 168 | 134 |
| 19 | SAFS F – 26 | 16,15,14 | DE | 106 | 83 | 103 |
| | | | TO | 172 | 109 | 127 |
| 20 | SAFS F – 26 | 43,42,41,31,32,33 | DE | 84 | 62 | 67 |
| | | | TO | 115 | 87 | 91 |

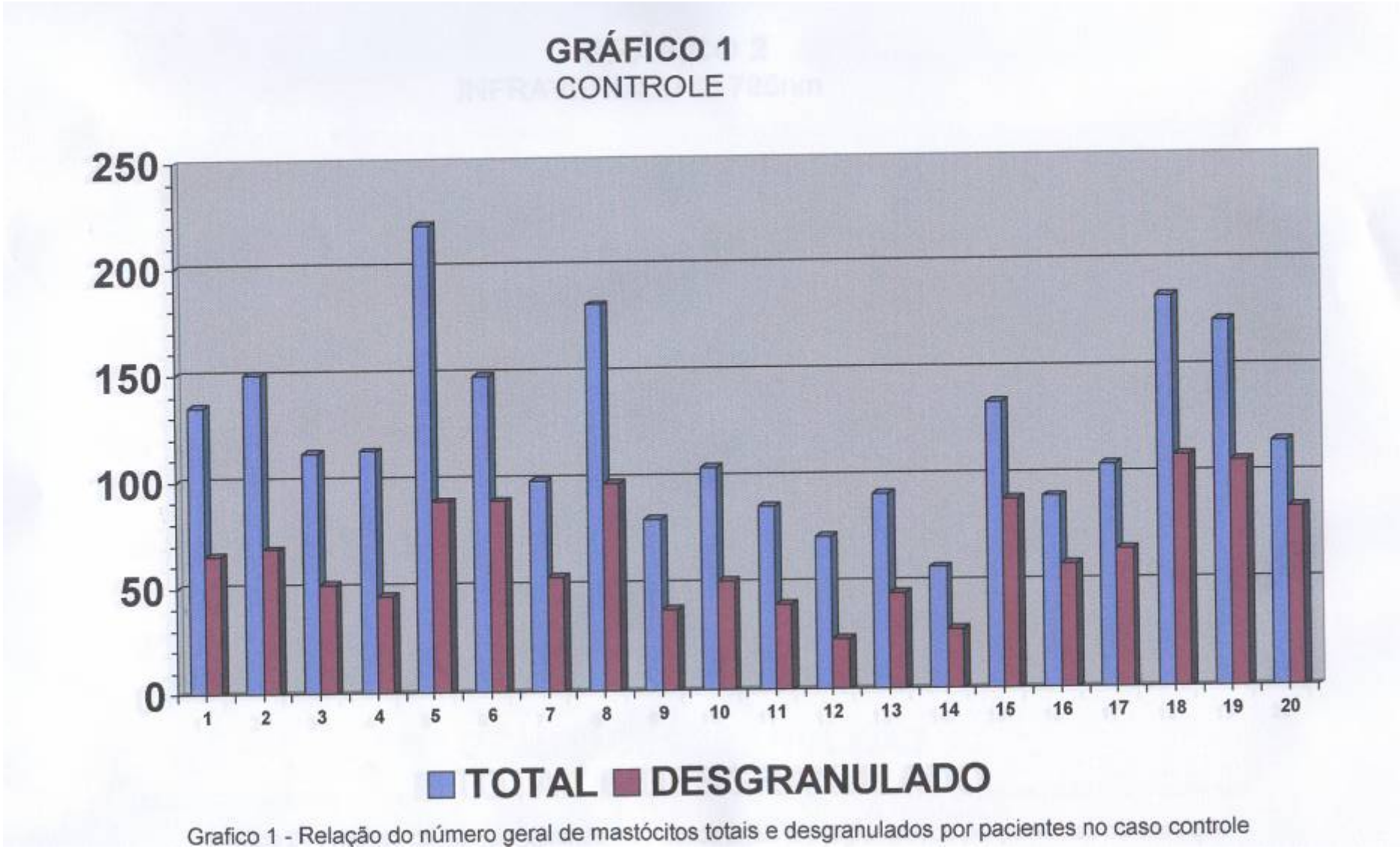


Grafico 1 - Relação do número geral de mastócitos totais e desgranulados por pacientes no caso controle

## GRÁFICO 2

INFRAVERMELHO 785nm

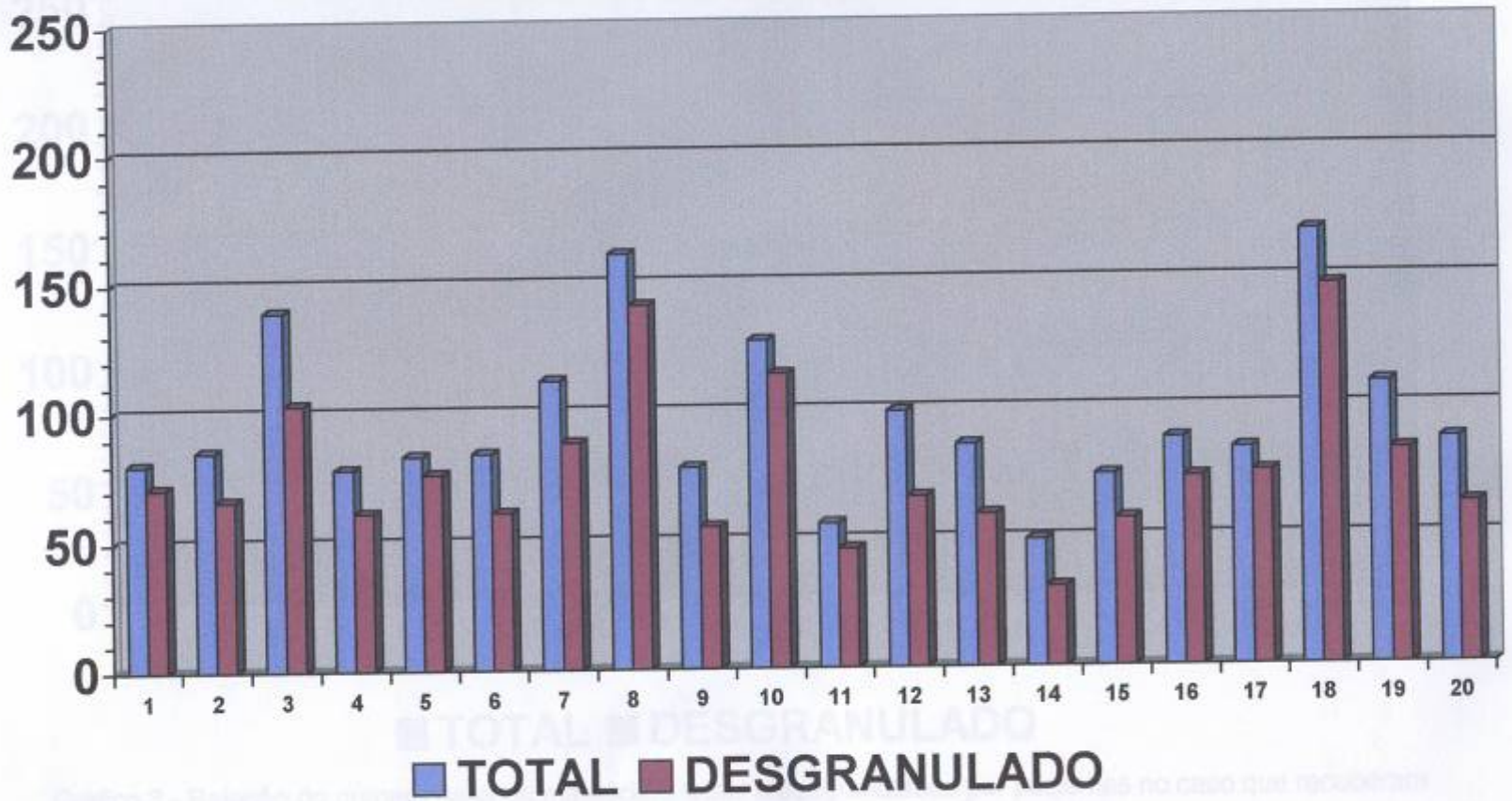


Grafico 2 - Relação do número geral de mastócitos totais e desgranulados por pacientes no caso que receberam irradiação laser emitindo no comprimento de onda infravermelho (λ=785nm)

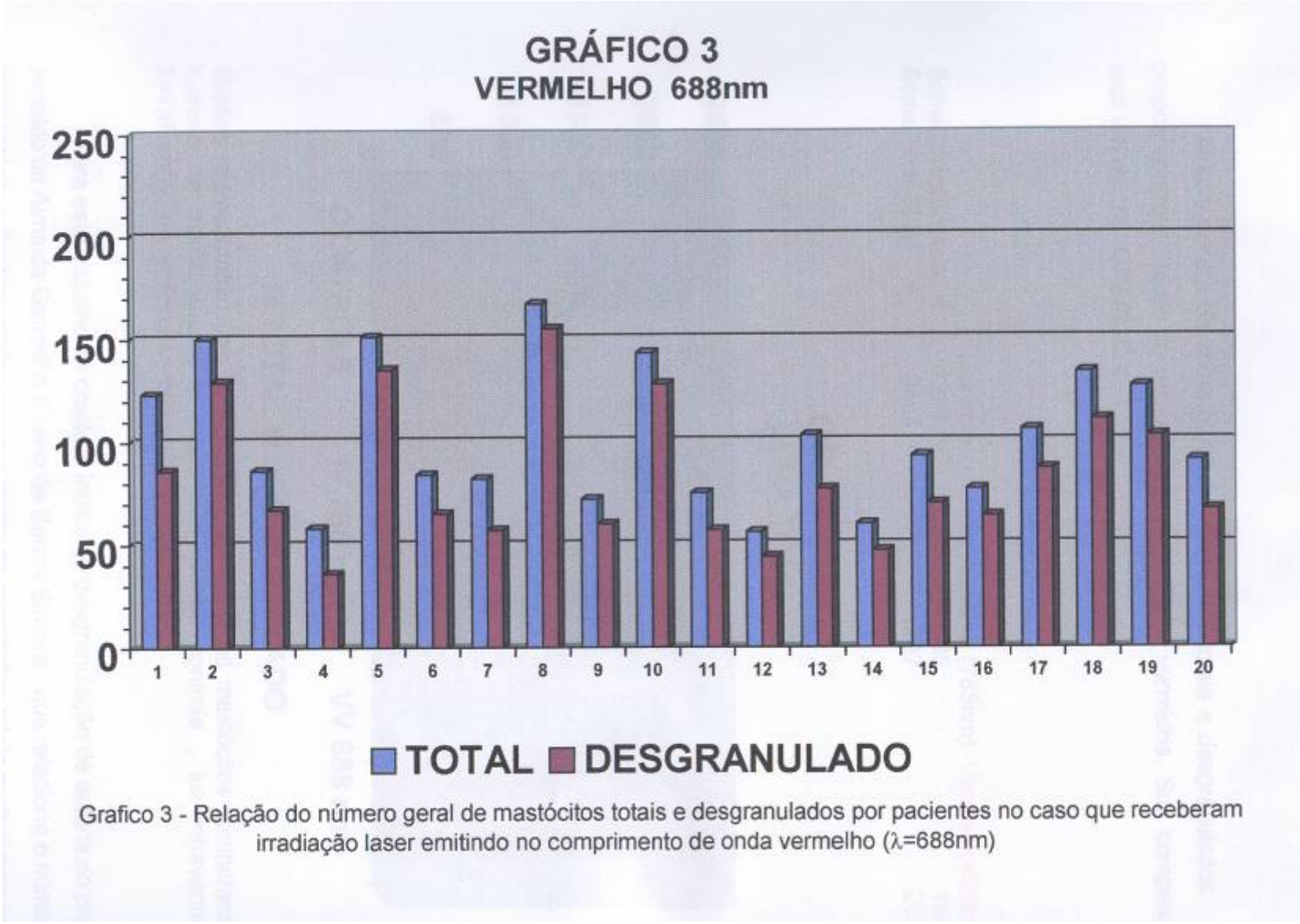


Grafico 3 - Relação do número geral de mastócitos totais e desgranulados por pacientes no caso que receberam irradiação laser emitindo no comprimento de onda vermelho (λ=688nm)

Abaixo consta da soma geral de mastócitos totais e desgranulados nos grupos controle , laser de emissão infravermelha e vermelha. Sua comparação está visível no GRÁFICO 4.

| | Controle | Infravermelho (785nm) | Vermelho(688nm) |
|---|---|---|---|
| Soma Desgranulado = | 1299 | 1535 | 1645 |
| Soma Total Final = | 2455 | 1927 | 2038 |

## GRÁFICO 4

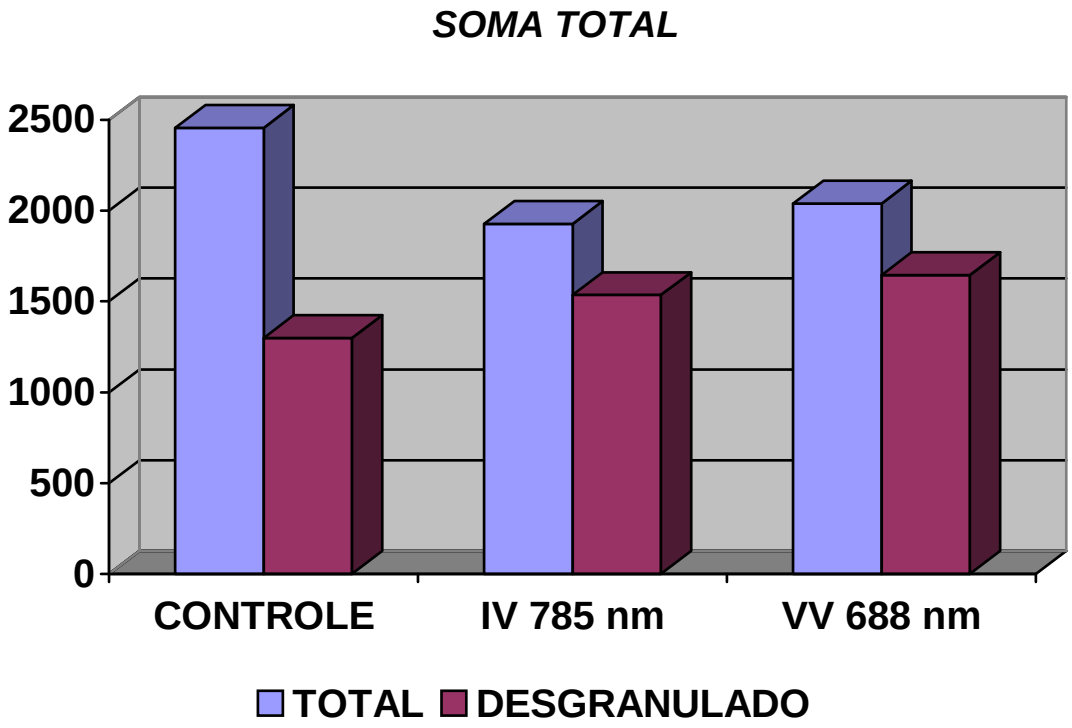


Gráfico representativo das somas gerais de todos os mastócitos comparando o número de desgranulados e totais nos grupos controle , luz infravermelha λ=785nm(IV) e vermelha λ= 688nm(VV).

Para este trabalho foi criado o índice de desgranulação de autoria do prof. Arnaldo de Almeida Garrocho e Lívio de Barros Silveira , que relaciona o número de mastócitos desgranulados sobre número de mastócitos totais multiplicado por 100.

$$IDg = \frac{M\ desgranulado\ X\ 100}{M\ total}$$

IDg = índice de desgranulação

M desgranulado= Mastócitos desgranulados

M total= Número total de mastócitos contados

Aplicado o índice de desgranulação nos dados achados , temos:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Índice de desgranulação = | $\frac{1299\ X\ 100}{2455}$ | $\frac{1535\ X\ 100}{1927}$ | $\frac{1645\ X\ 100}{2038}$ |
| Índice de desgranulação IDg = | **52,91%** | **79,65%** | **80,71%** |

O índice significa que no grupo:

Controle – 52,91% dos mastócitos contados estavam desgranulados

Irradiado com luz Infravermelha – 79,65% dos mastócitos contados estavam desgranulados

Irradiado com luz Vermelha – 80,71% dos mastócitos contados estavam desgranulados

Posteriormente foram obtidas as médias com desvio padrão para mastócitos totais, desgranulados e também para o índice de desgranulação TABELA 3.

# TABELA 3

Representa a média e desvio padrão da soma de mastócitos totais , desgranulados e índice de desgranulação nas áreas controle , luz infravermelha (IV) e luz vermelha (VV).

MASTÓCITOS

| Mastócito | Totais | | | Desgranulados | | | Índice de desgranulação | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | A (cont.) | B (IV) | C (VV) | A (cont.) | B (IV) | C (VV) | A (cont.) | B (IV) | C (VV) |
| Caso | SOMA 5 CAMPOS | SOMA 5 CAMPOS | SOMA 5 CAMPOS | SOMA 5 CAMPOS | SOMA 5 CAMPOS | SOMA 5 CAMPOS | SOMA 5 CAMPOS | SOMA 5 CAMPOS | SOMA 5 CAMPOS |
| 01 | 135 | 80 | 123 | 65 | 71 | 86 | 0,48 | 0,89 | 0,70 |
| 02 | 150 | 85 | 150 | 68 | 66 | 129 | 0,45 | 0,78 | 0,86 |
| 03 | 113 | 139 | 86 | 51 | 103 | 67 | 0,45 | 0,74 | 0,78 |
| 04 | 114 | 78 | 58 | 46 | 61 | 36 | 0,40 | 0,78 | 0,62 |
| 05 | 220 | 83 | 151 | 90 | 76 | 135 | 0,41 | 0,92 | 0,89 |
| 06 | 149 | 84 | 84 | 90 | 61 | 65 | 0,60 | 0,73 | 0,77 |
| 07 | 99 | 112 | 82 | 54 | 88 | 57 | 0,54 | 0,79 | 0,70 |
| 08 | 182 | 161 | 167 | 98 | 141 | 155 | 0,54 | 0,88 | 0,93 |
| 09 | 81 | 78 | 72 | 38 | 55 | 60 | 0,47 | 0,71 | 0,83 |
| 10 | 105 | 127 | 143 | 51 | 114 | 128 | 0,49 | 0,90 | 0,90 |
| 11 | 86 | 56 | 75 | 40 | 46 | 57 | 0,47 | 0,82 | 0,76 |
| 12 | 72 | 99 | 56 | 24 | 66 | 44 | 0,33 | 0,67 | 0,79 |
| 13 | 92 | 86 | 103 | 45 | 59 | 77 | 0,49 | 0,69 | 0,75 |
| 14 | 57 | 49 | 60 | 28 | 31 | 47 | 0,49 | 0,63 | 0,78 |
| 15 | 134 | 74 | 93 | 89 | 57 | 70 | 0,66 | 0,77 | 0,75 |
| 16 | 90 | 88 | 77 | 58 | 73 | 64 | 0,64 | 0,83 | 0,83 |
| 17 | 105 | 84 | 106 | 65 | 75 | 87 | 0,62 | 0,89 | 0,82 |
| 18 | 184 | 168 | 134 | 109 | 147 | 111 | 0,59 | 0,88 | 0,83 |
| 19 | 172 | 109 | 127 | 106 | 83 | 103 | 0,62 | 0,76 | 0,81 |
| 20 | 115 | 87 | 91 | 84 | 62 | 67 | 0,73 | 0,71 | 0,74 |
| ***Média*** | **122,75** | **96,35** | **101,90** | **64,95** | **76,75** | **82,25** | **0,52** | **0,79** | **0,79** |
| **Desv Pad** | **42,89** | **31,35** | **34,00** | **25,78** | **29,48** | **33,67** | **0,10** | **0,08** | **0,07** |
| **Cv** | **0,35** | **0,33** | **0,33** | **0,40** | **0,38** | **0,41** | **0,19** | **0,11** | **0,09** |

As médias por tratamento, obtidas da análise não-paramétrica de KRUSKAL-WALLIS, foram ordenadas e comparadas pelo teste-T de STUDENT.

Para ser significativo , o valor obtido no teste -T de Student deverá ser > ou igual àquele tabelado com 57º de liberdade.(P<0,05).$T_{57GL \cong 2,00}$

**TABELA 4**

Valores do teste T de Student obtidos nas comparações das ordenações das médias dos números de mastócitos totais, desgranulados e o índice de desgranulação entre os grupos controle, luz infravermelha (IV) e luz vermelha (VV) de tecidos gengivais. Estão em negrito os valores que foram significativos do teste T de Student.

| Grupo | Mastócito Total | Mastócito desgranulado | Índice de desgranulação |
|---|---|---|---|
| Controle X Laser IV | **2,28** | 1,24 | **8,17** |
| Controle X Laser VV | 1,75 | 1,54 | **7,99** |
| Laser IV X Laser VV | 0,53 | 0,34 | 0,27 |

# GRÁFICO 5

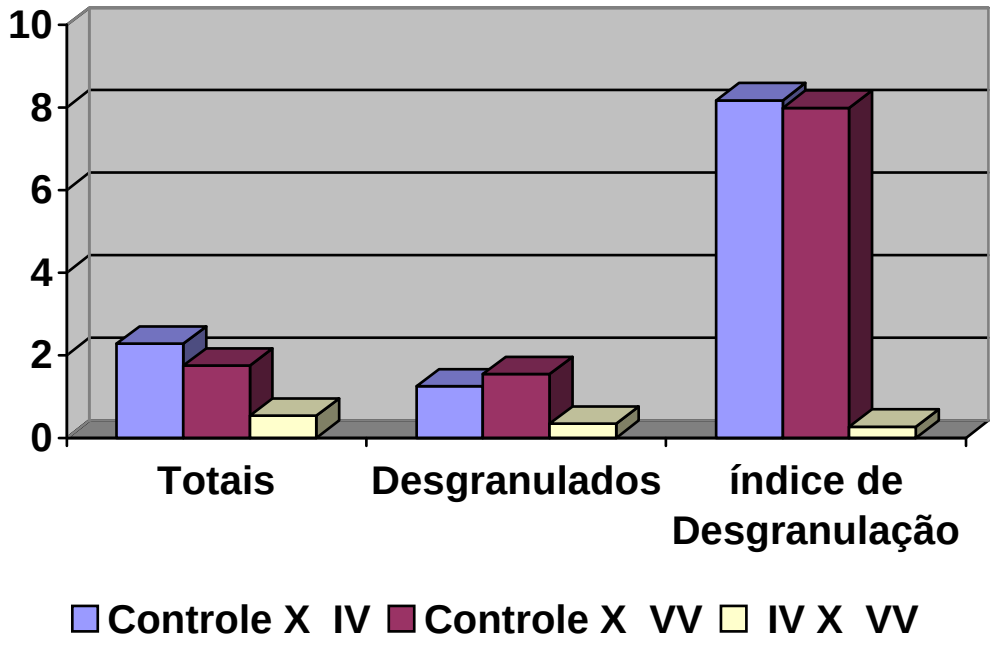


Gráfico ilustrativo da tabela 4 mostrando os valores do teste T de student obtidos nas comparações das ordenações das médias entre os números de mastócitos totais, desgranulados e o índice de desgranulação entre os grupos controle, irradiados com luz infravermelha (IV) e luz vermelha (VV) de tecidos gengivais.

Foram feitas observações de vasos em campos microscópicos com aumento de 400x como mostrados a seguir no grupo controle (Fig 50 a e b), no grupo que foi irradiado com laser de emissão infravermelha (FIG 51 a e b) e no grupo irradiado com laser de emissão vermelha (FIG 52 a e b) e realizadas medidas de largura e comprimento e os resultados foram registrados nas TABELAS 5 e 6 para análise posterior.

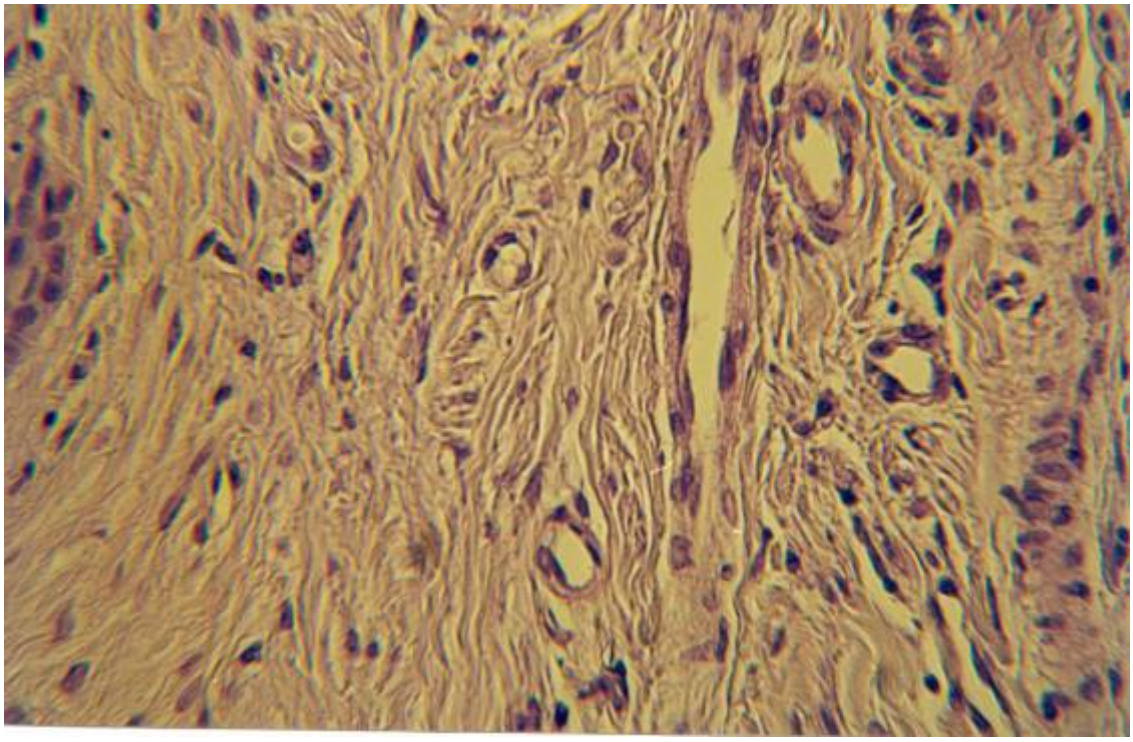

Fig 50 a. Campo Histológico HE de 250x da área controle- detalhe os vasos

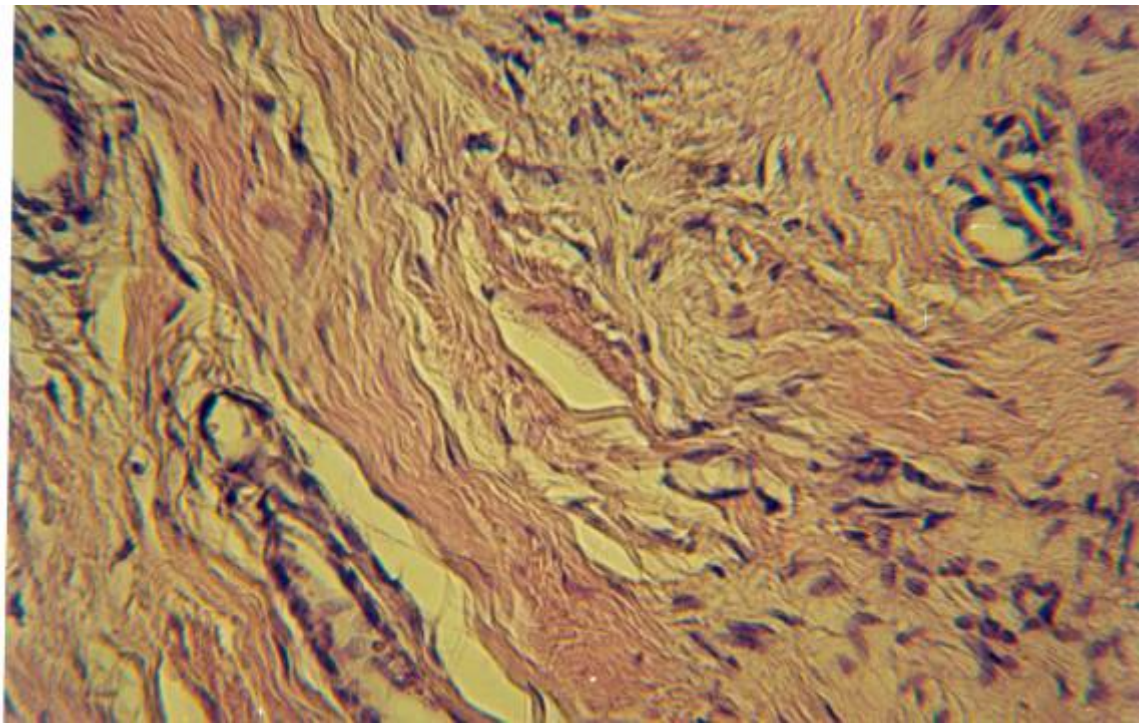

Fig 50b . Campo Histológico HE de 400x da área controle- detalhe os vasos

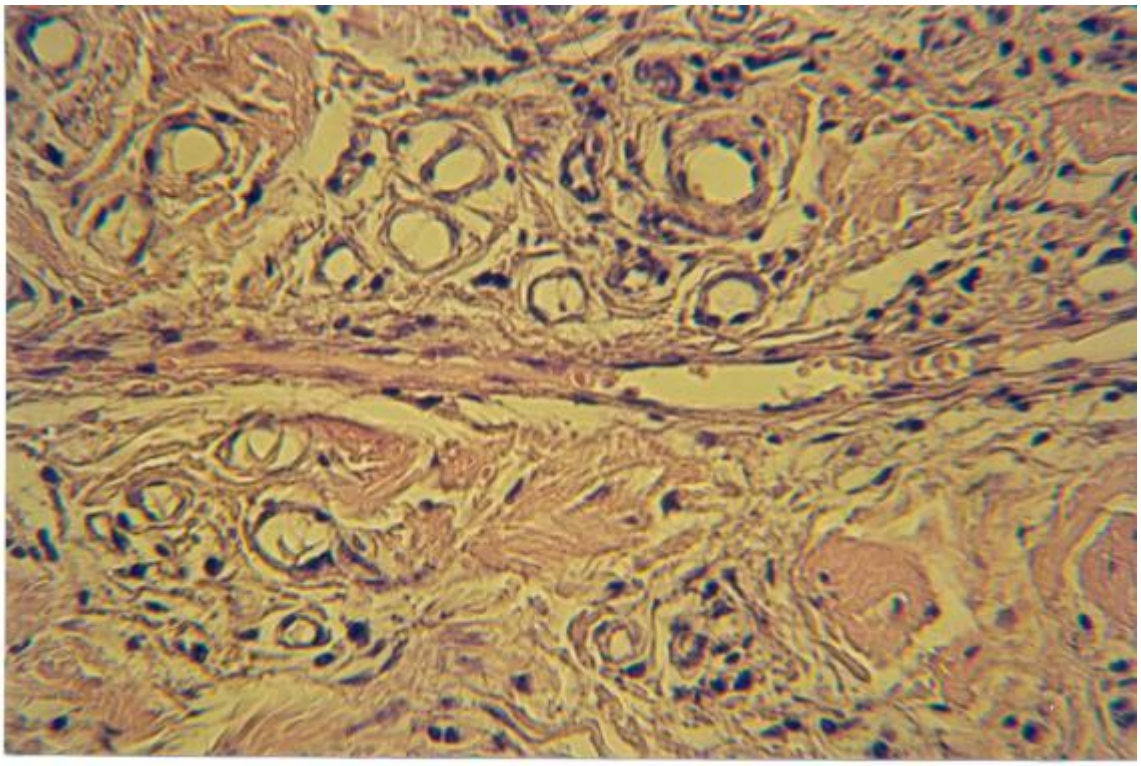

Fig 51a. Campo Histológico HE de 250x da área que recebeu irradiação com luz infravermelha-detalhe os vasos

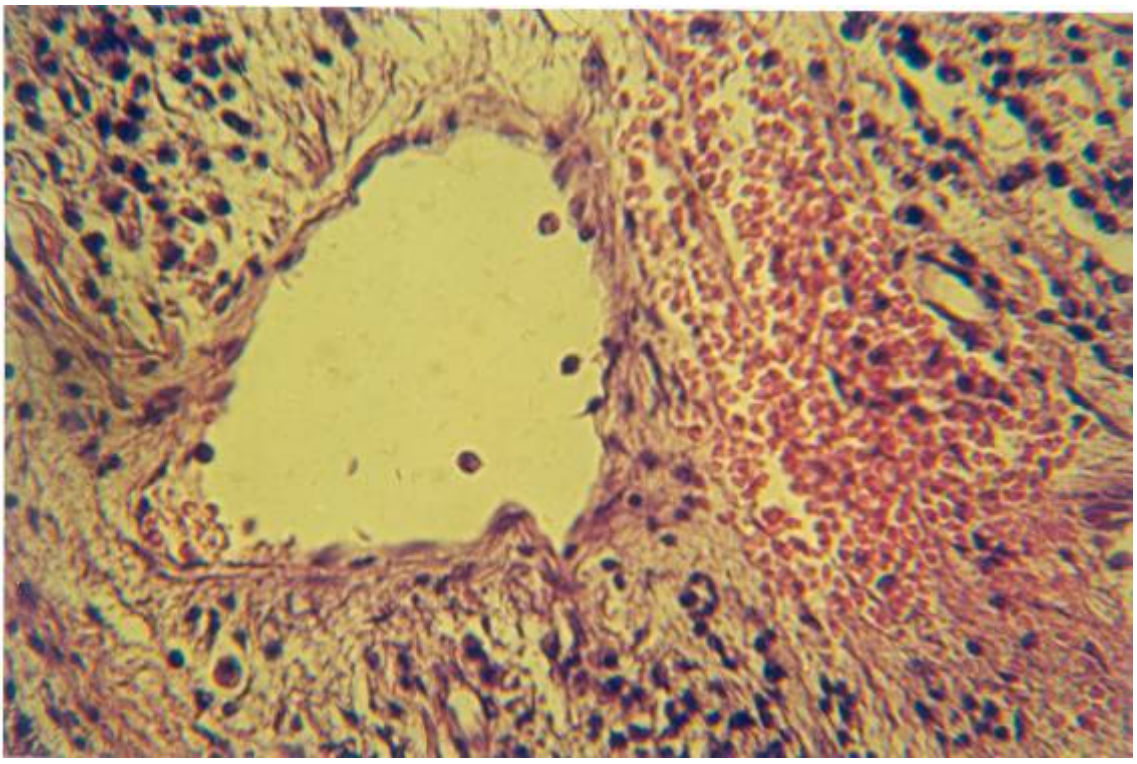

Fig 51b. Campo Histológico HE de 400x da área que recebeu irradiação com luz infravermelha-detalhe os vasos

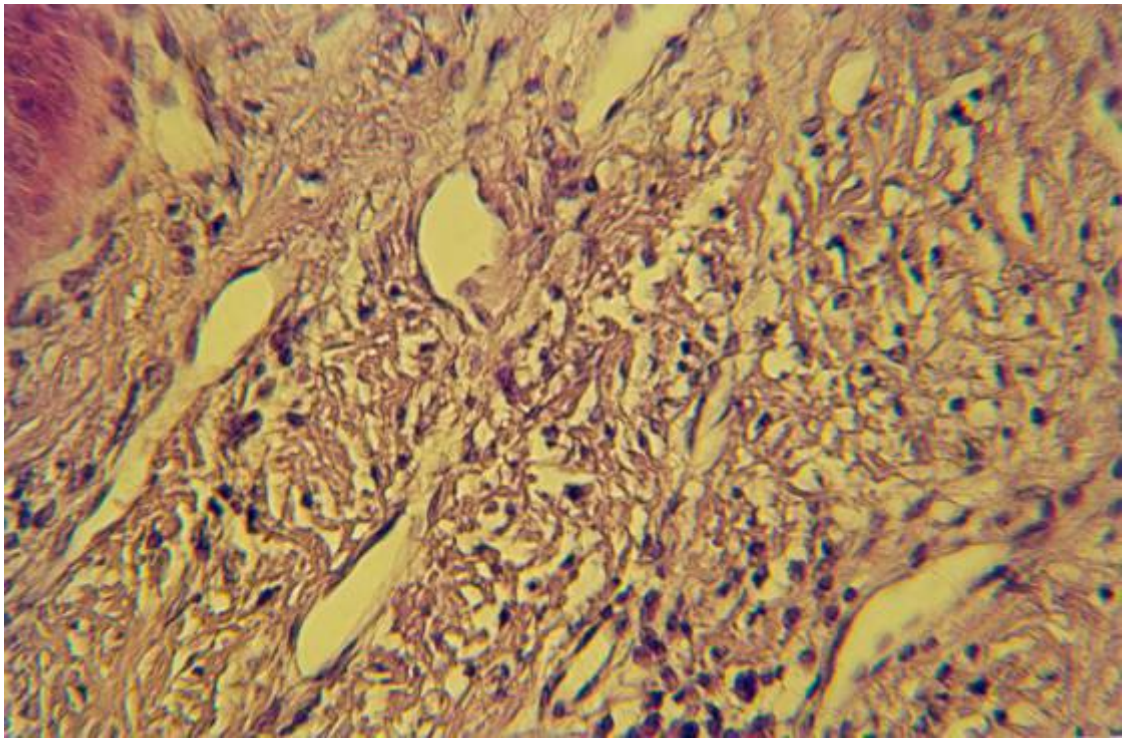

Fig 52a. Campo Histológico HE de 250x da área que recebeu irradiação com luz vermelha- detalhe os vasos

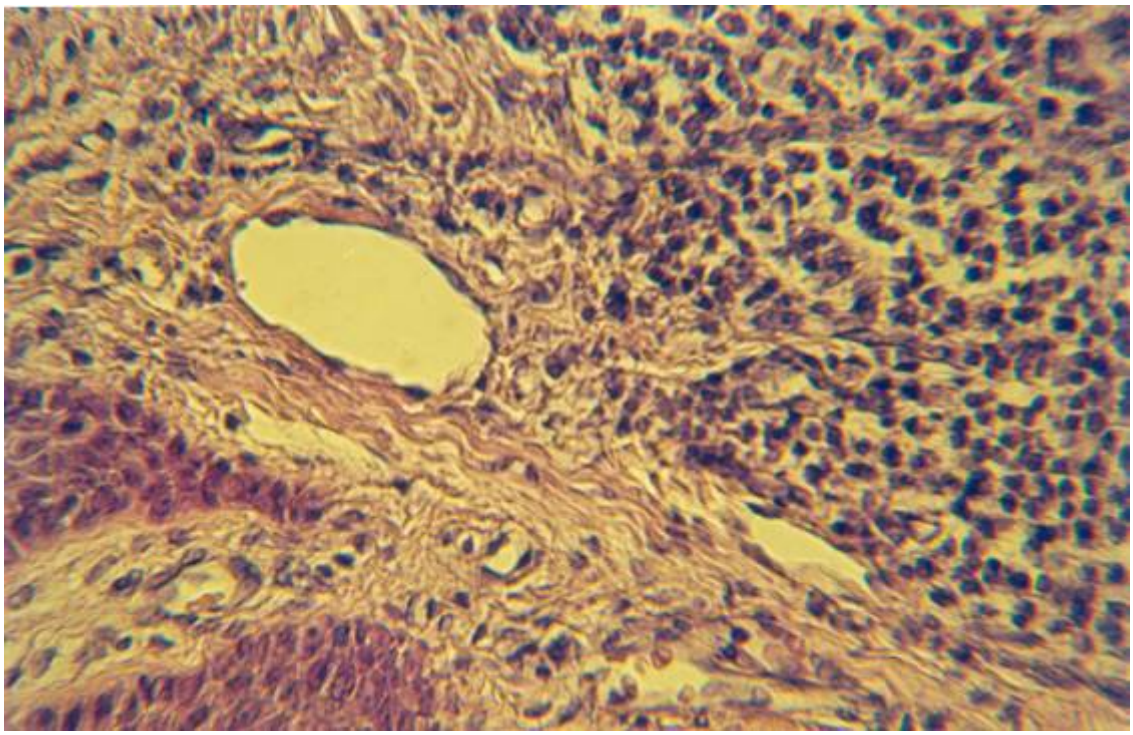

Fig 52b. Campo Histológico HE de 400x da área que recebeu irradiação com luz vermelha- detalhe os vasos

# TABELA 5

Medição em μm de comprimento (CO) e largura (LA) de cinco vasos escolhidos em cinco campos microscópicos no aumento de 400 vezes na região subepitelial da vertente externa da parede não-mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea.

| | | | A (controle) | | | | | B (infravermelho) | | | | | C (vermelho) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CASO | CLIENT. Sexo IDADE | MEDIDA | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 01 | JMO | CO | 12 | 21 | 13 | 20 | 11 | 91 | 86 | 56 | 14 | 57 | 111 | 14 | 69 | 17 | 17 |
| | F – 28 | LA | 19 | 27 | 15 | 12 | 40 | 15 | 12 | 12 | 20 | 12 | 24 | 15 | 19 | 09 | 17 |
| 02 | JMO | CO | 38 | 29 | 11 | 43 | 11 | 58 | 81 | 17 | 19 | 331 | 82 | 41 | 10 | 638 | 182 |
| | F – 28 | LA | 11 | 27 | 16 | 18 | 08 | 14 | 10 | 19 | 09 | 78 | 42 | 12 | 09 | 131 | 33 |
| 03 | ROSS | CO | 350 | 247 | 119 | 21 | 63 | 160 | 38 | 23 | 26 | 21 | 158 | 30 | 22 | 25 | 37 |
| | F – 25 | LA | 44 | 74 | 43 | 25 | 21 | 41 | 19 | 12 | 20 | 17 | 36 | 19 | 14 | 17 | 17 |
| 04 | ROSS | CO | 173 | 84 | 82 | 97 | 216 | 125 | 142 | 58 | 73 | 185 | 696 | 142 | 78 | 63 | 108 |
| | F – 25 | LA | 63 | 39 | 35 | 25 | 17 | 59 | 31 | 24 | 21 | 19 | 44 | 21 | 19 | 37 | 17 |
| 05 | ATV | CO | 140 | 110 | 93 | 36 | 32 | 114 | 178 | 32 | 20 | 47 | 237 | 102 | 33 | 89 | 107 |
| | M – 14 | LA | 48 | 20 | 13 | 08 | 12 | 25 | 39 | 23 | 34 | 27 | 26 | 14 | 20 | 24 | 14 |
| 06 | GCF | CO | 325 | 157 | 219 | 135 | 267 | 226 | 430 | 123 | 137 | 537 | 280 | 182 | 229 | 62 | 251 |
| | F – 16 | LA | 48 | 22 | 34 | 29 | 21 | 76 | 27 | 32 | 47 | 25 | 95 | 27 | 73 | 39 | 52 |
| 07 | GCF | CO | 62 | 48 | 56 | 154 | 48 | 159 | 325 | 288 | 143 | 158 | 103 | 180 | 202 | 227 | 132 |
| | F – 16 | LA | 32 | 36 | 24 | 51 | 37 | 33 | 119 | 30 | 41 | 20 | 33 | 68 | 59 | 93 | 48 |
| 08 | MLF | CO | 123 | 98 | 31 | 61 | 38 | 60 | 160 | 120 | 17 | 38 | 67 | 103 | 55 | 30 | 75 |
| | F – 33 | LA | 14 | 11 | 17 | 08 | 16 | 20 | 65 | 19 | 12 | 14 | 28 | 21 | 09 | 17 | 13 |
| 09 | JGM | CO | 65 | 54 | 131 | 33 | 64 | 282 | 123 | 54 | 112 | 58 | 135 | 85 | 27 | 34 | 41 |
| | M – 39 | LA | 31 | 26 | 123 | 20 | 39 | 80 | 56 | 19 | 78 | 43 | 46 | 56 | 26 | 21 | 32 |
| 10 | LRR | CO | 61 | 35 | 47 | 104 | 41 | 79 | 45 | 37 | 19 | 34 | 77 | 231 | 33 | 24 | 50 |
| | F – 36 | LA | 29 | 15 | 39 | 20 | 32 | 10 | 16 | 10 | 15 | 15 | 10 | 30 | 19 | 11 | 17 |
| 11 | NSC | CO | 74 | 90 | 60 | 45 | 46 | 36 | 27 | 13 | 76 | 100 | 119 | 119 | 75 | 97 | 164 |
| | F – 67 | LA | 27 | 19 | 35 | 10 | 26 | 32 | 18 | 19 | 16 | 21 | 33 | 38 | 34 | 31 | 12 |
| 12 | JGM | CO | 261 | 132 | 50 | 24 | 24 | 158 | 164 | 23 | 109 | 166 | 155 | 205 | 121 | 81 | 231 |
| | M – 39 | LA | 16 | 12 | 60 | 11 | 12 | 31 | 24 | 23 | 42 | 20 | 45 | 68 | 66 | 23 | 23 |
| 13 | JGM | CO | 23 | 11 | 16 | 22 | 12 | 64 | 33 | 34 | 64 | 35 | 78 | 93 | 69 | 79 | 27 |
| | M – 39 | LA | 17 | 14 | 16 | 17 | 11 | 54 | 24 | 19 | 21 | 15 | 43 | 61 | 40 | 60 | 14 |
| 14 | SMB | CO | 60 | 21 | 45 | 139 | 12 | 195 | 116 | 130 | 97 | 71 | 40 | 49 | 138 | 43 | 22 |
| | M – 42 | LA | 39 | 16 | 19 | 33 | 15 | 82 | 45 | 19 | 54 | 20 | 22 | 19 | 38 | 24 | 26 |
| 15 | SAP | CO | 88 | 79 | 51 | 63 | 122 | 316 | 86 | 218 | 339 | 159 | 412 | 66 | 91 | 116 | 124 |
| | F – 33 | LA | 23 | 25 | 43 | 60 | 20 | 184 | 60 | 32 | 80 | 34 | 41 | 23 | 35 | 31 | 27 |
| 16 | SAP | CO | 118 | 162 | 21 | 212 | 119 | 194 | 157 | 197 | 213 | 125 | 116 | 80 | 181 | 120 | 81 |
| | F – 33 | LA | 166 | 104 | 28 | 70 | 49 | 24 | 31 | 29 | 35 | 26 | 26 | 37 | 30 | 18 | 29 |
| 17 | EML | CO | 119 | 171 | 166 | 101 | 182 | 171 | 60 | 103 | 19 | 125 | 128 | 74 | 114 | 42 | 104 |
| | F – 41 | LA | 45 | 74 | 71 | 79 | 41 | 26 | 30 | 44 | 24 | 72 | 33 | 66 | 41 | 29 | 34 |
| 18 | SAFS | CO | 198 | 183 | 116 | 102 | 146 | 122 | 287 | 59 | 116 | 403 | 140 | 86 | 76 | 351 | 122 |
| | F – 26 | LA | 125 | 73 | 41 | 74 | 118 | 71 | 80 | 29 | 62 | 39 | 74 | 46 | 35 | 41 | 28 |
| 19 | SAFS | CO | 180 | 56 | 134 | 127 | 26 | 503 | 87 | 424 | 64 | 73 | 382 | 126 | 197 | 156 | 92 |
| | F – 26 | LA | 58 | 43 | 47 | 22 | 23 | 89 | 63 | 40 | 37 | 37 | 38 | 63 | 40 | 83 | 46 |
| 20 | SAFS | CO | 68 | 48 | 124 | 68 | 64 | 92 | 88 | 159 | 90 | 90 | 140 | 109 | 99 | 190 | 62 |
| | F – 26 | LA | 32 | 13 | 20 | 20 | 28 | 24 | 60 | 46 | 23 | 45 | 34 | 40 | 38 | 27 | 14 |

**TABELA 6**

Soma da medição em μm de comprimento (CO) e largura (LA) de 5 vasos escolhidos em cinco campos microscópicos 10x 40 na região subepitelial da vertente externa da parede não-mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea.

| | | | | A(controle) | B(infravermelho) | C(vermelho) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| CASO | CLIENTE Sexo Idade | ÁREA CIRÚRGICA ELEMENTOS DENTAIS | MEDIDA | SOMA DOS 5 VASOS | SOMA DOS 5 VASOS | SOMA DOS 5 VASOS |
| 01 | JMO F - 28 | 22,23,24,25 | CO | 77 | 304 | 228 |
| | | | LA | 113 | 71 | 84 |
| 02 | JMO F – 28 | 15,14,13,12 | CO | 132 | 506 | 953 |
| | | | LA | 80 | 130 | 227 |
| 03 | ROSS F – 25 | 14,13,12,11 | CO | 800 | 268 | 272 |
| | | | LA | 207 | 109 | 103 |
| 04 | ROSS F – 25 | 23,24,25,26 | CO | 652 | 583 | 1087 |
| | | | LA | 179 | 154 | 138 |
| 05 | ATV M – 14 | 13,12,11,21,22,23 | CO | 411 | 391 | 568 |
| | | | LA | 101 | 148 | 98 |
| 06 | GCF F – 16 | 21,22,23,24 | CO | 1103 | 1453 | 1074 |
| | | | LA | 154 | 207 | 286 |
| 07 | GCF F – 16 | 14,13,12,11 | CO | 368 | 1073 | 844 |
| | | | LA | 180 | 243 | 301 |
| 08 | MLF F – 33 | 43,42,41,31,32,33 | CO | 351 | 395 | 330 |
| | | | LA | 66 | 130 | 88 |
| 09 | JGM M – 39 | 23,24,27 | CO | 347 | 629 | 322 |
| | | | LA | 239 | 276 | 202 |
| 10 | LRR F – 36 | 47,46,45 | CO | 288 | 214 | 415 |
| | | | LA | 135 | 66 | 87 |
| 11 | NSC F – 67 | 31,32,33 | CO | 315 | 252 | 574 |
| | | | LA | 117 | 106 | 148 |
| 12 | JGM M – 39 | 15,14,13 | CO | 491 | 620 | 793 |
| | | | LA | 111 | 140 | 225 |
| 13 | JGM M – 39 | 17,16,15 | CO | 84 | 230 | 346 |
| | | | LA | 75 | 133 | 218 |
| 14 | SMB M – 42 | 47,46,45 | CO | 277 | 609 | 292 |
| | | | LA | 122 | 220 | 129 |
| 15 | SAB F – 33 | 46,45,44 | CO | 403 | 1018 | 809 |
| | | | LA | 171 | 390 | 157 |
| 16 | SAB F – 33 | 34,35,36 | CO | 632 | 886 | 578 |
| | | | LA | 417 | 145 | 140 |
| 17 | EML F – 41 | 17,16,15 | CO | 739 | 478 | 462 |
| | | | LA | 310 | 196 | 203 |
| 18 | SAFS F – 26 | 25,26,27 | CO | 745 | 987 | 775 |
| | | | LA | 431 | 281 | 224 |
| 19 | SAFS F – 26 | 16,15,14 | CO | 523 | 1151 | 953 |
| | | | LA | 193 | 266 | 270 |
| 20 | SAFS F – 26 | 43,42,41,31,32,33 | CO | 372 | 519 | 600 |
| | | | LA | 113 | 198 | 153 |

Como com o número de mastócitos , os valores medidos de largura e comprimento em μm foram trabalhados e as médias por tratamento, obtidas da análise não paramétrica de KRUSKAL-WALLIS foram ordenadas e comparadas pelo teste T de STUDENT. TABELA 7 e ilustrada no GRÁFICO 6.

Já sabemos que para ser significativo, o valor obtido no teste T de Student deverá ser > ou igual àquele tabelado com 57º de liberdade. (P<0,05) .$T_{57GL \cong 2,00}$

**TABELA 7**

Valores do teste T de Student obtidos nas comparações das ordenações das médias das medidas de largura e comprimento dos vasos entre os grupos controle, luz infravermelha (IV) e luz vermelha (VV) de tecidos gengivais.

| Grupo | Comprimento | Largura |
|---|---|---|
| Controle X Laser IV | 1,42 | 0,60 |
| Controle X Laser VV | 1,36 | O,87 |
| Laser IV X Laser VV | 0,05 | 0,27 |

Os resultados não foram significativos.

# GRÁFICO 6

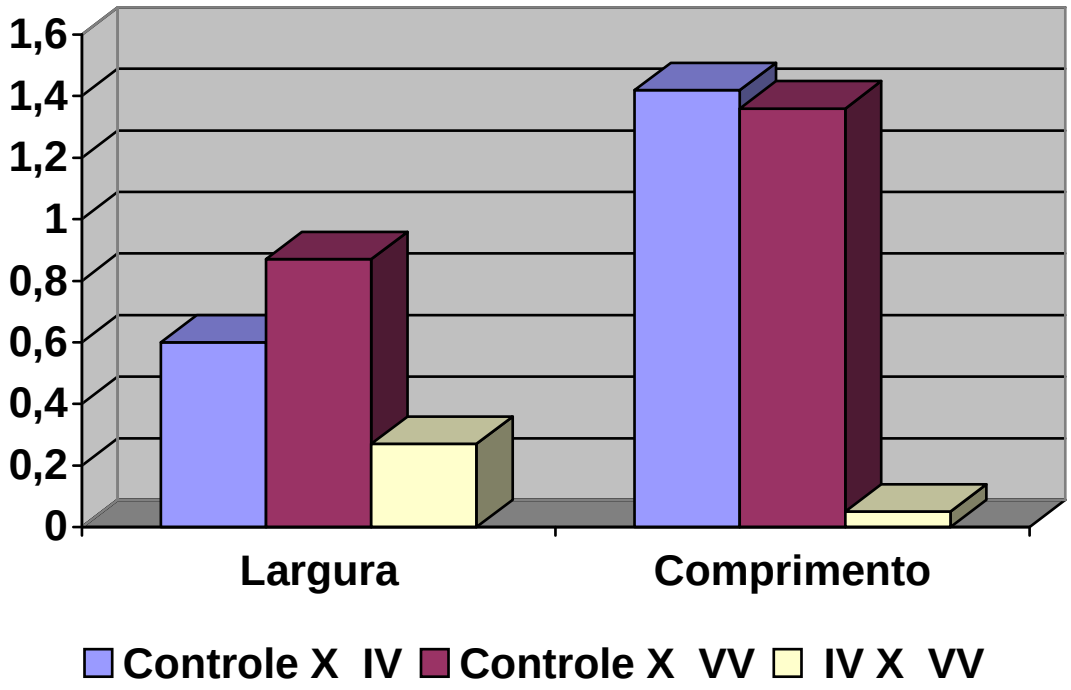


Gráfico ilustrativo da tabela 7 mostrando os valores do teste T de Student obtidos nas comparações das ordenações das médias das medidas de comprimento e largura entre os grupos controle, luz infravermelha (IV) e luz vermelha (VV) de tecidos gengivais

Apesar da análise estatística indicar que a diferença não foi significativa podemos perceber que a soma de medição de comprimento e largura de vasos quando comparadas foram sempre maiores nas áreas que receberam a irradiação laser do que nas áreas controle.

# 5 Discussão

Nos campos histológicos foram observadas estruturas anteriormente citadas como aspectos da vertente externa, com presença da camada papilar com projeções do tecido conjuntivo para dentro do epitélio confirmando as descrições de ITOIZ & CARRANZA, (1997) . Esse epitélio apresentou-se mais espesso e com presença de queratina, situação que normalmente não acontece no epitélio da vertente interna, a não ser quando se apresenta alterada deixando de ser epitélio sulcular para ser definido como epitélio da bolsa periodontal.

O conjuntivo próximo à parte mais apical do epitélio sulcular ou da bolsa periodontal sempre apresentou uma reação inflamatória mais intensa, com acúmulo de células do sistema imunológico, como também uma redução do número de mastócitos em relação a vertente externa, como definiu SILVEIRA (1985), motivo este que optamos pela análise da vertente externa .

Encontramos nos epitélios das vertentes internas situações de alterações patológicas do tipo: exulceração, ulceração, degeneração e alterações morfológicas principalmente acantose e presença de queratina em alguns casos como identificado por GARROCHO E LOPES (1990).

O tipo de mastócito analisado neste trabalho de acordo com as classificações de ROITT et al (1989) e MOTTA (1995) é o mastócito de tecido conjuntivo que possui como principal proteoglicano a heparina responsável pela metacromaticidade desta célula quando corada com a coloração de azul de toluidina, ROITT et al (1989) e CALICH et al (1988). Outra característica deste tipo de mastócito é possuir uma quantidade consideravelmente maior de histamina (15pg/célula) quando comparado ao outro tipo denominado mastócito de mucosa, MOTTA (1995).

A opção de analisar a variação do número de mastócitos na vertente externa foi justamente pelo motivo desta área sofrer menos influência de agentes

agressores externos, até pelo fato das características morfológicas de seu epitélio que favorecem maior proteção e também possuir maior número de mastócitos presentes quando comparadas com a vertente interna , diferenças ésta observadas no trabalho de SILVEIRA (1985). A região escolhida para análise foi á região subepitelial da vertente externa pois através de achados de ONICESCU et al (1970) que verificaram que a gengiva normal apresenta um número apreciável de mastócitos agrupados nas proximidades dos vasos e debaixo do epitélio, julgamos ser uma área melhor para ser analisada.

Sobre as aplicações, fizemos a opção de aplicar primeiro o laser de emissão infravermelha por possuir a propriedade de maior penetração em termos de profundidade e menos espalhamento lateral, reduzindo desta forma o risco de influenciar a área vizinha, enquanto o laser de emissão vermelha possui, até pela propriedade de reflexão pela hemoglobina maior espalhamento superficial tomando o cuidado de sempre manter entre os pontos de aplicação a distância de 1 cm.

HERRERO(1986), relatou que em aplicação pontual não se deve ultrapassar 15 j/cm2 o que serve de referência para um limite de fluência para aplicações pontuais. A fluência de 8J/cm$^2$ utilizadas no presente trabalho foram baseadas nos trabalhos de EL-SAYED-SO & DYSON-M (1990) realizando estudo utilizando lasers emitindo em seis diferentes comprimentos de onda utilizou fluência de 10,8J/cm$^2$ ; SILVEIRA E LOPES (1991) comprovaram a participação do efeito da radiação laser no processo de desgranulação dos mastócitos utilizando uma fluência de 9 J/cm2 ;TRELLES e MAYAYO (1992) afirmam que um dos efeitos biológicos derivados da aplicação laser de baixa intensidade nos tecidos é a vasodilatação e realizaram estudos utilizando laser HeNe com potências de 4mW e 50 mW com doses de 2,4 J/cm$^2$ e obtiveram resultados relacionando quantidade de histamina e variação de potências;EL-SAYED-SO & DYSON-M (1996) concluíram ainda que a freqüência influencia na desgranulação dos mastócitos. Vale a pena lembrar que no nosso trabalho não variamos as potências e nem as Freqüências.

No presente trabalho o número de mastócitos totais encontrados nos campos contados na região controle foi maior do que nas regiões que sofreram aplicações de luz infravermelha λ=785nm e vermelha λ=688nm com potência de 50 mW e fluência de 8 J/cm $^2$ como também o número de mastócitos desgranulados foi maior nas duas regiões que foram submetidas a irradiações, do que na área controle. Estas diferenças podem ser observadas no GRÁFICO 4, resultados estes confirmando as afirmações de TRELLES et al (1988) ,SILVEIRA E LOPES (1991) ,TRELLES e MAYAYO (1992) ,EL-SAYED-SO & DYSON-M (1990,1996).

Dos mastócitos presentes, a proporção de desgranulação analisada através de índice de desgranulação desenvolvido por Garrocho e Silveira (2000), foi estatisticamente e significativamente maior nas regiões que sofreram aplicações de luz infravermelha λ=785nm e vermelha λ=688nm, com potência de 50 mW e fluência de 8 J/cm$^2$ onde se observa maior número de mastócitos desgranulados confirmando os achados de SILVEIRA e LOPES (1991) .

Não houve diferença significativa da ação do laser de diferentes comprimentos de onda (λ=785nm e λ=688nm) com potência de 50 mW e fluência de 8J/cm$^2$, sobre a desgranulação de mastócitos, pois os dois tipos se aproximaram bastante do índice de desgranulação .

O índice de desgranulação mostrou-se mais eficiente na demonstração de resultados para processo de desgranulação de mastócitos por se tratar de uma comparação de proporcionalidade em um mesmo campo, pois nas áreas selecionadas além de se observar uma variação no número de mastócitos desgranulados, percebe-se também mudança no número de mastócitos totais.

No presente trabalho, ainda baseado nos achados de UVNAS (1964), ROBBINS e COTRAN (1983), TERNER (1967), KELLER & SCHAUWECKER (1972), BARNETT (1973) e SCHWARTZ e DIBBLEE (1975) que consideram os mastócitos como possuidores de enzimas vasoativas a exemplo podemos citar a histamina e que trabalhos como os de SILVEIRA E LOPES (1991) ,TRELLES e

MAYAYO (1992) ,EL-SAYED-SO & DYSON-M em (1996) confirmaram a participação do laser na desgranulação dos mastócitos, optamos para também analisar a possível modificação no tamanho dos vasos.

A somatória das medidas de comprimento e largura de vasos, apesar de maior nas áreas irradiadas quando comparada com a área controle, não foi estatisticamente significante como também não foi estatisticamente significante quando comparamos as duas áreas irradiadas entre se. Apenas gostaríamos de lembrar que o fragmento foi removido logo após a irradiação, o que pode ter limitado a ação da histamina sobre estes vasos uma vez que sabemos que o mastócito quando desgranula libera grandes quantidades de histamina que é uma enzima vasodilatadora, TERNER (1967); ZACHRISSON(1969); ONICESCU (1970); ROBBINS E CONTRAN (1983); FANTONE e WARD (1988). Nas comparações das médias entre os grupos, a diferença sempre foi maior quando se comparou controle e laser , e esta diferença diminuiu bastante quando comparou grupos de laser somente (TAB 7).

Ainda hoje, muitos efeitos da terapia laser de baixa intensidade tem e devem ser investigados, principalmente com relação à procura de dosimetrias ideais de aplicação como também, outras variáveis como potências e frequências diferentes.

# 6 Conclusões

Dentro das condições e parâmetros estudados, concluímos que :

1) Os lasers de diferentes comprimentos de onda, promovem a desgranulação de mastócitos em tecido gengival, pois a proporção de desgranulação foi estatisticamente maior nas regiões que sofreram aplicações do laser de emissão infravermelha ($\lambda$=785nm) e vermelha ($\lambda$=688nm) com potência de 50 mW e fluência de 8J/cm$^2$ nas condições do presente estudo;

2) Não houve diferença significativa da ação do laser entre os diferentes comprimentos de onda, $\lambda$=785nm e $\lambda$=688nm, com potência de 50 mW e fluência de 8 J/cm $^2$ sobre a desgranulação de mastócitos, pois os dois comprimentos de onda resultaram num índice de desgranulação similar ;

3) As somatórias das medidas de comprimento e largura do tamanho dos vasos nos fragmentos analisados não apresentaram diferença estatisticamente significante;

# 7 Anexo **1**

O desenho esquemático das divisões de fragmentos controle, laser emitindo em λ=785nm e emitindo em λ=688nm conforme metodologia e o termo do consentimento informado estão representados nas FIG 53 e 54 respectivamente.

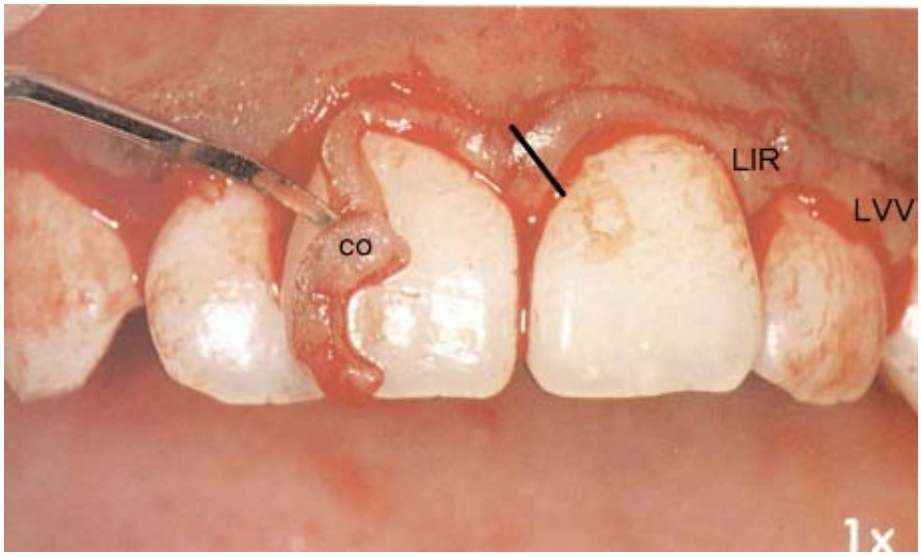


Fig 53. Esquema da divisão de fragmentos,KINOSHITA´S 1985

Ficha Pessoal

Nome:_____

Sexo:_____Idade:___

Área Selecionada: 18 17 16 15 14 13 12 11 21 22 23 24 25 26 27 28

48 47 46 45 44 43 42 41 31 32 33 34 35 36 37 38

V P

Consentimento Informado:

Após as devidas informações fornecidas pelo profissional sobre o tipo de cirurgia para correção de anatomia e restabelecimento de parte funcional, e ser consultado a respeito do possível aproveitamento para investigação científica do tecido eliminado da área gengival que seria dispensado após a cirurgia eu,_____ autorizo que os tecidos gengivais que foram removidos cirurgicamente através de gengivoplastia e gengivectomia com finalidade terapêutica de meus problemas gengivais sejam aproveitados para estudo e posteriormente avaliação histológica uma vez que estes seriam dispensados.

Fig 54 Exemplo da ficha preenchida e assinada pelos pacientes com termo de autorização para utilização dos fragmentos de gengiva.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 ABERGEL, R.P.,GLASSBERG, E. & UITTO,J. Increased wound-healing rate in Pig skin treated by Helium-Neon Laser. **Laser interaction with tissue**. Michael W.Berns , Editor.Session1.Los Angeles, CA. Proc.SPIE 908 p.6-10, 11-13 ,Jan,1988.

2 ABERGEL,R.P.;LAM,T.S.;LASK,G.;DWYER,R.M.;CASTEL,J.C.;UITTO,J. Efectos biológicos del laser**. Invest Cli Laser**, v.1, p. 7-14,1986.

3 ACANFORA,M.A.,GRASCHINSKY,C.,OSTOICH,C.,SCARANO,J**. Laserterapia en ortopedia y traumatologia**.In: Congresso Argentino de ortopedia e traumatología, 23 ,1986, Buenos Aires. Temas livres seleccionados... Buenos Aires: asociación Argentina de ortopedia y traumatologia , 1986.8p.

4 ACANFORA,M.A.,GRASCHINSKY,C.,OSTOICH,C.,SCARANO,J**.** Laser clinico en ortopedia y traumatologia. **Rev. Laser en Med y Odont**. v.1,n.1,p.2-6, set/dic.1988

5 ALMEIDA-LOPES,L..**Análise in vitro da proliferação celular de fibroblastos de gengiva humana tratados com laser de baixa potência**.(Dissertação para obtenção para o titulo de mestre em ciências) São José dos Campos SP Brasil 1999.116p

6 ALMEIDA-LOPES,L e PINHEIRO,AL Aplicações clínicas do laser não cirúrgico In: BRUGNERA A.AJR.; PINHEIRO,AL**.Lasers Na Odontologia Moderna** , São Paulo: Pancast,1998 356p.

7 BARNETT,M.T. The fine structure of human epithelial mast cells in periodontal disease**. J.Periodont.Res**. 8:371-80, 1973.

8 BOULNOIS,J.L.Física do laser. In MAILLET,H. **O laser: princípios e técnicas de aplicação**.São Paulo. Manole, 1987, 538 p.

9 BEAVEN,M .A. Histamine – parte I n . **Engl. J. Med. Boston**, v.294,n 1,pag30-36,Jan.1976.

10 BEESLEY,M.J**. Lasers and their applications**.Londres Taylor & Francis ltda 1971.253p

11 BENEDICENTI, A**. Manuale di laser terapia del cavo orale** .Castello: Maggioli, 1982. 157p.

12 BOGLIOLO,L.PEREIRA,F.E.L. Inflamação. In BOGLIOLO;L**. Patologia** 2ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,1976.p.90.

13 BOGLIOLO,L.**Patologia geral básica: Agressão, defesa, adaptação, doença** .Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978 p. 506.

14 BUTLER, J. K**. Semicondutor injection lasers**. New York: IEEE Press, 1980.395p

15 CARRANZA,F.A.Jr ; CABRINI, R.L**.** Mast cells in human gingival –**Oral Surg**. 8: 1093-99, 1955.

16 CARUSO,F; GAETA,G.M.; CHIEFFI-BACCARI,G; GUIDA,L; IUORIO,G.[Laser in periodontology: theoretical-experimental approach. 3. Experimental study of the effects of He-Ne (638 nm) and infrared diodic (904 nm) lasers on the gingival mucosa of rats]**Arch-Stomatol-**Napoli.;v31n2p277-89 Apr-Jun1990

17 CRUANES,J.C**. La terapia laser , hoy**. Barcelona:Centro de Documentacion Laser de Meditec, 1984. 164p.

18 COHERENT,E.E.Lasers**: operación, equipo, uso y diseño**. México: Limusa,1985.226p.

19 CONLAN,M.J.; RAPLEY,J.W., COBB,C.M. Bioestimulation of wound healing by low-energy laser irradiation. A review**. J Clin Periodontal** Munksgaard; 23:492-496.,1996.

20 DEVITT,J.E.;SAMUELS,P.B.;PIROZYNSKY,W.J.;WEBSTER,D.R.; Morphologyof tissue mast cells – the frequency of artifacts and influence of certain biologic agents**. Amer.J.Path**. 30:391-450, 1954.

21 DEWAR,M.R. Mast cells in gingival tissue**. J. Periodont** 29 : 67 – 70 , 1958.

22 DYSON,M. Cellular and subcellular aspects of Low level laser therapy. In OHSHIRO,T.; CALDERHEAD,R.D. **Progress in laser therapy**. J Wiley & Sons.1991 . p 221.

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

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

25 FANTONE,J.C. & WARD,P.A.; Inflamação. In RUBIN,E.& FARBER,J.L. **Patologia** . Philadelphia,pennsylvania . Rio de Janeiro:interlivros ,1988 1381p .

26 FIGUEIREDO.H.deS. **O mastócito em alguns processos patológicos da cavidade oral**. Belo Horizonte,1957(tese Cátedra).

27 FULTON,G.P.;MAYNARD,F.L.;RILEY,J.F.;WEST.G.B**.** Humoral aspects of tissue mast cells. **Phisiol.Rev**., 37: 221-32.1957.

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

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

30 GIMENEZ,R.&CASADO,F. Influencia de estractos biológicos sobre la respiration tisular**.Inv.Clin Laser** . v.2.n.2 p 11-15 , 1985.

31 GIORGI,S.M.; LOTUFO R.F.M.; LASCALA,N.T. Gengivectomia – Gengivoplastia.in LASCALA,N.T. & MOUSSALLI, N.H. **Compêndio terapêutico periodontal** São Paulo : Livraria editora artes médicas Ltda,1994 p516.

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

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

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

35 HECHT,R.; **the laser guidebook**.New York: MacGraw-HII,1986.380p.

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

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

38 KARU,T.I.; PYATIBRAT,L.V.; RYABYKH,T:P. Nonmonotonie behavior of the dose dependence of the radiation effect on cells in vitro exposed to pulsed Laser radiation at λ= 820nm .**Lasers Surg Med**.v21,p.485-492, 1997.

39 KELLER,R.& SCHAUWECKER.H.H. Possible significance of tissue mast cells in inflammatory and regenerative processes.**J.Dent.Res.,**2:229- 34, 1972. suplemento

40 KINOSHITA,S. **Color atlas of periodontics.** St. Louis, Missouri : Ishiyaku EuroAmérica ;1985 ;404p

41 KOMPAK.L. AND WARNNER,J**. Laser applications in chemistry**. New York Plenum Press 1984.273p.

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

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

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

45 LIMIA,C.H. Aplicacion de la energia laser en odontologia y estomatologia.

**Rev. Laser e Med. Odontol**. v.1, n.1, p.8-9,set/dic. 1988.

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

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

48 MACEDO,M.S.Hipersensibilidade imediata. In:CALICH,V.L.G; VAZ,C.A C **. Imunologia básica**. São Paulo: artes Médicas, 1988. p.258.

49 MAILLET,H. (Coord.) **O laser: princípios e técnicas de aplicação**.São Paulo. Manole, 1987. 538 p.

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

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

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

53 MESTER,E.,SZENDE,B.,SPIRY,T. & SCHER,A. Stimulation of wound healing by Laser rays. **Acta. Chir. Hung**. 13:3/315-824,1972.

54 MESTER,E.,JASZSAGY-NAGY,E**.** The effects of laser radiation on wound healing and collagen synthesis**. Studia Biophysica** 35:227-30,1973.

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

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

57 MOTA, I. The mast cell revisited**. Braz. j. med. biol**. **res**;28(8):895-901, Aug. 1995. ilus, tab

58 MOUSSALLI,N.H.& LASCALA, N.T. Gengivite-periodontite Alterações crônicas.in LASCALA,N.T. & MOUSSALLI, N.H. **Compêndio terapêutico periodontal** São Paulo : Livraria editora artes médicas Ltda,1994 p516.

59 MUNCHERYAN,H.M. **Principles and practice of laser technology**.Blue Ridge Summit: Tab Books, 1983. 298p.

60 ONICESCU,D.; MARIN,A.; MISCHIU,L.; STOICA,I. Mastocitele in gingia Normala si in parondontita marginala crônica. **Stomatologia** 17 : 405-10,1970.

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

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

63 ROBBINSS.L. & COTRAN,M.D. Inflamação e reparo cap3 .**Patologia estrutural e functional** Rio de Janeiro editora interamericana ltda.1983.1354p

64 ROITT,I; BROSTOFF,J; MALE,D. **Imunologia.** Cap19 Hipersensibilidade – tipo1- São Paulo: editora Manole,1989,

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

66 SCHWARTZ,J.& DIBBLEE,B.A. The role of Ige in the release of histamine from human gingival mast cells**. J.Periodont**. 46: 171-7 , 1975.

67 SHIMODA,K**.Introduction to laser physics**. 2ed. Berlin: Springer-Verlag, 1986. 233p

68 SILVEIRA,J.C.DA.**Alguns áspectos do comportamento do mastócito no processo de cicatrização dos enxertos livres autógenos de gengiva: estudo experimental realizado em cãe**s. Belo Horizonte: UFMG.1981.71p Tese (para professor titular de patologia )- Faculdade de odontologia. Universidade Federal de Minas Gerais.1981. Arq. Centro Estud. Curso Odontol; 20 (1/2):35-61, jan.-dez. 1983. ilus, tab

69 SILVEIRA,J.C.DA & LOPES,E.E.Alguns áspectos do comportamento do Mastócito sob ação do raio Laser de Ga As 904 nm (Estudo experimental em cobaias "Cavia porcellus")Belo Horizonte, **Arq.Cent.Estud**.Curso Odonto 1991:28:73-96.jan.-dez. 1991. tab, ilus

70 SILVEIRA,J.C.DA, LOPES,E.E. & SILVEIRA,L.DE B. Avaliação quantitativa da drenagem do exsudato de Bolsas periodontais supra-ósseas antes e após a aplicação do Raio Laser Ga As 904 nm (Estudo em humanos) **Arq. Centro Estud.** Curso Odontol;29(1):57-68, jan.-jun. 1992.

71 SILVEIRA,J.C.DA & SILVEIRA, L.DE B. Da influência do raio Laser Ga As 904 nm na drenagem do fluido do sulco fisiológico gengival em humanos. **Periodontia**,1992:1/3-13

72 SILVEIRA,V.J.M**. Alguns áspectos do comportamento dos mástócitos no tecido conjuntivo das duas vertentes da parede não mineralizada da bolsa periodontal supra-óssea**. Belo Horizonte; s.n; 1985. 50 p. ilus, graf. Tese: Apresentada a Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia para obtenção do grau de Mestre.BR365.1;D047, S587a, 1985

73 SMITH-AGREDA,V.; FERES,.E; MONTESINO,M.SMITH-FERES,E.; PEREZ,J.; ZABALETA,M. Alteraciones de la ciclosis celular adeno-hipofisária trás la estimulación con laser He/Ne e IR**. Inv.clin laser III**,v3,p.99-105.1986.

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

75 TAYLOR,R., SHKLAR,G.,ROEBER,F. The effects of Laser radiation on teeth, dental pulp and oral mucosa of experimental animals.**O Surg.O Med**. O Path. 19:786-95,1965.

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

77 TERNER,C. Histological categories of the clinically healthy gingiva**. J. Periodont**.38: 211-17, 1967.

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

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

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

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

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

83 ZACHRISSON,B.U. The role of mast cells in gingivitis**. Paradontologie**. 23 : 151-9, 1969.

84 WENNSTROM,J.; HEIJIL,L.; LINDHE,J & FRANDSEN,A. Cap16 Cirurgia periodontal . In: LINDHE,J. **Tratado de periodontologia clínica** . Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 1992 493p.

85 WIGDOR,HA; WALSH,JT JR; FEATHERSTONE,JD; VISURI-SR; FRIED-D; WALDVOGEL-JL Lasers in dentistry**. Lasers-Surg-Med**.1995;16(2): 103-33

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

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

C.E.P. - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
ipen

**Parecer - Projeto Nº 024/CEP-IPEN/SP**

Com base nos pareceres apresentados pelos relatores, o protocolo de pesquisa **"Verificação do comportamento do mastócito na parede não mineralizada da bolsa periodontal supraóssea submetida à radiação laser de baixa intensidade"**, de responsabilidade do pesquisador **Lívio de Barros Silveira**, sob orientação do Professor Doutor Eduardo de Bortolli Groth, foi considerado APROVADO.

São Paulo, 20 de janeiro de 2001

**Profa. Dra. Martha Marques Ferreira Vieira**
Coordenadora do CEP-IPEN

IPEN-CNEN/SP
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**
Travessa "R", Nº 400 - Cidade Universitária - CEP 05508-900 - São Paulo - SP
Telefone: (011) 3816-9381 - Fax (011) 3816-9123
E-mail: mmvieira@net.ipen.br

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

**PARECER nº 153/00**

A Coordenação do Comitê de Ética em Pesquisa, **APROVOU** *"ad referendum"* o protocolo de pesquisa ***"Verificação do comportamento do mastócito na parede não mineralizada da bolsa periodontal supraóssea submetida à radiação laser de baixa intensidade"***, de responsabilidade do pesquisador **Lívio de Barros Silveira,** sob orientação do Professor Doutor **Eduardo de Bortolli Groth.**

São Paulo, 20 de dezembro de 2000

*Profa.Dra.* ***Célia Regina Martins Delgado Rodrigues***
Coordenadora do CEP-FOUSP

Av. Prof. Lineu Prestes, 2227 - Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira" CEP 05508-900
São Paulo - SP FAX (011) 814.9281 - TELEX (011) 36950 - Tels.: PABX (011) 813.6944 -
Diretoria (011) 814.0062 - Contabilidade/Compras (011) 814.9281
Impresso no S.D.O.