



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**AVALIAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DE ANÁLISE DA  
MICROCIRCULAÇÃO GENGIVAL VIA FLUXOMETRIA  
LASER DOPPLER**

**Paula Silvestrini Anarelli Leite**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre Profissional na área de Lasers em Odontologia.

Orientador:  
Prof. Dr. Gessé Eduardo Calvo Nogueira

Co-orientadora:  
Profa. Dra. Sheila Gouw-Soares

São Paulo

2007



INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**AVALIAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DE ANÁLISE DA  
MICROCIRCULAÇÃO GENGIVAL VIA FLUXOMETRIA  
LASER DOPPLER**

**Paula Silvestrini Anarelli Leite**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre Profissional na área de Lasers em Odontologia.

Orientador:  
Prof. Dr. Gessé Eduardo Calvo Nogueira

Co-orientadora:  
Profa. Dra. Sheila Gouw-Soares

São Paulo

2007

## **Dedico este trabalho**

***À Deus, razão da minha existência, que me sustentou a cada dia com seu amor e fidelidade. Se não fosse por Ele, este trabalho não teria sido concluído.***

***Ao meu marido Emerson, presente de Deus na minha vida, por seu apoio, paciência e companheirismo. Devo grande parte desta conquista a você. Eu te amo!***

***À minha filha Giovanna, o meu maior tesouro, a minha motivação para viver. O meu amor por você é imensurável.***

***Aos meus pais, meus exemplos de conduta e fé, pelo esforço na minha educação e preparação para a vida. À minha mãe Carmen, pelo amor incondicional e dedicação e a meu pai Paulo, pelos sábios conselhos e exemplo de persistência. Obrigada!***

***À minha irmã Sue-Ellen, minha grande amiga, pelos longos e valorosos momentos de conversa e companheirismo. Ter você na história da minha vida é um privilégio!***

***À minha avó Cida, pelas constantes orações.***

***À minha sogra Leisa e minha cunhada Luciana, que entraram em minha vida de uma forma especial. Obrigada por poder contar com o apoio e a ajuda de vocês!***

*"A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus.  
Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem  
compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço  
claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável."  
(Galileu Galilei)*

Agradecimento especial

Ao **Prof. Dr. Gessé Eduardo Calvo Nogueira**, pela orientação neste trabalho, mostrando exemplo de verdadeira competência. Pela dedicação e paciência no ensino teórico e prático da FLD, compartilhando parte de seus profundos conhecimentos comigo.

Muito Obrigada!

## Agradecimentos

À **Profª Drª Sheila Gouw-Soares**, minha co-orientadora neste trabalho, pela ajuda e importantes sugestões.

Aos meus **professores** do curso de Mestrado Profissionalizante de Lasers em Odontologia, tanto do IPEN, quanto do LELO, pela dedicação e ensinamentos transmitidos.

Aos meus **colegas** da 7ª turma do Mestrado Profissionalizante, pelo convívio e experiências trocadas.

À grande amiga que fiz durante o curso de Mestrado, **Michelle Miyabe**. Obrigada pelo apoio e companheirismo.

À **Melissa Santos Folgosi Correa**, pela amizade e ajuda constante na elaboração deste trabalho.

À **Ilka Kato** e ao **Renato Prates**, pelas sugestões nos momentos finais da conclusão do trabalho, que muito me ajudaram!

À **Andréa Malavazi**, secretária do curso de Mestrado, pela atenção e eficiência, sempre pronta a nos socorrer.

Às funcionárias do LELO, **Joelma** e **Liliane**, sempre muito prestativas e dispostas a ajudar.

À **Profª. Drª Márcia Turolla Wanderley**, que nos cedeu o espaço no departamento de odontopediatria da FOUSP, para realizarmos as medições e a **Isabella**, pela ajuda na fase inicial deste trabalho, mostrando o funcionamento do aparelho.

Ao **IPEN**, pelo fornecimento do equipamento e a **FOUSP – LELO**, pela disponibilidade de espaço e oportunidade.

Aos meus **amigos** que se disponibilizaram a participar da pesquisa como voluntários. Muito obrigada pela confiança e paciência durante as medições.

# AVALIAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DE ANÁLISE DA MICROCIRCULAÇÃO GENGIVAL VIA FLUXOMETRIA LASER DOPPLER

Paula Silvestrini Anarelli Leite

## RESUMO

Os primeiros estudos sobre a microcirculação sanguínea gengival (MSG) foram efetuados usando métodos invasivos, destrutivos e imprecisos. Assim, pouco se sabe sobre as alterações hemodinâmicas gengivais, tanto fisiológicas quanto patológicas. Mais recentemente, a Fluxometria Laser Doppler (FLD) tem sido usada no estudo da MSG, mas observou-se uma elevada variabilidade nos valores de fluxo medido entre os indivíduos. Como uma consequência, nem sempre é possível saber se um fluxo medido é normal ou anormal, embora seja possível discriminar os valores médios dos dois grupos. A proposta deste estudo foi avaliar a performance, como indicador de alterações da MSG, de um novo parâmetro hemodinâmico, aqui denominado variação de volume sanguíneo,  $V(\%)$ , decorrente da compressão tópica e transitória da mucosa alveolar em humanos, e compará-la com a do parâmetro correntemente usado, o fluxo medido  $F$ , em gengivas saudáveis e com gengivite. Foram realizadas medições do fluxo sanguíneo gengival em 19 voluntários, divididos em 2 grupos: I) gengivas saudáveis ( $n=14$ ) e; II) gengivites leves a moderadas ( $n=5$ ). Em ambos os grupos, foi medido o fluxo sanguíneo via FLD em dois sítios: i) na gengiva inserida do elemento 32 e; ii) na gengiva inserida do elemento 42. Os resultados obtidos confirmaram a expectativa de que a variação de volume sanguíneo  $V(\%)$ , nos sítios saudáveis investigados, apresenta menor variabilidade entre indivíduos, que o fluxo  $F$  medido sem a manobra. Mas, nos resultados, também foram encontradas evidências estatísticas suficientes para sugerir que  $F$  é mais efetivo que  $V(\%)$  na discriminação tanto dos dois grupos estudados quanto na discriminação do estado de cada gengiva em cada grupo.

EVALUATION OF TWO METHODS FOR GINGIVAL MICROCIRCULATION  
ANALYSIS VIA LASER DOPPLER FLOWMETRY

Paula Silvestrini Anarelli Leite

ABSTRACT

The earlier studies of gingival blood microcirculation (GBM) were accomplished by using invasive, destructive and imprecise methods. Thus, the knowledge about the gingival hemodynamic variation is limited, on both physiological and pathological conditions. More recently, the laser Doppler flowmetry has been used for the GBM studies, and a high interindividual variability of the measured flow has been observed. As a consequence, it is not always possible to know if a measured flow is normal or abnormal, although it is possible to discriminate mean values from the two conditions. The purpose of this study was the evaluation of the performance, as GBM-alterations indicator, of a new hemodynamic parameter here denoted as blood volume variation,  $V(\%)$ , promoted by the transitory and topic compression of the alveolar mucosa in humans, and the comparison of the performance with the one from the currently used parameter, the measured flow  $F$ , at both gingival status, healthy and gingivitis. There were performed flow registers in 19 volunteers, divided into two groups: I) healthy gingiva ( $n=14$ ) and; II) light and moderate gingivitis ( $n=5$ ). In both groups, the blood flow was measured at two sites: i) the tooth 32 attached gingiva and: ii) the tooth 42 attached gingival. The obtained results confirm the expectation that the blood volume variation  $V(\%)$ , at the healthy investigated sites, due to the compression procedure, presents lower intraindividual variability than the one obtained considering only the measured flow  $F$ . There were also found, in the results, sufficient statistical evidences suggesting that  $F$  is more effective than  $V(\%)$  to discriminate not only groups but also the individual status of each gingiva from each group.



## SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	16
3 MICROCIRCULAÇÃO NO TECIDO GENGIVAL.....	17
3.1 Anatomia do tecido gengival.....	17
3.2 Suprimento sanguíneo do tecido gengival.....	18
3.3 Fluxo sanguíneo na microcirculação.....	20
3.4 Fisiopatologia gengival na inflamação.....	23
3.5 Alterações do fluxo gengival na inflamação.....	27
4 FLUXOMETRIA LASER DOPPLER.....	30
5 SUJEITOS, MATERIAL E MÉTODOS.....	34
5.1 Pacientes.....	34
5.2 Material e métodos.....	35
Especificações do equipamento.....	35
Primeira sessão.....	36
a) Exame periodontal convencional.....	36
b) Confeção do suporte da sonda .....	36
c) Registros na região do elemento 32.....	39
d) Registros na região do elemento 42.....	40
e) Procedimento periodontal de raspagem.....	42
Segunda sessão.....	42

<b>5.3</b>	<b>Análise dos dados.....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>44</b>
<b>6.1</b>	<b>Estado das gengivas.....</b>	<b>44</b>
<b>6.2</b>	<b>Variações de fluxo sanguíneo.....</b>	<b>48</b>
<b>6.3</b>	<b>Variações de volume sanguíneo.....</b>	<b>51</b>
<b>6.4</b>	<b>Comparação entre fluxo e variação de volume.....</b>	<b>54</b>
<b>6.5</b>	<b>Capacidade discriminante do fluxo e da variação de volume.....</b>	<b>55</b>
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>58</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>69</b>
	<b>ANEXO A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....</b>	<b>71</b>
	<b>ANEXO B: Aprovação do comitê de ética FOUSP.....</b>	<b>73</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>74</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>cm</b>	<b>centímetro</b>
<b>CV</b>	<b>coeficiente de variação</b>
<b>CC</b>	<b>corrente constante</b>
<b>AC</b>	<b>corrente alternante</b>
<b>DEP</b>	<b>densidade espectral de potência</b>
<b>DP</b>	<b>desvio-padrão</b>
<b>DV</b>	<b>face disto-vestibular</b>
<b>MV</b>	<b>face mésio-vestibular</b>
<b>V</b>	<b>face vestibular</b>
<b>FG</b>	<b>fluxo na gengiva inflamada</b>
<b>FSA</b>	<b>fluxo na gengiva sadia antes da raspagem</b>
<b>FSD</b>	<b>fluxo na gengiva sadia após raspagem</b>
<b>F(UA)</b>	<b>fluxo sanguíneo em unidades arbitrárias</b>
<b>FLD</b>	<b>fluxometria Laser Doppler</b>
<b>FOUSP</b>	<b>Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo</b>
<b>CO<sub>2</sub></b>	<b>gás carbônico</b>
<b>IG</b>	<b>índice gengival</b>
<b>K<sup>+</sup></b>	<b>íon potássio</b>
<b>IPEN</b>	<b>Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares</b>
<b>kHz</b>	<b>kilohertz</b>

<b>LELO</b>	<b>Laboratório Especial de Laser em Odontologia</b>
<b>LASER</b>	<b>Light amplification by stimulated emission of radiation</b>
<b>µm</b>	<b>micrometro</b>
<b>mm</b>	<b>milímetro</b>
<b>mm<sup>3</sup></b>	<b>milímetro cúbico</b>
<b>mW</b>	<b>miliwatts</b>
<b>nm</b>	<b>nanometro</b>
<b>NV</b>	<b>negativos verdadeiros</b>
<b>NCI</b>	<b>nível clínico de inserção</b>
<b>n</b>	<b>número de amostra</b>
<b>O<sub>2</sub></b>	<b>oxigênio molecular</b>
<b>PV</b>	<b>positivos verdadeiros</b>
<b>PCS</b>	<b>profundidade clínica de sondagem</b>
<b>s</b>	<b>segundo</b>
<b>UA</b>	<b>unidades arbitrárias</b>
<b>V(%)</b>	<b>variação percentual de volume sanguíneo</b>
<b>VA</b>	<b>volume sanguíneo antes da compressão</b>
<b>VD</b>	<b>volume sanguíneo depois da compressão</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A avaliação objetiva e dinâmica da gengiva inflamada ou durante processos reparatórios é um assunto ainda não resolvido: geralmente métodos subjetivos ou indiretos são usados para avaliar estados alterados e inalterados da gengiva. Um exemplo de método indireto, relacionado com o estado da gengiva (e de outros tecidos), é o estudo da microcirculação gengival.

A anatomia da microvascularização do tecido gengival é um assunto conhecido. Mas pouco se sabe sobre a dinâmica do fluxo sanguíneo nos capilares, vênulas e arteríolas (vasos com diâmetros entre 5  $\mu\text{m}$  a 100  $\mu\text{m}$ ) que irrigam a gengiva, tanto na normalidade como em condições alteradas.

Dada a relevância do conhecimento do estado de suprimento sanguíneo tissular, foram desenvolvidos vários equipamentos e dispositivos para mensurar o fluxo sanguíneo microvascular. Das técnicas citadas na literatura para estudar o fluxo sanguíneo gengival, alguns exemplos são: estudos de cortes histológicos (Hock & Nuki, 1975), observação direta por microscópio (microscopia vital) (Staple & Copley, 1959; Hock & Nuki, 1975), cinematografia de alta velocidade (estimativa de velocidade dos eritrócitos) (Hock & Nuki, 1976), pletismógrafos (método de estimativa do fluxo sanguíneo através de eletrodos colocados contra o tecido gengival) (Kinnen & Goldberg, 1978), sistemas de perfusão (microesferas plásticas, fluorescentes e radioativas) (Kaplan *et al.*, 1978; Kaplan *et al.*, 1982; Hock *et al.*, 1980). Algumas destas técnicas permitem apenas uma única observação de cada tecido examinado, impossibilitando o estudo dinâmico. Além disso, são técnicas invasivas e destrutivas, podendo alterar a microcirculação e geralmente são aplicáveis somente a estudos em modelos animais.

Mais recentemente, a Fluxometria Laser Doppler (FLD) tem sido usada no estudo da microcirculação, sendo uma técnica que permite o estudo de vários

parâmetros hemodinâmicos microvasculares: o fluxo, a velocidade e a concentração de hemácias num volume ao qual o instrumento é sensível (de aproximadamente  $1 \text{ mm}^3$ , em tecidos moles). A técnica tem como características favoráveis a possibilidade de monitoramento do fluxo continuamente, em tempo real, e do registro instantâneo das variações de fluxo. Também permite comparar fluxos de uma mesma região em momentos diferentes. Além disso, é um método não invasivo e não oferece riscos aos tecidos biológicos, podendo ser seguramente usada em humanos.

A FLD tem sido utilizada no estudo da microcirculação de praticamente todos os órgãos do corpo humano. Na medicina, pode ser aplicada em áreas como reumatologia, dermatologia, angiologia, cardiologia e cirurgia plástica. Na Odontologia, o uso tem sido relatado principalmente no estudo do fluxo pulpar.

A utilização da FLD no tecido gengival não é recente. Baab *et al.* (1986), um dos trabalhos precursores do método para observação da dinâmica microvascular gengival, concluíram ser uma técnica promissora para o estudo do fluxo sanguíneo gengival.

Hoje é conhecido que o fluxo medido via FLD em diversos sítios, incluindo a gengiva, varia largamente entre indivíduos, provavelmente decorrente das variações normais de fluxo entre indivíduos e de variações regionais, entre outros fatores. Assim, segundo Patiño-Marín *et al.* (2005), embora seja possível comparar valores de fluxos gengivais médios entre gengivas saudáveis e inflamadas, a comparação de fluxos entre indivíduos não é possível, ou seja, não é possível saber se o fluxo medido de um indivíduo é elevado ou baixo.

Objetivando minimizar a variabilidade do fluxo entre indivíduos, Nuñez (2002), e Nuñez *et al.* (2004) normalizaram o fluxo medido na pele de ratos, usando como referência outro sítio próximo, do mesmo animal. Desta forma, cada indivíduo é seu próprio controle.

Nogueira (2003), Wanderley (2004) e Eduardo (2004) sugeriram técnicas de normalização do fluxo pulpar medido via FLD: o fluxo do dente analisado é comparado com o fluxo de seu homólogo, possibilitando a comparação de variações de fluxo entre dentes de um mesmo indivíduo. Essencialmente, as técnicas sugeridas são fundamentadas nas vantagens decorrentes de cada indivíduo ser seu próprio controle, ao invés de outro grupo

ser o controle (comum na literatura), possibilitando comparar variações de fluxo tanto entre indivíduos, quanto entre grupos de indivíduos. Mais recentemente, Salles (2006) usou as técnicas de normalização sugeridas por Nogueira (2003) e Eduardo (2004) para medir variações do fluxo pulpar durante longos períodos (até 30 dias). Entretanto, poucas pesquisas existem utilizando a técnica de normalização nos registros de fluxo sanguíneo gengival via FLD.

Patiño-Marín *et al.* (2005), também motivados pela elevada variação do fluxo medido entre indivíduos, com a FLD, sugeriram uma nova técnica de avaliação do fluxo gengival. A técnica proposta consiste em observar a resposta do fluxo medido antes e após uma compressão mecânica do tecido analisado, esperando que a resposta a este estímulo apresente menor variabilidade entre indivíduos. A escolha do estímulo compressão, foi fundamentada no fato de que a resposta microcirculatória é diferente no tecido inflamado, quando comparada à de um tecido normal. Neste estudo, os autores investigaram doze parâmetros hemodinâmicos derivados dos fluxos medidos antes e depois da compressão e observaram: i) que todos apresentavam elevadas variações entre indivíduos; ii) a razão entre dois dos parâmetros investigados (posteriormente denominada GIPI) diminuía significativamente a variabilidade entre indivíduos. A validação dos novos parâmetros em gengivas sob condições patológicas não foi efetuada neste estudo.

Em 2006, Rodríguez-Martínez *et al.* avaliaram o desempenho do método proposto por Patiño-Marín *et al.* (2005) em gengivas sadias, na gengivite e periodontite e observaram que as respostas médias (de grupos) do novo índice GIPI na gengivite e na periodontite são antagônicas e moderadamente correlacionadas com o estado da gengiva: respostas hipoêmicas foram observadas em gengivas sadias, mais pronunciadamente hipoêmicas na periodontite e tendência de hiperemia na gengivite. No entanto, a possibilidade de separar (discriminar) individualmente cada gengiva, usando o índice GIPI ou o fluxo não foi investigada.

Sendo assim, ainda há uma lacuna na literatura, já que a possibilidade de discriminar as gengivas sadias das gengivas alteradas, usando o fluxo medido via FLD ou qualquer outro parâmetro derivado do fluxo, ainda não foi quantitativamente avaliado. Em adição, a FLD tem sido utilizada com frequência e

êxito em diversos tecidos humanos; entretanto, existem poucas pesquisas aplicando-a na medição do fluxo sanguíneo gengival. Portanto, é de grande valor obter maiores conhecimentos quanto à confiabilidade dessa técnica, permitindo dessa maneira potencializar o seu uso nesta região. Além disso, observa-se na literatura a ausência de métodos objetivos estabelecidos para o acompanhamento e avaliação da reparação gengival (vistos em processos inflamatórios e cirúrgicos, por exemplo) e das cirurgias de enxerto. A FLD pode contribuir com essas funções, auxiliando no entendimento da dinâmica do fluxo sanguíneo gengival em processos de reparação tissular assistidos ou não por laser. Em adição, a FLD pode auxiliar os estudos de fenômenos fisiológicos e patológicos atuantes nesta região e promover, na prática clínica, um maior conhecimento na prevenção e diagnóstico de patologias periodontais, como a gengivite e a periodontite.



## **2 OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a performance de um novo parâmetro hemodinâmico do fluxo sanguíneo gengival microvascular, usando como estímulo a compressão tópica e transitória da mucosa alveolar em humanos, por meio da Fluxometria Laser Doppler, normalizando as respostas obtidas e comparar os resultados obtidos com a técnica conhecida de estudo do fluxo gengival via Fluxometria Laser Doppler.

### 3 MICROVASCULARIZAÇÃO DA GENGIVA

Para a melhor compreensão deste estudo serão brevemente apresentados conceitos relacionados com a anatomia e suprimento sanguíneo do tecido gengival, fluxo sanguíneo na microcirculação e fisiopatologia gengival na inflamação.

#### 3.1 Anatomia do tecido gengival

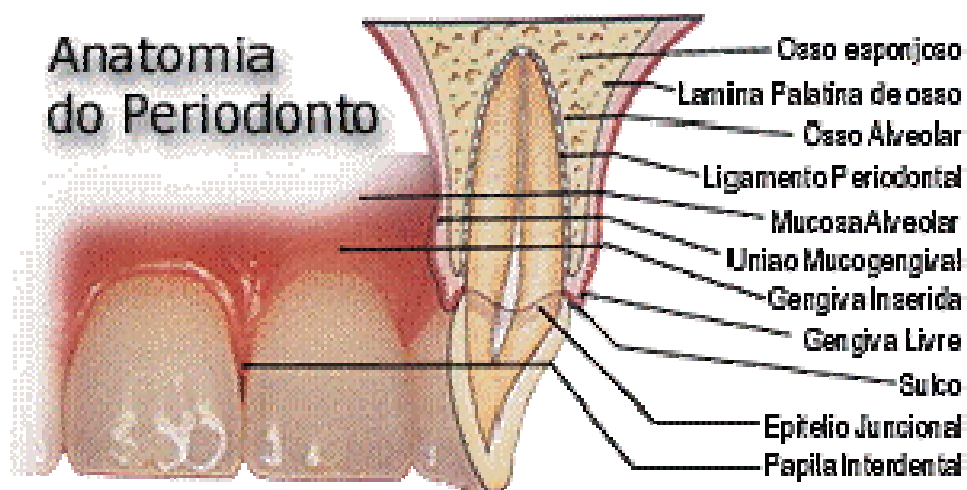


FIGURA 3.1: Anatomia do Periodonto <sup>1</sup>

Segundo SIMAS (1989), a gengiva é “uma mucosa de cor rosa-pálida ou vermelho-coral que recobre o processo alveolar. Suas funções consistem em isolar o periodonto de inserção do meio bucal e suportar grande parte da atividade mastigatória”.

A gengiva começa, na direção inciso-oclusal, na margem gengival livre, que apresenta um contorno parabólico. Apicalmente, termina na mucosa alveolar, que é frouxa e vermelha escura. O limite entre a gengiva e a mucosa é observado pela linha mucogengival. Parte da gengiva se classifica como mucosa oral

<sup>1</sup> <http://www.eduardorubio.odo.br>

(gingiva inserida) e parte dela participa do periodonto de proteção (gingiva livre, sulco gengival e epitélio juncional e papila interdental) (FIG.3.1).

A gengiva livre tem como características consistência firme, coloração rósea e superfície opaca. Ela se estende da margem gengival livre até a ranhura gengival livre (posição esta que corresponde à junção esmalte-cimento) (Lindhe, 1999).

A gengiva inserida tem a aparência de cor e textura semelhante a gengiva livre. Entretanto, há a presença de depressões e elevações na sua superfície, caracterizando a chamada “aparência de casca de laranja” (Katchburian, 1999). Segundo Lindhe (1999), apenas 40% dos adultos apresenta a característica citada acima. A largura da gengiva inserida varia nas diferentes regiões da cavidade oral de 1 mm a 9 mm e também varia conforme a idade. A gengiva inserida se estende da ranhura gengival livre até a junção mucogengival, em direção apical. A gengiva inserida, dado pelo próprio nome, recobre o processo alveolar, inserindo-se fortemente a ele. Assim, evidenciam-se diferenças clínicas entre a gengiva inserida e a mucosa alveolar, a qual apresenta coloração vermelha mais escura e uma ligação mais frouxa com o osso alveolar, dando uma aparência de maior mobilidade.

### **3.2 Suprimento sanguíneo do tecido gengival**

As artérias que recebem o sangue do coração são vasos de grande calibre, com diâmetros de 4 mm em média, e paredes grossas constituídas de tecido fibroso elástico capaz de suportar o sangue vindo com alta velocidade e pressão. Dessa forma, esses vasos distribuem o sangue para os vários tecidos do corpo sob forma pulsátil.

Essas artérias, ao longo do seu trajeto, ramificam-se em vasos mais curtos e estreitos, denominados arteríolas, cujo calibre é de aproximadamente 150  $\mu\text{m}$ .

As paredes das arteríolas contêm menos tecido elástico, porém muito mais músculo liso. Estes vasos reduzem a pressão arterial que atinge os capilares. Assim, as arteríolas constituem o principal local de resistência ao fluxo sanguíneo.

Entre as menores arteríolas e os capilares, existem os metacapilares, os quais têm um calibre maior que os capilares verdadeiros e possuem esfíncteres pré-capilares (anéis de musculatura lisa) que regulam o fluxo sanguíneo. Esses esfíncteres podem regular a irrigação de diferentes redes capilares alternadamente, conforme sua abertura e fechamento.

Os capilares são vasos de pequeno calibre (com diâmetro entre 4 a 9  $\mu\text{m}$ ), pequeno comprimento e de espessura da parede de aproximadamente 1  $\mu\text{m}$ , que servem como local de troca de substâncias entre a corrente sanguínea e o tecido, através das alterações de permeabilidade na parede vascular, além de fazerem a comunicação das arteríolas com as veias. Os tecidos capilares não têm capacidade de vasoconstrição ou vasodilatação. O controle do fluxo sanguíneo é realizado pelos esfíncteres semelhantes aos presentes nos metacapilares. Assim, o sangue dentro dos capilares move-se mais lentamente e sob menor pressão em direção às vênulas, as quais se unem, formando as veias.

Uma unidade capilar simples consiste de uma rede ramificada e anastomática de vasos, cada uma com cerca de 400 a 1000  $\mu\text{m}$  de comprimento (Lossow, 1990; Nuki & Hock, 1974).

A microcirculação compreende as arteríolas, capilares e vênulas pós-capilares. O tecido gengival contém vasos com diâmetros menores que 100  $\mu\text{m}$  e, por isso, o fluxo sanguíneo nessa região é considerado uma microcirculação. Em uma gengiva clinicamente não inflamada, livre de biofilme, os vasos são arranjados como uma rede, formando um modelo regular e repetitivo (Nuki & Hock, 1974; Hock & Nuki, 1975).

Os vasos da gengiva marginal representam a conexão entre a rede vascular do sulco gengival e a da gengiva inserida (Nuki & Hock, 1974).

A gengiva livre é altamente vascularizada e contém complexas redes de capilares e vênulas. Esta região gengival recebe seu suprimento sanguíneo dos vasos supraperiosteais, dos vasos do ligamento periodontal e do osso alveolar enquanto que a gengiva inserida recebe suprimento sanguíneo apenas dos vasos supraperiosteais (Lindhe, 1999). Entretanto, o fluxo sanguíneo decresce da mucosa alveolar, para a gengiva inserida, papila interdental, chegando ao menor fluxo sanguíneo na gengiva livre (Kerdvongbundit *et al.* 2002b, 2003).

Os vasos sanguíneos suprapariosteais são ramificações da artéria sublingual, da artéria mentoniana, artéria bucal, artéria facial, artéria palatina maior, artéria infra-orbitária e da artéria dentária superior posterior. Esses vasos terminam seu trajeto na gengiva livre e se arranjam em numerosos ramos, formando um plexo vascular, localizado sob o epitélio oral tanto da gengiva livre quanto da gengiva inserida. Na extremidade destes plexos, existe a formação de alças capilares delgadas, ou *loops* (cujo diâmetro é cerca de 7  $\mu\text{m}$ ), que vão em direção ao ápice das papilas conjuntivas (Lindhe, 1999).

Essa rede sub-epitelial de capilares localizadas no sulco gengival, gengiva marginal e mucosa oral se anastomosam livremente e desembocam em vênulas mais profundas no tecido. As anastomoses venosas seguem um curso paralelo às arteríolas, embora exista um maior número de vênulas que arteríolas (Zoellner *et al.*, 2002).

O plexo dentogengival é a arquitetura vascular na região sob o epitélio juncional. Nesse plexo, os vasos sanguíneos têm espessura média de 40  $\mu\text{m}$ , o que significa que são principalmente vênulas. Quando a gengiva encontra-se sadia, não são encontradas as alças capilares (Lindhe, 1999).

Apesar da morfologia vascular não se alterar entre a gengiva maxilar e mandibular, o fluxo tende a se comportar de maneira diferente. Segundo Kerdvongbundit *et al.* (2002b), o fluxo sanguíneo da gengiva livre, interdental, inserida e mucosa alveolar é maior na gengiva maxilar que na mandibular, provavelmente devido a maior densidade óssea da mandíbula e o seu menor suprimento vascular quando comparada com a maxila.

### **3.3 Fluxo sanguíneo na microcirculação**

Fluxo sanguíneo é geralmente definido como o volume de sangue que passa por uma determinada área num tecido por unidade de tempo.

Em qualquer parte do sistema vascular, o fluxo depende de pelo menos dois fatores importantes: (1) o gradiente de pressão, que tende a orientar o sangue através do vaso; e (2) o impedimento do sangue em fluir através do vaso, denominado resistência vascular, conforme a equação abaixo:

$$Fluxo = \frac{\Delta P}{R}$$

onde  $\Delta P$  é a pressão de perfusão efetiva, calculada pela diferença entre a pressão intraluminal média na extremidade arterial menos a pressão média na extremidade venosa. A resistência  $R$  geralmente depende das dimensões do vaso (diâmetro e comprimento), da superfície e da viscosidade dinâmica do fluido (Douglas, 1998).

Segundo os princípios acima, o fluxo pode ser descrito através de uma equação matemática pela fórmula:

$$Fluxo = \frac{\Delta P \cdot \pi \cdot r^4}{8 \cdot \eta \cdot L}$$

onde  $\Delta P$  é a diferença de pressão entre as extremidades do tubo;  $r$ , o raio do tubo;  $\eta$ , o coeficiente de viscosidade do líquido e  $L$ , o comprimento do tubo (Douglas, 1998). Através da equação acima, observa-se que o fluxo varia de forma diretamente proporcional à quarta potência do raio. Desta forma, o fluxo sanguíneo é acentuadamente afetado por pequenas alterações no calibre vascular. Naturalmente, o sangue sempre flui das áreas de alta pressão para as de baixa pressão.

O fluxo sanguíneo nos vasos é normalmente laminar, ou seja, o sangue flui de maneira linear, paralelo à parede vascular. Quando a velocidade sanguínea aumenta até ultrapassar a velocidade crítica, o fluxo torna-se turbulento. A probabilidade de turbulência também está relacionada com o diâmetro do vaso e a viscosidade do sangue.

No interior do vaso, uma camada muito fina de sangue em contato com a parede do vaso não se move, devido à maior resistência. As camadas mais internas de células sanguíneas deslizam com velocidade progressivamente maior que as mais externas. Assim, a velocidade mais alta é observada no centro do vaso.

Fluxo sanguíneo é diferente de velocidade média. A velocidade é o deslocamento por unidade de tempo, enquanto que o fluxo é o volume por unidade de tempo.

A velocidade ( $V$ ) é proporcional ao Fluxo ( $F$ ) dividido pela área do vaso ( $A$ ), ou seja,  $V = F/A$ . Desta forma, a um fluxo constante, o sangue flui mais lentamente pelos capilares do que pelas artérias devido à grande área total de corte transversal do leito vascular capilar.

Quando a pressão interna dos vasos cai abaixo da pressão tecidual (pequena pressão exercida nos vasos pelos tecidos que os circundam) os pequenos vasos sofrem colapso. Nos tecidos em repouso, a pressão em muitos capilares é baixa devido à constrição dos esfíncteres pré-capilares e metacapilares, com muito desses capilares estando colapsados. Nessa situação, apesar da pressão não ser zero, não existe fluxo sanguíneo neste vaso; assim, o sangue flui pelos vasos preferenciais das arteríolas para as vênulas (anastomoses arterio-venosas). Nos tecidos ativos, ocorre dilatação dos metacapilares e dos esfíncteres pré-capilares. A pressão intracapilar aumenta e o sangue flui por todos os capilares. O relaxamento da musculatura lisa dos esfíncteres pré-capilares se deve à ação de metabólitos vasodilatadores formados no tecido ativo e possivelmente também à diminuição na atividade dos nervos simpáticos vasoconstritores que inervam o músculo liso. Assim, o fluxo sanguíneo tecidual não é constante. Um mesmo tecido pode apresentar diferentes valores de fluxo, de acordo com o seu nível funcional (repouso ou atividades diversas, como exemplo) (Douglas, 1998).

A regulação do fluxo sanguíneo local é normalmente de natureza intrínseca, que ocorre independente dos fatores neurogênicos ou humorais sistêmicos. Existem alguns fatores de ajuste do fluxo e, dependendo do tecido, um ou outro predomina.

Um dos fatores de ajuste é o metabólico ou humoral, onde a síntese ou liberação de substâncias vasoativas agem modificando o tônus vascular arteriolar e metaarteriolar. Quando o fluxo sanguíneo diminui, os metabólitos vasodilatadores ( $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $K^+$ , histamina, como exemplos) se acumulam e os vasos se dilatam; quando o fluxo aumenta, eles tendem a ser removidos.

A hiperemia funcional acontece quando aumenta a atividade metabólica de um tecido, aumentando proporcionalmente seu fluxo sanguíneo (Douglas, 1998). Já a hiperemia reativa pode ser observada logo após cessar a interrupção temporária do fluxo através de uma manobra de compressão ou oclusão arterial,

como exemplos. Neste caso, pode ocorrer um acúmulo de catabólitos no local, promovendo uma vasodilatação e um aumento do fluxo na região.

Outro mecanismo de ajuste da microcirculação é o miogênico, no qual a elevação da pressão faz com que os vasos se distendam e as fibras musculares lisas vasculares que os circundam entrem em contração (Douglas, 1998).

O fluxo sanguíneo pode ser regulado também por reflexos locais. O fluxo sanguíneo da mucosa oral é relativamente constante, mas estímulos mecânicos podem acarretar uma mudança significativa. A vasodilatação que ocorre é produzida por um mecanismo de natureza reflexa, como do tipo axônica. Assim, há uma vasodilatação superficial quando são estimuladas as fibras nervosas aferentes, até atingir uma ramificação do neurônio, e logo retornando os impulsos eferentes do mesmo neurônio até chegar às terminações vasomotoras. O estímulo desse reflexo provavelmente é a histamina, entre outras substâncias, que tem importância na regulação do fluxo sanguíneo e na produção do eritema. Além da pele, o reflexo axônico também é observado na polpa dentária, periodonto e gengiva (Douglas, 1998).

### **3.4 Fisiopatologia gengival na inflamação**

Quando um tecido íntegro sofre uma agressão, seja de natureza infecciosa ou não, ele responde buscando restaurar a integridade perdida. Esta complexa resposta do organismo é chamada inflamação. Com o processo inflamatório, há o acúmulo e ativação de células fagocitárias no local da injúria, contribuindo para a eliminação dos microorganismos e resultando na reparação tecidual.

A inflamação tem início na microcirculação. Como foi dito anteriormente, as arteríolas, juntamente com os esfíncteres pré-capilares, são importantes na regulação do fluxo na microcirculação. Já as vênulas, que se seguem aos capilares, são os sítios principais de controle do processo inflamatório. Nas vênulas ocorre o maior aumento da permeabilidade e o acúmulo de células inflamatórias no tecido.

A primeira resposta da inflamação aguda é vinda do sistema nervoso central, é de curta duração e é por meio dela que a adrenalina liberada age na musculatura lisa vascular, causando uma vasoconstrição arteriolar (Collins, 2000).



Segundo Gregori (1996), nos instantes iniciais da inflamação observa-se: redução no fluxo e velocidade sanguínea regional, aumento da pressão osmótica, variações no diâmetro do vaso e a aglutinação de hemácias.

A segunda resposta promove a vasodilatação primeiramente das arteríolas (devido ao relaxamento dos músculos lisos que envolvem estes vasos) e a abertura de novos leitos capilares, aumentando o fluxo sanguíneo e trazendo mais sangue para a área (Kerdvongbundit *et al.*, 2003; Collins, 2000). Estes acontecimentos levam o aparecimento do rubor e calor.

Na terceira resposta, observam-se o aumento da permeabilidade vascular, principalmente das vênulas, em conseqüências da abertura das junções entre as células epiteliais, com aumento do exsudato, menor velocidade sanguínea e maior concentração das hemácias (processo denominado *estase*), resultando no aumento da viscosidade sanguínea (Collins, 2000). Quando há o desenvolvimento da *estase*, começa-se a ver uma migração de leucócitos, em especial os neutrófilos, ao longo do sistema vascular, principalmente das vênulas pós-capilares próximas ao local. O fluxo de neutrófilos é seguido da migração de monócitos que se transformam em macrófagos no tecido, aumentando o número dessas células no foco inflamatório.

Se a causa da agressão inicial não for totalmente eliminada, a inflamação aguda vai, aos poucos, dando lugar à inflamação crônica. A causa básica da inflamação crônica é a persistência do fator etiológico. A inflamação crônica tem duração mais longa e ocorre simultaneamente à inflamação aguda, destruição tecidual e tentativa de reparação ao longo do tempo, associada histologicamente à presença de linfócitos (principalmente os linfócitos Th1, que liberam citocinas ativadoras de macrófagos e estes se tornam muito mais potentes para eliminar microorganismos)(Collins, 2000). Os macrófagos produzem fatores de crescimento e proliferação celular. Estes fatores induzem: i) proliferação e migração de fibroblastos; ii) neoformação de capilares sanguíneos; iii) síntese de colágeno. Assim, essas células são úteis no processo de reparo dos tecidos lesados, associando a inflamação crônica com a destruição irreversível do tecido normal e substituição por tecido fibroso. Segundo Zoellner *et al.* (2002), é no processo inflamatório crônico que mais se observa os fenômenos de angiogênese e dilatação dos capilares.

Estes processos inflamatórios são causados pela liberação de substâncias no local da inflamação, chamados de mediadores químicos. Estes mediadores são produzidos em consequência da ativação dos mastócitos e macrófagos presentes no local da inflamação. Os mastócitos presentes no tecido conjuntivo ao redor dos vasos sanguíneos, quando ativados, desgranulam e liberam a histamina. A ativação de mastócitos e macrófagos induz, ainda, a síntese de mediadores lipídicos, como as prostaglandinas e os leucotrienos. As prostaglandinas têm efeito vasodilatador potencializando o edema. Os leucotrienos atuam no aumento da permeabilidade vascular (Collins, 2000).

A importância do aumento da permeabilidade vascular se deve ao fato de trazer para o foco inflamatório os componentes plasmáticos que podem ajudar na eliminação do microorganismo.

Um dos estímulos ou causas que acarretam a alteração no fluxo gengival é a inflamação local, advinda principalmente da gengivite e periodontite.

Segundo Lindhe (1999), existe certa dificuldade em se aplicar no tecido gengival as fases clássicas tanto da inflamação aguda quanto da crônica.

As gengivas normais são consideradas, teoricamente, livres de inflamação histológica. Entretanto, segundo Lindhe (1999), esses casos são encontrados apenas quando há um controle diário da placa supervisionado cuidadosamente por várias semanas. Assim, na prática, podemos encontrar a “gengiva clinicamente sadia”. A aparência clínica da gengiva normal e da gengiva clinicamente sadia é semelhante; entretanto, a gengiva encontrada na prática clínica apresenta leve grau de inflamação, exibindo um infiltrado inflamatório como característica histológica.

Após 24 horas de interação do tecido com o agente agressor (como exemplo, o biofilme dental), já ocorrem alterações vasculares decorrentes do processo inflamatório. A intensidade do agente agressor e a capacidade de resposta do tecido afetado determinam as mudanças vasculares, com alterações no fluxo sanguíneo e no leito vascular. Pode ser observado um aumento na permeabilidade da rede microvascular. Os leucócitos do sistema vascular começam a migrar, principalmente os neutrófilos, em direção ao sulco gengival.

Este é o estágio inicial da gengivite, que pode ser confundida com a gengiva clinicamente sadia. (Lindhe, 1999).

A fase precoce da gengivite se dá após aproximadamente sete dias de acúmulo de biofilme, onde os vasos presentes abaixo do epitélio juncional permanecem dilatados. Entretanto, algumas redes capilares, que anteriormente estavam inativas, se abrem aumentando o número total de vasos. Os linfócitos e neutrófilos são os leucócitos predominantes no infiltrado, com poucos plasmócitos presentes (Lindhe, 1999).

Entre 10 e 20 dias de acúmulo de placa, na maioria das pessoas pode-se observar o estabelecimento dos sinais clínicos da gengivite. A gengivite caracteriza-se por vermelhidão e tumefação gengival e um aumento da tendência ao sangramento à sondagem. Entretanto, as alterações histológicas nos estágios iniciais da gengivite são mais acentuadas que as alterações clínicas. Na gengivite precoce, as alterações inflamatórias ainda agudas têm duração indeterminada (Lindhe, 1999).

A fase seguinte do processo inflamatório gengival é a gengivite estabelecida que se baseia em condições histopatológicas da gengivite crônica, com aumento do edema, aumento na exsudação do fluido gengival e na migração dos leucócitos para os tecidos e sulco gengival, com densidade de plasmócitos de 10% a 30% do infiltrado leucocitário. Entretanto, não há perda óssea. Esta lesão pode tornar-se estável e não progredir por meses ou anos ou pode evoluir para uma lesão destrutiva progressiva (periodontite) (Lindhe, 1999).

Na saúde periodontal, a vasculatura gengival é composta por vasos sanguíneos relativamente retos, arranjados em uma rede regular, repetitiva e em camadas (Nuki & Hock, 1974). Entretanto, tal modelo é apenas encontrado em gengivas com ausência de inflamação histológica. Mudanças vasculares são essenciais para a iniciação tanto do processo inflamatório agudo quanto do crônico. As unidades capilares da gengiva marginal livre estão entre os primeiros vasos afetados pela inflamação (Nuki & Hock, 1974). Segundo Zoellner, em 2002, a íntima ligação dos capilares e vênulas na região sulcular com o epitélio do sulco gengival é um fator importante nas alterações vasculares durante a gengivite e a periodontite e está também relacionada com a formação do fluido do sulco, a emigração de leucócitos defensivos e o transporte vascular de

bactérias irritantes dentro do tecido. Assim, as mudanças vasculares observadas afetam primariamente o sulco gengival e a gengiva marginal.

Na gengiva clinicamente sadia, na qual se observa pouco infiltrado leucocitário, a rede vascular subjacente ao epitélio marginal assume algum contorno, com alguns *loops*, os quais se dispõem paralelamente ao contorno da margem gengival, constituindo o chamado plexo marginal. Entretanto, a rede de vasos sanguíneos mantém-se inalterada, seguindo um plano paralelo ao epitélio do sulco e perpendicular a margem gengival. Na inflamação clínica leve, observa-se que as vênulas tornam-se mais dilatadas e as arteríolas mais contorcidas, estreitas e alongadas. Na inflamação clínica moderada, a rede vascular desaparece e os *loops* se estendem para a gengiva livre. Assim, o plexo marginal, facilmente visível na gengiva sadia, não pode ser identificado na gengiva inflamada. Quando a inflamação persiste, vasos de 20 a 30  $\mu\text{m}$  de largura formam largos *loops* tortuosos eferentes, estendendo-se da margem gengival à gengiva livre e inserida. Vasos aferentes, de 5 a 9  $\mu\text{m}$  de largura, correm paralelos e entre as extremidades de cada *loop*. Com o aumento da inflamação ocorre não somente mudanças no comprimento e largura dos capilares e vênulas pós-capilares, mas também a redução no número de vasos dispostos paralelamente à gengiva marginal (Hock & Nuki, 1975; Hock & Nuki, 1971; Hansson *et al.*, 1968). Segundo Hock & Nuki (1975; 1971), os vasos, uma vez alongados, podem não mais reverter essa conformação, retornando à morfologia de uma gengiva clínica e histologicamente livre de inflamação. Assim, as alterações vasculares acarretadas pelo processo inflamatório podem ser irreversíveis.

### **3. 5 Alterações do fluxo gengival na inflamação**

Hock *et al.* (1980) sugeriram que as alterações vasculares encontradas na doença periodontal podem indicar mudanças funcionais no fluxo sanguíneo periodontal. Mas a relação do fluxo sanguíneo gengival com a inflamação ainda é um assunto contraditório na literatura, conforme pode ser observado na seqüência.

Kaplan *et al.* (1982), Kerdvongbundit *et al.* (2002a), Kerdvongbundit *et al.* (2003) observaram aumento do fluxo sanguíneo gengival durante o processo inflamatório.

Kaplan *et al.* (1982), mensuraram o fluxo sanguíneo na gengiva e no osso alveolar de 12 cães *beagles* usando a administração de micro-esferas radioativas. Os autores puderam observar que o fluxo sanguíneo tanto na gengiva, quanto no osso alveolar foram menores nos cães com mínima doença periodontal (<10% de perda óssea) comparado ao fluxo dos cães com doença moderada e severa, os quais apresentaram fluxo 250% a 400% maior.

Kerdvongbundit *et al.* (2002a), realizaram um estudo com 60 voluntários, os quais foram divididos em três grupos: i) grupo gengiva saudável ( $n = 20$ ); ii) grupo com gengivite moderada ( $n = 20$ ); iii) grupo com periodontite ( $n = 20$ ). Neste estudo, foi avaliado e comparado o fluxo sanguíneo gengival dos seis dentes anteriores superiores, através da Fluxometria Laser Doppler. Os autores concluíram que, no processo inflamatório gengival, o fluxo sanguíneo é maior, comparado a gengiva saudável. Entretanto, a progressão da doença não alterou o fluxo sanguíneo.

Em 2003, Kerdvongbundit *et al.* avaliaram o fluxo sanguíneo gengival através da Fluxometria Laser Doppler em 12 pacientes exibindo gengiva clinicamente sadia e em 12 pacientes com gengivite moderada. Nos dois grupos foi realizada raspagem periodontal e orientação de higiene bucal. As medições foram antes do tratamento, um mês e três meses após o tratamento. A conclusão a que os autores chegaram é que o tratamento periodontal diminuiu a inflamação gengival no grupo de gengivite e a diminuição do fluxo sanguíneo gengival foi proporcional à diminuição da inflamação.

Entretanto, Hock *et al.* (1980) encontraram em sua pesquisa que o fluxo sanguíneo dos capilares não varia significativamente com a inflamação. Nesta pesquisa, os autores utilizaram o método de injeção de micro-esferas radioativas em quatro cães para comparar o fluxo sanguíneo na gengiva inserida, interdental e mucosa alveolar, tanto em processo inflamatório quanto na saúde gengival. A conclusão que os autores chegaram é que a inflamação gengival não altera significativamente o fluxo sanguíneo.

Já Matheny *et al.* (1993), observaram diminuição estatisticamente significativa do fluxo sanguíneo gengival usando Fluxometria Laser Doppler após

indução de gengivite experimental em 10 voluntários. Nesta pesquisa, os autores avaliaram a saúde gengival antes e após o período experimental, constatando a presença de gengivite após 12-16 dias de suspensão da higiene oral. A conclusão dada pelos autores é que durante a gengivite há um aumento no número de vasos superficiais e diminuição na porcentagem de vasos exibindo fluxo ativo.

## 4 FLUXOMETRIA LASER DOPPLER

Atualmente, a injeção de microesferas fluorescentes e contagem das esferas por volume é o *gold standard* quando medições semi-quantitativas de fluxo são desejadas. No entanto, esta técnica é invasiva, destrutiva e somente aplicável em modelos animais. Uma alternativa para o estudo da microcirculação é a fluxometria laser Doppler (FLD). A FLD tem como características favoráveis a possibilidade de monitoramento do fluxo continuamente, em tempo real, e o registro instantâneo das variações de fluxo. Também permite comparar fluxos de uma mesma região em momentos diferentes. Além disso, é não-invasiva e não oferece riscos aos tecidos biológicos, podendo ser seguramente usada em humanos.

A FLD é uma técnica de medição do fluxo sangüíneo em uma determinada região do organismo pela interação da radiação *laser*. O efeito Doppler foi observado e descrito pelo físico austríaco J. C. Doppler, em 1842, o qual postulou que a freqüência de ondas acústicas poderia mudar estando a fonte ou o observador em movimento.

A FLD envia radiação óptica monocromática e coerente, através de uma fibra óptica, ao tecido alvo e coleta a radiação espalhada pelo tecido por meio de outra fibra óptica. Ao incidir sobre um tecido biológico, parte da radiação laser é refletida e parte é transmitida. A parcela de radiação que penetra é espalhada e absorvida pela matriz tecidual. Os fótons incidem sobre células sangüíneas em movimento (principalmente as hemácias), que espalham a radiação com uma freqüência diferente do incidente (efeito Doppler), e esta diferença é proporcional à velocidade da hemácia<sup>1</sup>. Outros fótons são espalhados por estruturas estáticas, não alterando seu comprimento de onda. Uma porção da radiação retroespalhada é guiada pela fibra óptica receptora e é detectada por um fotodetector, convertendo essa radiação em sinais elétricos, denominados fotocorrente. O fluxo sangüíneo do tecido alvo é então calculado, processando as

---

<sup>1</sup> <http://www.moor.co.uk>

informações contidas no sinal de fotocorrente. Este sinal pode ser dividido em corrente constante (CC), que é proporcional à intensidade da radiação total retro-espalhada e em corrente alternante (AC), referente à radiação retro-espalhada pelas hemácias (Salles, 2006).

Como as células sanguíneas circulam em várias direções no tecido investigado, possuem velocidades diferentes, e são em número elevado no volume investigado, elas produzem diferentes e numerosos desvios em frequência (ou comprimentos de onda). Assim, a porção AC não tem uma frequência única, mas se estende em uma faixa entre 0 a aproximadamente 30kHz (Salles, 2006). Tal distribuição é denominada densidade espectral de potência (DEP) do sinal Doppler. A frequência média da DEP é proporcional à velocidade média das hemácias, a área da DEP é proporcional à concentração de hemácias e o produto entre a frequência média e a concentração é proporcional ao fluxo.

A FLD normalmente usa radiação gerada por um laser de HeNe (Hélio-Neônio) com comprimento de onda em 632,8 nm (radiação visível) ou lasers de diodo, emitindo entre 780 nm a 820 nm (infravermelho próximo), com potências entre 1 mW a 3 mW. Os fluxômetros convencionais são sensíveis (em tecidos moles) a uma distância de aproximadamente 1 mm e volume de 1 mm<sup>3</sup>, monitorando o fluxo sanguíneo em vasos de pequeno calibre (capilares) na superfície da pele e o fluxo das arteríolas e vênulas da camada inferior da pele<sup>1</sup>.

Um dos trabalhos precursores do emprego da FLD como método de estudo da dinâmica microvascular gengival foi realizado por Baab *et al.* (1986). Os pesquisadores realizaram um estudo em 10 voluntários utilizando a FLD. O fluxo gengival foi medido, através de um suporte de resina acrílica para fixação da sonda, na papila interdental, na gengiva livre e inserida e na mucosa alveolar, em testes de calor, frio, pressão e força oclusal. Os autores observaram variações no fluxo sanguíneo em função dos diferentes tipos de tecido observados e concluíram que a FLD pode ser uma técnica promissora no estudo do fluxo sanguíneo gengival.

Desde então, a FLD tem sido utilizada em outros trabalhos para o estudo da microcirculação gengival (Develioglu *et al.*, 2006; Kerdvongbundit *et al.*, 2002b; Matsuki *et al.*, 2001; Hoke *et al.*, 1994; Atkins & Tuncay, 1993; Boutault *et*

---

<sup>1</sup> <http://www.moor.co.uk>



*al.*, 1989) associada ao efeito do fluxo sanguíneo gengival na pós-cirurgia periodontal (Donos *et al.*, 2005), na reabilitação protética (Vág & Fazekas, 2002), na estimulação do periosteio (Ambrosini *et al.*, 2002) e nas forças ortodônticas (Yamaguchi *et al.*, 1991).

O fluxo é proporcional ao produto da velocidade média pela concentração de hemácias no volume pesquisado pela FLD. Na prática, este volume é desconhecido, pois depende de conhecimentos como as características das fibras ópticas emissora e coletora, da separação entre elas, da potência e comprimento de onda do laser, das características ópticas do tecido e da sensibilidade do instrumento (Salles, 2006). Assim, não é possível realizar medições de valor absoluto de fluxo, mas suas variações. Portanto, o fluxo medido é calibrado em Unidades Arbitrárias (UA), e é uma quantidade proporcional ao fluxo.

Mesmo controlando algumas variáveis, como posição do paciente, ausência de medicação, pacientes não fumantes e com pressão sistêmica regulada, calibragem do FLD e posição padronizada da sonda, uma das dificuldades em se utilizar a técnica é a alta variabilidade do fluxo entre indivíduos. Estas podem ser ocasionadas em virtude das variações individuais da forma e volume da gengiva, características ópticas do tecido, estado emocional, resposta neuromuscular e cor da pele, como exemplos (Nogueira, 2003).

A FLD mede baixas velocidades, da ordem de 0,01 mm/s até 10 mm/s, motivo pelos quais pequenos movimentos entre a sonda e o tecido examinado perturbam a medição. Por isso, torna-se necessário utilizar mecanismos para fixar a sonda na posição correta, sem que ela sofra movimentos.

Um dos questionamentos quanto ao uso da técnica no tecido gengival é o modo ideal de fixação da sonda. O dispositivo utilizado não pode exercer pressão sobre o tecido, o que modificaria os resultados obtidos, uma vez que o estímulo mecânico pode alterar o fluxo sanguíneo.

Para a mensuração do fluxo sanguíneo no sulco gengival, segundo Hinrichs *et al.* (1995b), independe a utilização de um mecanismo de fixação da sonda para a leitura fiel do laser Doppler. Neste mesmo ano, Hinrichs *et al.* (1995a), compararam os dados obtidos pela Fluxometria Laser Doppler e os obtidos pelo diagnóstico periodontal tradicional nos efeitos da terapia não-

cirúrgica periodontal. Neste estudo, os autores não utilizaram um dispositivo de fixação da sonda, mas esta foi posicionada na base do sulco e estabilizada manualmente pelo examinador apoiando a superfície lateral da sonda contra a coroa e raiz do dente específico.

Um método de estabilização mecânica da sonda do fluxômetro encontrado na literatura é a fixação da sonda usando um dispositivo feito de resina acrílica. Para isso, realiza-se uma moldagem com alginato para obter o modelo em gesso do paciente. Sobre este modelo, após realizar-se um alívio com cera, é construído o suporte de resina acrílica. Assim, este dispositivo não entra em contato com o tecido gengival do paciente (Baab et al.,1986; Baab e Öberg,1987; Donos et al.,2005; Patiño-Marín et al.,2005). Outro método utilizado é a moldagem de silicona, na qual se realiza orifícios para a inserção da fibra óptica. (Vág & Fazekas, 2002; Gleissner *et al.*, 2006).

## 5 SUJEITOS, MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Pacientes

Esta pesquisa foi submetida à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (CEP-FOUSP) e aprovada com base em parecer do relator (protocolo 96/06) (ANEXO B).

A amostra compôs-se de 19 voluntários, que estavam de acordo com os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

(a) Critério de inclusão: ambos os gêneros, idade entre 18 a 37 anos, ausência de doenças sistêmicas, sem hipertensão arterial, presença dos dentes anteriores inferiores e que leram, concordaram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

(b) Critério de exclusão: gravidez, evidência de doenças genéticas, uso de drogas que afetem a circulação sanguínea, estar em tratamento de doença periodontal ou gengivite, epilepsia, fumantes e transplantados renais.

Os registros de fluxo foram realizados na FOUSP (Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo), após os voluntários ter lido, concordado e assinado o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO A).

Foi recomendado aos voluntários que não escovassem os dentes nos últimos 60 minutos antes da consulta, para não resultar um aumento temporário do fluxo sanguíneo gengival (Perry *at al.*, 1997; Gleissner, 2006).

Cada voluntário foi posicionado em uma cadeira odontológica em uma posição confortável e orientado a não se mover durante as medições.

## 5.2 Material e Métodos

### Especificações do equipamento

Para realização desta pesquisa, utilizou-se o Fluxômetro Laser Doppler da Moor Instruments (Axminster, Inglaterra), modelo moorLAB™, equipado com um laser de diodo emitindo no comprimento de onda de 780 nm (infravermelho), com potência de aproximadamente 1 mW e diâmetro da fibra óptica de 0,25 mm. O laser do fluxômetro pertence à classe 3A de risco, portanto é seguro se visualizado sem dispositivos ópticos magnificadores (FIG.5.1).

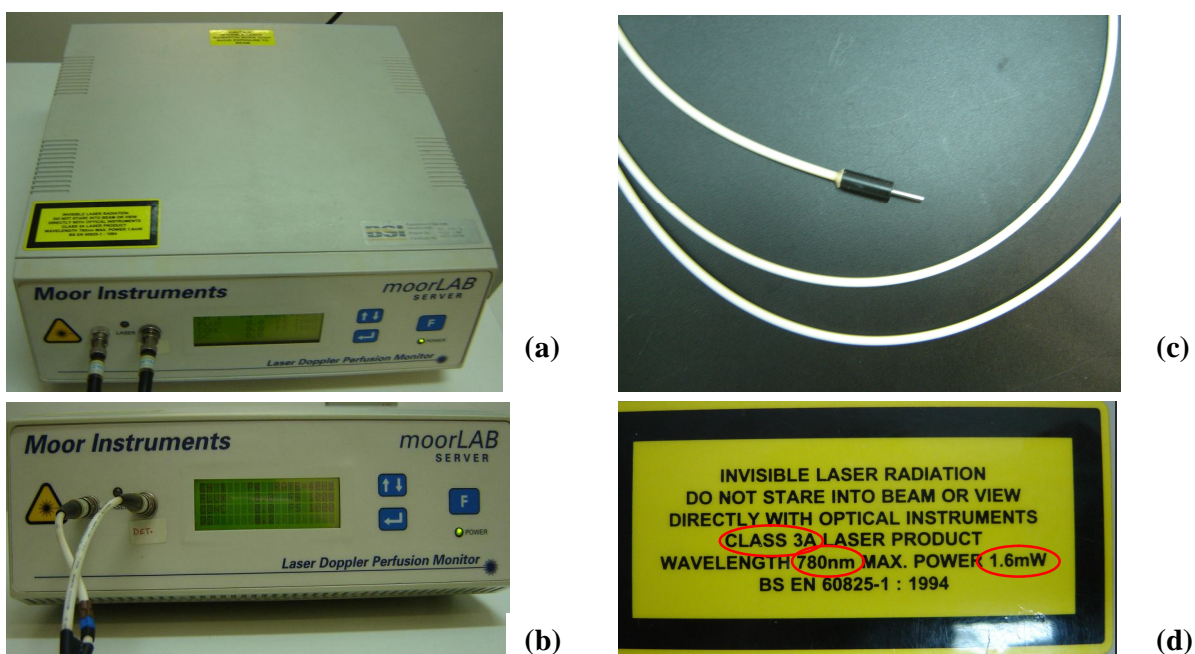


FIGURA 5.1: Equipamento utilizado: (a) Vista de cima do equipamento (b) Vista frontal do equipamento; (c) Sonda do fluxômetro; (d) Etiqueta com as especificações do equipamento.

## **Primeira sessão**

A pesquisa consistiu em duas sessões. Na primeira sessão, foram realizados os seguintes procedimentos:

### **a) Exame periodontal convencional**

No primeiro contato com o paciente voluntário, foi realizada uma anamnese, objetivando verificar se o paciente fazia uso de algum medicamento e qual era o estado de saúde do mesmo.

Também foi determinado para cada voluntário o índice gengival (IG) (Løe & Silness, 1963; Løe, 1967), nível clínico de inserção, profundidade clínica de sondagem (Lindhe, 1999) e observação do grau de mobilidade dos elementos 32 e 42.

A profundidade de bolsa foi avaliada da gengiva marginal à base da bolsa periodontal, medida através de uma sonda periodontal graduada em mm, considerando como saudável, os sulcos  $\leq 3$ mm (Lindhe, 1999).

O nível de inserção foi avaliado da junção esmalte-cimento ao fundo da bolsa ou sulco gengival, através de uma sonda milimetrada, considerando como saudável, uma perda de inserção  $< 2$ mm.

Pelo índice gengival, grau 0 é considerado gengiva clinicamente sadia; grau 1: inflamação gengival leve; grau 2: inflamação gengival moderada e grau 3 : inflamação gengival severa.

O índice de Løe (Løe & Silness, 1963; Løe, 1967) foi modificado para obter-se o índice gengival apenas da face vestibular dos elementos 32 e 42, local este que, quando saudável ou em processo inflamatório, proporciona maiores alterações no ponto de registro escolhido por esta pesquisa.

### **b) Confecção do suporte da sonda do fluxômetro**

Ao concluir a anamnese, foi realizada uma moldagem parcial ântero-inferior com uma moldeira parcial perfurada de alumínio preenchida com a pasta pesada da silicona de condensação (Optosil®) para obtenção do suporte da sonda.

Após a polimerização do material, o molde de silicona foi retirado da moldeira e realizou-se ajustes com um bisturi para melhor adaptação na cavidade bucal de maneira que ela apresentasse as seguintes especificações: extensão méso-distal da face distal do canino inferior esquerdo à face distal do canino inferior direito; alívio na região gengival vestibular de aproximadamente 1mm, para impedir o contato do material de moldagem com a gengiva e realização de um recorte horizontal na porção localizada pela língua.

A parte interna do molde, foi demarcada com uma sonda periodontal milimetrada na região da gengiva inserida dos elementos 32 e 42 na linha média de cada um dos dentes. Com uma broca metálica, de corte em espiral de 1,5mm de diâmetro e comprimento de 10mm, manualmente, foram realizados dois orifícios na localização dada pela sonda milimetrada, até trespassar a porção vestibular, para a inserção e fixação da sonda do fluxômetro, entrando justa nesta perfuração, sem sinal algum de instabilidade. A sonda deve posicionar-se perpendicularmente ao tecido gengival, contudo, sem tocar o mesmo. Para isso, ao colocar a sonda do fluxômetro no suporte, primeiramente ela deve tocar o tecido e com o auxílio de uma sonda periodontal milimetrada, realiza-se o recuo de 1mm. Por este motivo, em alguns casos, foi necessário fazer um recorte na porção externa anterior do suporte, nos casos em que a sonda ficasse a uma distância da gengiva maior que 1mm. Vale salientar que esta porção anterior, por outro lado, deveria ter uma espessura mínima capaz de suportar a sonda do fluxômetro, sem que houvesse a inclinação da mesma.

Na FIG. 5.2 mostra-se a seqüência da confecção do suporte da sonda.

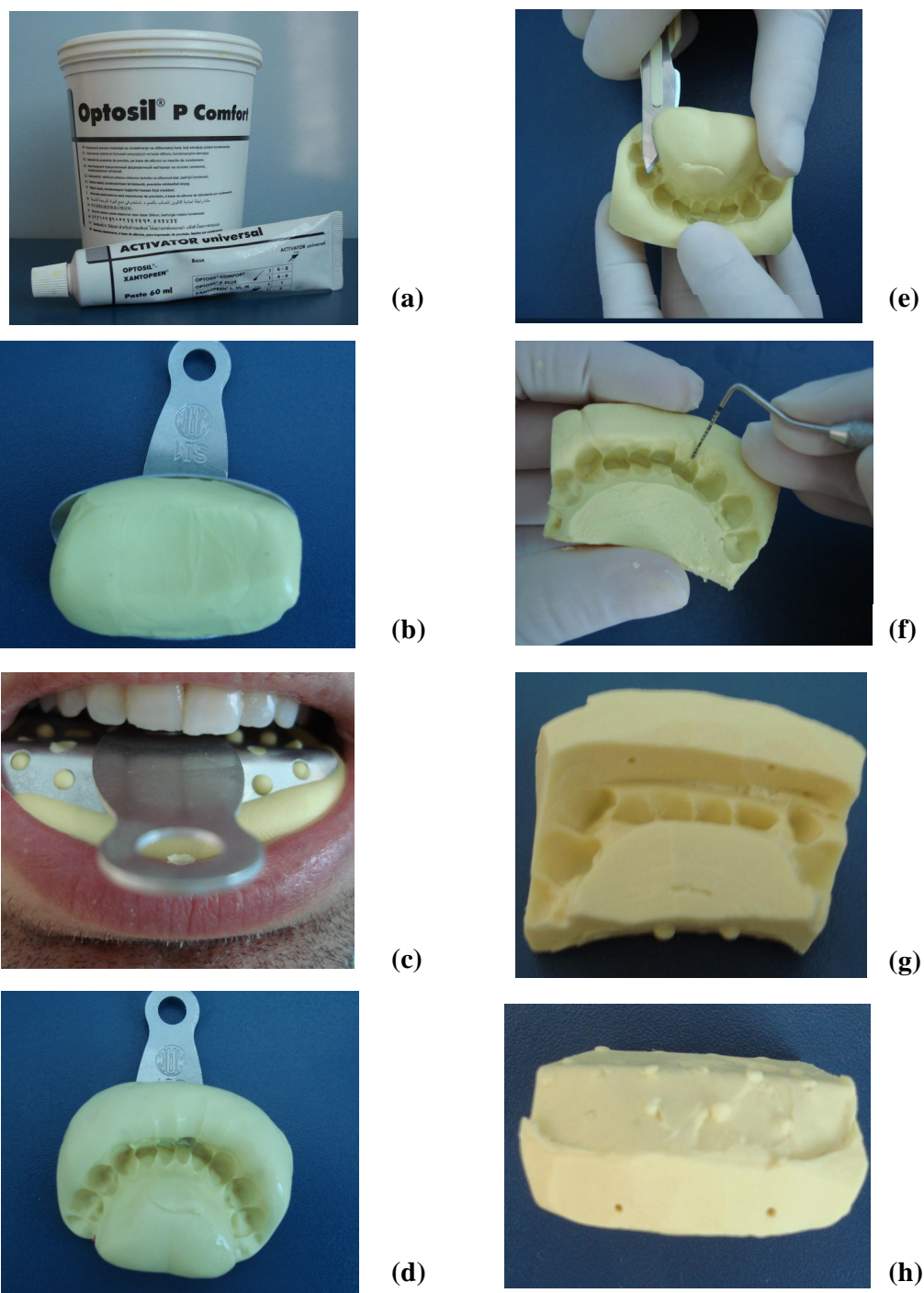


FIGURA 5.2: Processo de confecção do suporte de silicona: (a) Material usado (Optosil®/ Xantopren®); (b) Preenchimento do molde com silicona; (c) Moldagem; (d) Suporte moldado; (e) Remoção do molde da moldeira e recorte horizontal da porção lingual; (f) marcação da localização da perfuração do molde na altura da gengiva inserida, no centro dos dentes 32 e 42; (g) alívio na região vestibular, para que o material não comprima o tecido gengival; (h) vista frontal do suporte.

### c) Registros na gengiva inserida do elemento 32

Foram colhidos três registros de fluxo sanguíneo na gengiva inserida do dente 32. Em cada registro, foi obtido o valor do fluxo basal por 1 minuto, mais 22 segundos de compressão da mucosa alveolar com uma haste flexível de algodão (cotonete®) a aproximadamente 3mm apical do ponto de fixação da sonda, com a observação da ausência de pulsabilidade arteriolar e mais 1 minuto de fluxo pós-compressão (retorno aos valores próximos do basal).

A cada registro, o conjunto suporte-sonda era retirado da boca do paciente e removido os possíveis restos de silicone da ponta da sonda com um jato de ar. O conjunto suporte-sonda era levado em posição juntamente. Houve um intervalo de aproximadamente 1 minuto entre cada registro. Na FIG.5.3 é mostrado o conjunto suporte-sonda em posição na cavidade bucal, na região do dente 32, enquanto que na FIG.5.4 apresenta-se uma amostra de um registro típico feito na região do dente 32, com a manobra de compressão.



FIGURA 5.3: Sonda do fluxômetro no suporte, na região da gengiva inserida do dente 32



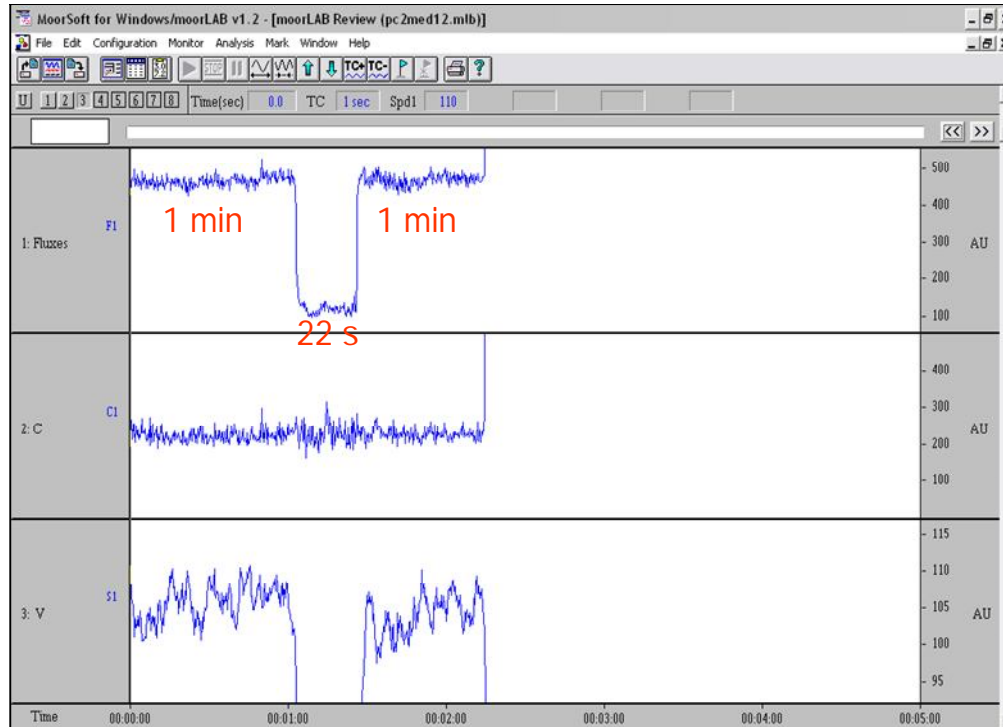


FIGURA 5.4: Registro do fluxo (linha superior), concentração de hemácias (linha intermediária) e velocidade de hemácias (linha inferior), durante a manobra de compressão.

#### d) Registros na gengiva inserida do elemento 42

Foram colhidos também três registros de fluxo sanguíneo na gengiva inserida do dente 42 (região homóloga). Em cada registro, foi obtido o valor basal por 3 minutos, sem a manobra de compressão.

A cada registro, o conjunto suporte-sonda era retirado da boca do paciente e removido os possíveis restos de silicone da ponta da sonda com um jato de ar. O conjunto suporte-sonda era levado em posição juntamente. Houve um intervalo de aproximadamente 1 minuto entre cada registro. Na FIG.5.5 mostra-se o conjunto suporte-sonda em posição na cavidade bucal, na região do dente 42, enquanto que na FIG.5.6 é apresentada uma amostra de um registro típico feito na região do dente 42, durante o registro controle .

Vale salientar que durante os registros, tanto no lado de compressão quanto no lado controle, não foi utilizado afastador bucal. O afastador foi utilizado apenas nas figuras aqui mostradas para facilitar a visualização da imagem, pois durante as medições, ele acabava alterando o fluxo sanguíneo local.



FIGURA 5.5: Sonda do fluxômetro no suporte, na região da gengiva inserida do dente 42

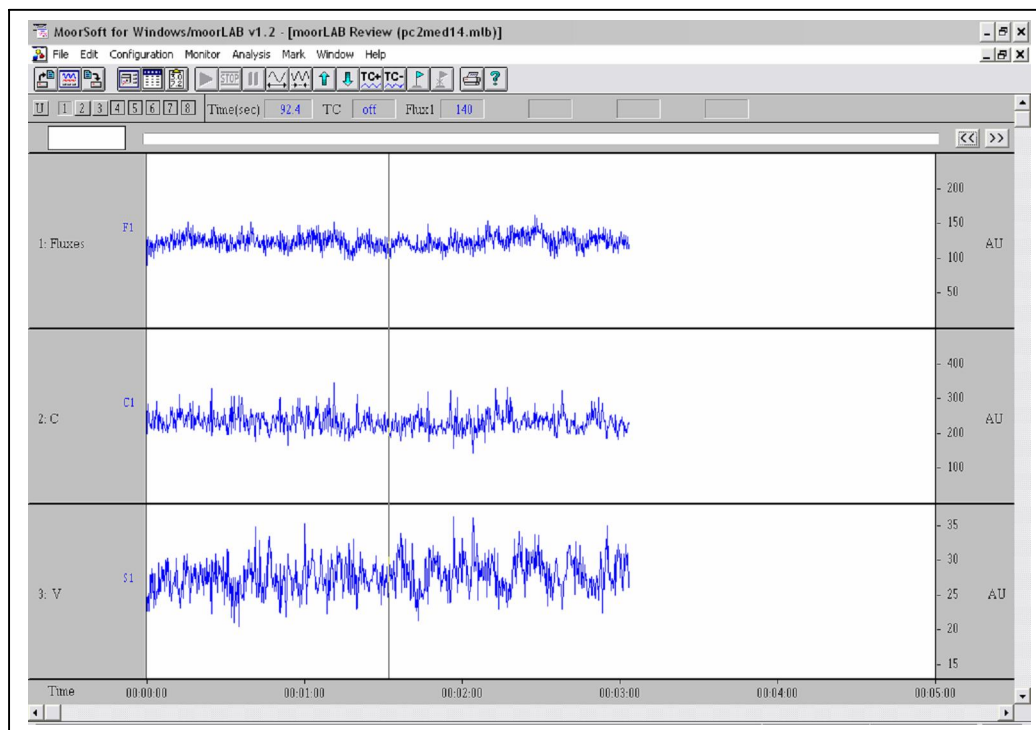


FIGURA 5.6: Registro do fluxo (linha superior), concentração de hemácias (linha intermediária) e velocidade de hemácias (linha inferior), durante o registro controle.

### **e) Procedimento periodontal de raspagem, alisamento e polimento dental**

Por fim, no término da primeira sessão, foi realizado o procedimento periodontal convencional de raspagem e alisamento dental através de curetas periodontais e polimento dental através de taças de borracha e pasta profilática. Este procedimento foi realizado apenas no grupo de pacientes com gengiva saudável, objetivando evidenciar uma possível inflamação gengival de origem traumática, pois o grupo de gengivite já apresentava um processo inflamatório gengival instalado.

### **Segunda sessão**

Na segunda sessão, realizada apenas no grupo saudável, as etapas c e d da primeira sessão foram repetidas para posterior comparação.

## **5.3 Análise dos dados**

Para ambos os grupos, os registros de fluxo das regiões controle e compressão foram analisados usando o aplicativo MoorSoft for Windows/moorLab V. 1.2 (2001), Moor Instruments, Inglaterra. O aplicativo mostra, em tempo-real, os registros e permite a armazenagem dos registros digitalizados numa taxa de 40 amostras por segundo. O aplicativo também permite selecionar segmentos do registro, e informa o valor médio e desvio-padrão (DP) do fluxo no segmento selecionado. Uma vez que os registros são armazenados a uma taxa de 40 amostras por segundo, caso seja selecionado um segmento de um segundo, como um exemplo, o valor médio e DP do fluxo de 40 amostras é informado.

Em cada registro das regiões controle, onde os registros eram contínuos, foram selecionadas todas as regiões livres de interferências (produzidas por movimentos entre a sonda e gengiva) e o valor médio de cada registro foi computado. Nas regiões onde a compressão foi efetuada, os segmentos de 40 segundos imediatamente antes do início da compressão e imediatamente após a compressão foram selecionados e seus valores médios foram computados seguindo o procedimento descrito para as regiões controle. As áreas, sob os segmentos de registro antes e após a compressão, foram computadas conforme o procedimento que se segue: o valor médio de cada

segmento foi multiplicado pelo intervalo de tempo igual a 40 segundos. Este procedimento é uma aproximação à regra trapezoidal.

A área sob os segmentos de registro é uma quantidade proporcional ao volume de sangue, pois o fluxo medido é proporcional ao volume de sangue que atravessa a região irradiada por unidade de tempo.

As dispersões dos valores foram medidos usando o coeficiente de variação, CV, geralmente conhecido como desvio-padrão relativo, que é a razão entre o desvio-padrão e o valor médio, multiplicado por 100.

A capacidade de discriminação dos parâmetros investigados foi avaliada usando a análise de curvas ROC (Receiver Operating Characteristic curve) (Hanley & McNeil, 1982).

Estimativas das áreas sob curvas ROC foram efetuadas usando o aplicativo MedCalc Versão 9.3.1 (MedCalc, MedCalc, Mariakerke, Bélgica).

## 6 RESULTADOS

Este capítulo apresenta inicialmente os resultados das avaliações dos estados dos dois sítios (regiões de gengivas) investigados, nas duas sessões estudadas. Os estados foram classificados seguindo o critério descrito no Capítulo 5, (gengiva sadia ou gengivite), estabelecendo as referências (*gold standard*) para a divisão de três grupos: a) gengivas sadias antes da raspagem; b) gengivas sadias depois da raspagem e; c) gengivas inflamadas.

Num segundo momento, este capítulo apresenta as relações encontradas entre os valores de fluxo medidos  $F(UA)$ , e os grupos investigados, que é o método mais comum na literatura. Depois são apresentadas as relações entre os grupos e  $V(\%)$ : um novo parâmetro hemodinâmico, indicador de variações de volume sanguíneo no sítio investigado durante uma manobra de compressão tópica.

Este capítulo também apresenta comparações entre  $F(UA)$  e  $V(\%)$ , evidenciando suas possíveis relações e principais características, e finalmente avalia a capacidade de discriminação do estado da gengiva desses dois parâmetros hemodinâmicos.

### 6.1 Estado das gengivas

Os valores de profundidade de bolsa, nível clínico de inserção e índices gengivais (IG) referentes aos indivíduos estudados são apresentados nas TAB. 6.1, 6.2 e 6.3 respectivamente.

TABELA 6.1: Valores de profundidade clínica de sondagem (PCS) nos dentes 32 e 42, em suas faces V(vestibular), MV (mésio-vestibular) e DV (disto-vestibular).

PCS (mm)	dente 32			dente 42		
	V	MV	DV	V	MV	DV
Paciente 1	0	2	1	0	1	3
Paciente 2	2	1	2	0	1	1
Paciente 3	0	3	0	0	1	1
Paciente 4	0	0	1	0	1	1
Paciente 5	0	0	1	0	0	2
Paciente 6	1	1	2	1	1	1
Paciente 7	0	1	1	0	2	1
Paciente 8	0	0	2	0	1	1
Paciente 9	1	2	2	1	2	2
Paciente 10	0	1	1	1	1	1
Paciente 11	1	2	1	0	1	1
Paciente 12	2	3	3	1	1	1
Paciente 13	1	2	1	1	1	1
Paciente 14	0	1	3	0	1	1
Paciente 15	0	2	0	1	2	1
Paciente 16	2	2	2	2	2	2
Paciente 17	1	1	1	1	1	0
Paciente 18	1	1	1	0	1	1
Paciente 19	1	2	0	1	1	2

Todos os voluntários, tanto do grupo de gengiva saudável, como no grupo de gengivite apresentaram sulcos  $\leq 3$ mm nas faces dos dentes 32 e 42, que são considerados dentro da normalidade (Lindhe, 1999).

TABELA 6.2: Valores do nível clínico de inserção (NCI) nos dentes 32 e 42, em suas faces V(vestibular), MV (mésio-vestibular) e DV (disto-vestibular).

<b>NCI (mm)</b>	<b>dente 32</b>			<b>dente 42</b>		
	<b>V</b>	<b>MV</b>	<b>DV</b>	<b>V</b>	<b>MV</b>	<b>DV</b>
Paciente 1	0	1	0	0	0	1
Paciente 2	1	0	1	0	0	0
Paciente 3	1	1	0	0	0	1
Paciente 4	0	0	1	0	0	1
Paciente 5	0	0	1	0	0	1
Paciente 6	1	1	1	1	1	1
Paciente 7	0	1	1	0	1	1
Paciente 8	0	0	1	0	1	1
Paciente 9	1	1	1	0	1	1
Paciente 10	0	0	0	0	0	0
Paciente 11	0	1	0	0	0	0
Paciente 12	1	1	1	0	0	0
Paciente 13	0	1	0	0	0	0
Paciente 14	0	0	1	0	0	0
Paciente 15	0	1	0	0	1	0
Paciente 16	1	1	1	1	1	1
Paciente 17	1	1	1	1	1	0
Paciente 18	1	1	1	0	1	1
Paciente 19	1	1	0	1	0	1

Todos os voluntários apresentaram um máximo de 1mm de perda de inserção nas faces dos dentes 32 e 42.

TABELA 6.3: Valores do índice gengival dos elementos 32 e 42. Grau 0: gengiva clinicamente sadia; grau 1: inflamação gengival leve; grau 2: inflamação gengival moderada; grau 3 : inflamação gengival severa.

<b>Índice Gengival</b>	<b>Dente 32</b>	<b>Dente 42</b>
Paciente 1	grau 1 (0,5)*	grau 0
Paciente 2	grau 0	grau 0
Paciente 3	grau 0	grau 0
Paciente 4	grau 0	grau 0
Paciente 5	grau 0	grau 0
Paciente 6	grau 0	grau 0
Paciente 7	grau 0	grau 0
Paciente 8	grau 0	grau 0
Paciente 9	grau 2 (1,6)*	grau 2 (1,6)*
Paciente 10	grau 0	grau 0
Paciente 11	grau 0	grau 0
Paciente 12	grau 2 (1,3)*	grau 2 (1,3)*
Paciente 13	grau 0	grau 0
Paciente 14	grau 0	grau 0
Paciente 15	grau 0	grau 0
Paciente 16	grau 1 (1,0)*	grau 2 (1,6)*
Paciente 17	grau 0	grau 0
Paciente 18	grau 0	grau 0
Paciente 19	grau 2 (1,3)*	grau 2 (1,3)*

\* média dos índices das faces vestibular, méso-vestibular e disto-vestibular

Foi realizada uma modificação no método de Løe (Løe & Silness, 1963; Løe, 1967) para determinar o índice gengival, onde foram avaliadas apenas as faces vestibulares, méso e disto-vestibulares dos elementos 32 e 42 e realizada uma média aritmética dos índices nos respectivos pontos, conferindo o índice gengival do elemento dental. Assim, valores iguais a 0 foram classificados como grau 0; valores entre 0,1 a 1,0 foram classificados como grau 1; valores entre 1,1 a 2,0, como grau 2 e valores entre 2,1 e 3 como grau 3. Nesta pesquisa, nenhum voluntário apresentou inflamação gengival de grau 3.

Na região de compressão (elemento 32), 14 voluntários apresentaram gengiva saudável (IG=0), dois apresentaram uma inflamação gengival leve (IG=1) e três apresentaram inflamação moderada na gengiva (IG=2). Portanto, dentro do grupo saudável (grupo 1), o IG apresentou-se nulo. Os voluntários do grupo 2 apresentaram  $0,5 < IG < 1,6$ , contendo tanto gengivite leve, quanto moderada (portanto considerados entre grau 1 e 2).



Assim, foram compostos dois grupos experimentais:

GRUPO 1 (saudável): quatorze voluntários com ausência de gengivite ou periodontite (IG=0).

GRUPO 2 (gengivite): cinco voluntários apresentando gengivite e ausência de periodontite ( $0,5 < IG < 1,6$ ).

Na região controle (elemento 42), 15 voluntários apresentaram gengiva saudável (IG=0) e quatro apresentaram gengivite moderada (IG=2).

Nenhum paciente apresentou mobilidade nos dentes 32 e 42.

No grupo 1, não foram observadas diferenças no estado gengival entre as sessões antes e após raspagem. No grupo 2 não foi realizada a raspagem periodontal, pois este procedimento objetivou provocar uma inflamação de origem traumática na gengiva e o grupo 2 já apresentava um processo inflamatório gengival, descaracterizando a necessidade da raspagem periodontal.

## **6.2 Variações de fluxo sanguíneo**

Na TAB. 6.4 mostra-se os valores médios de fluxo medidos em gengivas saudáveis antes e depois da raspagem em unidades arbitrárias, FSA(UA) e FSD(UA) respectivamente, e de gengivas com índices gengivais 1 e 2, em unidades arbitrárias, FG(UA).

Na FIG. 6.1 é apresentado Box-Plots mostrando os valores mínimo e máximo (marcados por x), valores médios (marcados por □), os percentis 5, 25, 50 (mediana), 75 e 95 (marcados por linhas horizontais) dos valores FSA, FSD e FG.

TABELA 6.4: Valores de fluxo medidos na gengiva sadia antes FSA(UA) e após raspagem FSD(UA) e na gengiva inflamada FG(UA). Valores obtidos na região do elemento 42 (lado controle).

<b>Paciente</b>	<b>FSA(UA)</b>	<b>FSD(UA)Depois</b>	<b>(FSD/FSA).100</b>	<b>FG(UA)</b>
<b>1</b>	255	242,1	94,9	
<b>2</b>	149,9	111,6	74,4	
<b>3</b>	219,8	219,5	99,9	
<b>4</b>	442,2	509,8	115,3	
<b>5</b>	130,4	80,6	61,8	
<b>6</b>	184,7	173,2	93,8	
<b>7</b>	257,8	288,1	111,8	
<b>8</b>	135,3	130,3	96,3	
<b>9</b>			--	572,67
<b>10</b>	232,8	255,8	109,9	
<b>11</b>	163,2	196,8	120,6	
<b>12</b>			--	202,20
<b>13</b>	300,3	256,3	85,3	
<b>14</b>	335,5	272,2	81,1	
<b>15</b>	245,9	227,1	92,4	
<b>16</b>			--	293,03
<b>17</b>	242,8	281,8	116,1	
<b>18</b>	130,8	119,2	91,1	
<b>19</b>				814,45
<b>Média</b>	228,4	224,3	96,3	470,6
<b>DP</b>	86,5	103,6	16,6	278,2
<b>CV</b>	37,9	46,2	17,2	59,1

Na TAB. 6.4 também é informada a variação percentual de fluxo entre FSD e FSA, isto é, entre as sessões, onde pode ser observado que em nove sítios ocorreu diminuição de fluxo, em cinco houve aumento e em um o fluxo não foi alterado. Houve, portanto, predominância de decréscimo de fluxo, concordando com o valor médio, discretamente menor que 100% (valor esperado caso não haja alteração de fluxo). Note-se que o coeficiente de variação (CV) da variação percentual de fluxo entre as sessões é significativamente menor que os demais, sugerindo que a variabilidade deste parâmetro é menor que a dos demais.

Foi encontrada elevada correlação positiva entre os grupos FSA e FSD (coeficiente de correlação de Pearson  $\rho = 0,94$ ). Este resultado sugere que, embora exista elevada variabilidade entre indivíduos, os fluxos médios de cada

sítio, de um mesmo indivíduo, estão positivamente relacionados entre as sessões. Ou seja, as proporções entre os fluxos de cada indivíduo foram mantidas entre as duas sessões.

A FIG. 6.1 mostra a elevada dispersão dos valores de fluxo de todos os grupos investigados, evidenciando que as faixas de valores de FG e de FSA estão sobrepostas. Portanto não é possível discriminar corretamente todos os estados das gengivas.

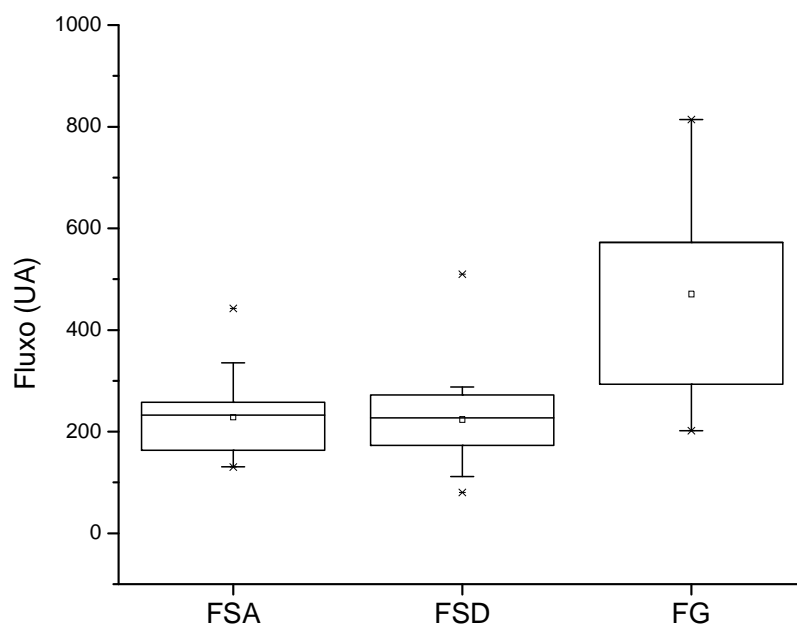


FIGURA 6.1: Box-Plots dos valores de fluxo FSA, FSD e FGI.

Não foram encontradas evidências suficientes para rejeitar a hipótese de normalidade de FSA, FSD e FG (Ryan-Joiner,  $p > 0,1$ ). Assim, modelos paramétricos foram usados nas inferências seguintes.

Não foram encontradas evidências estatísticas suficientes para rejeitar a hipótese de igualdade entre os valores médios de FSA e FSD e de suas variâncias, enquanto foram encontradas evidências suficientes para admitir diferença entre FSA e FG (teste *Student's-t*,  $p \leq 0,05$ ). O valor médio de variação

percentual de fluxo entre as sessões (96,3%) não difere significativamente de 100% (para  $p \leq 0,05$ ).

### 6.3 Variações de volume sanguíneo

No gráfico da FIG. 6.2 é apresentado um registro de fluxo durante uma manobra de compressão. Conforme já citado, a quantidade  $F(UA)$  medida pelo FLD é proporcional ao volume sanguíneo que irriga a região iluminada por unidade de tempo. Ou seja, é proporcional ao fluxo, que pode ser expresso, como um exemplo, em mililitros/minuto. Ao integrarmos o fluxo medido num intervalo de tempo (área, abaixo da curva, de um segmento de registro), tem-se uma quantidade proporcional ao volume de sangue que passou na região investigada no intervalo de tempo considerado. Assim, o índice de variação percentual de volume,  $V(\%)$ , seguindo o índice GIPI sugerido por Rodríguez-Martínez *et al.* (2006), é a variação percentual entre os volumes: depois da compressão (VD) e antes da compressão (VA) conforme indicados na FIG.6.2. Significa a variação dos volumes sanguíneos: antes e depois da compressão e foi calculado na forma:

$$V(\%) = \frac{VD}{VA}$$

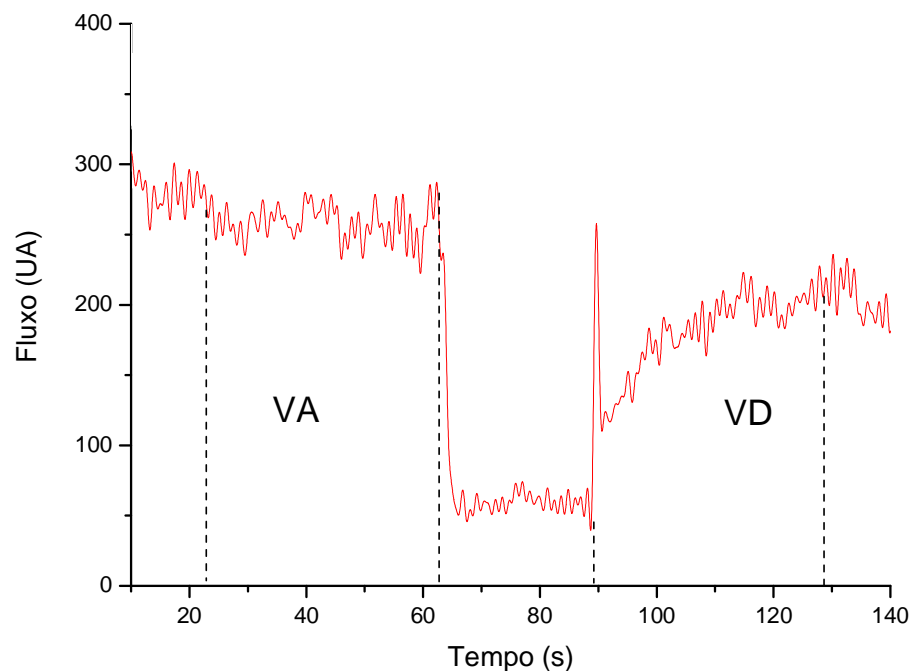


FIGURA 6.2: registro de fluxo medido durante uma manobra de compressão. VA é a área sob o registro de fluxo entre as linhas tracejadas adjacentes significando o volume sanguíneo antes da compressão e; VD depois da compressão.

Foram colhidos três registros durante cada sessão. Cada registro resultou um valor de  $V(\%)$  e a média dos três valores resultou o valor médio de cada  $V(\%)$ .

Na TAB. 6.5 são apresentados os valores das variações percentuais de volume sanguíneo dos sítios investigados: VSA, VSD e VG, referentes às gengivas sadias antes da raspagem, às gengivas sadias depois da raspagem e às gengivas com gengivite, respectivamente. Em ambos os grupos (VSA e VSD) foram observadas as seguintes ocorrências: seis decréscimos e oito acréscimos de volumes sanguíneos, mas não coincidentes entre todos os sítios de mesmos indivíduos (TAB. 6.5). Ainda assim há fraca correlação positiva entre os dois grupos (coeficiente de correlação de Pearson  $\rho = 0,37$ ), sugerindo: i) que as respostas individuais (à compressão) foram parcialmente mantidas entre as sessões e; ii) a possibilidade de resposta bimodal. No grupo VG(%) ocorreram dois acréscimos e dois decréscimos de volume, enquanto um teve resposta praticamente inalterada. Portanto não houve predominância de resposta hiperêmica ou hipoêmica.

TABELA 6.5: Valores de variação percentual de volume sanguíneo nos sítios gengiva sadia antes da raspagem (VSA), gengiva sadia depois da raspagem (VSD) e gengiva inflamada (VG). Valores obtidos na região do elemento 32 (lado compressão).

<b>Paciente</b>	<b>VSA(%) Antes</b>	<b>VSD(%) Depois</b>	<b>(VSD/VSA).100</b>	<b>VG(%)</b>
<b>1</b>				100,4
<b>2</b>	97,5	101,8	104,41	
<b>3</b>	96	118,2	123,13	
<b>4</b>	104,7	88,3	84,34	
<b>5</b>	108,3	78,3	72,3	
<b>6</b>	78,8	94,9	120,43	
<b>7</b>	85,1	114,7	134,78	
<b>8</b>	110,1	83,8	76,11	
<b>9</b>			--	89,7
<b>10</b>	119	88,9	74,71	
<b>11</b>	85,6	109,6	128,04	
<b>12</b>			--	84,5
<b>13</b>	154,6	129,2	83,57	
<b>14</b>	125,9	111,9	88,88	
<b>15</b>	78,1	78,3	100,26	
<b>16</b>			--	109,8
<b>17</b>	104,2	118,5	113,72	
<b>18</b>	121,2	113,4	93,56	
<b>19</b>				122,1
<b>Média</b>	104,9	102,1	99,9	101,3
<b>DP</b>	21	16,6	21,1	15,2
<b>CV</b>	20	16,2	21,2	15

Na FIG. 6.3 apresenta-se Box-Plots dos valores de VSA(%), VSD(%) e VG(%), onde pode ser observado que, embora a dispersão de valores tenha diminuído quando comparado aos resultados imediatamente anteriores, as faixas de valores de VSA e VSD e de VSA e VG estão sobrepostas, comprometendo a capacidade de discriminação de V(%).

Na TAB. 6.5 também são apresentadas as variações percentuais de V(%) entre as sessões antes e depois da raspagem, onde pode ser observado que ocorreu decréscimo de VSD(%) em sete sítios, acréscimo em seis e praticamente não houve alteração em um sítio. Portanto não houve predominância de respostas individuais entre as sessões.

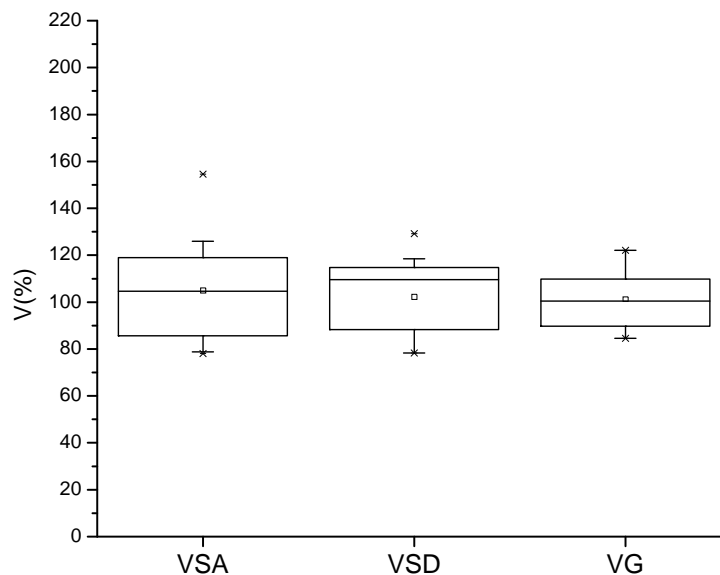


Figura 6.3: Box-Plots dos valores de VSA(%), VSD(%) e VG(%)

Não foram encontradas evidências estatísticas suficientes para rejeitar a hipótese de normalidade de VSA, VSD e VG (Ryan-Joiner,  $p > 0,1$ ). Assim modelos paramétricos foram usados nas inferências seguintes.

Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os valores médios de VSA e VSD, e entre VSA e VG (teste *Student's-t*,  $p \leq 0,05$ ). O valor médio de variação percentual das variações de volume entre as sessões (99,9%) não difere significativamente de 100% (para  $p \leq 0,05$ ).

#### 6.4 Comparação entre fluxo e variação de volume

Comparando os resultados nas TAB.6.4 e 6.5, o resultado mais notório é o decréscimo do coeficiente de variação de todos os grupos de V(%), quando comparados aos obtidos dos grupos de F(UA). Ou seja, conforme pode ser observado na TAB. 6.4, os valores dos coeficientes de variação (CV) referentes aos valores de fluxo medidos (FSA e FSD) são elevados, confirmando a expectativa de elevada variação de fluxo entre indivíduos. Note-se que os valores do CV de VSA, VSD e VG são significativamente menores (TAB. 6.5), confirmando a expectativa de que a variação entre indivíduos deste índice é menor.

Uma vez que não houve diferença entre índices gengivais antes e depois da raspagem, a análise seguinte objetiva verificar a sensibilidade de  $V(\%)$  aos fatores que eventualmente alteram os resultados (temperatura, estado emocional, erros de medição, entre outros).

Foi observada moderada correlação positiva ( $\rho = 0,45$ ) entre os valores de  $(FSA/FSD).100$  e  $(VSA/VSD).100$  (TAB.6.4 e 6.5) sugerindo que a variabilidade de  $V(\%)$  entre as sessões depende de variações do estado de suprimento sanguíneo do sítio investigado entre as sessões. Este resultado sugere que  $V(\%)$  seja sensível às variações individuais de fluxo entre indivíduos, embora apresente pouca variabilidade entre indivíduos.

## 6.5 Capacidade discriminante do fluxo e da variação de volume

Em testes de diagnóstico cuja resposta é positiva ou negativa (normal ou anormal), a sensibilidade é a probabilidade do teste resultar positivos verdadeiros (PV) e a especificidade é a probabilidade do teste resultar negativos verdadeiros (NV).

Num experimento onde P é o número de gengivas conhecidamente inflamadas e N o número de gengivas conhecidamente não inflamadas, a sensibilidade (S) e especificidade (E) resultante é:  $S = PV/P$  e  $E = NV/N$ . O estado das gengivas é conhecido usando um *standard gold*: no caso presente, o índice gengival.

As medições de fluxo, assim como da glicose e colesterol circulantes como outros exemplos, resultam faixas contínuas de valores, tanto normais como anormais, e parte destas faixas geralmente estão sobrepostas. Assim é necessário estabelecer um valor de corte abaixo do qual o teste responde positivo e acima do qual o teste responde negativo (ou vice-versa dependendo do teste).

Uma forma de avaliar o desempenho de um teste é arbitrar valores de corte (VC) crescentes, e para cada valor de corte computar as sensibilidades e especificidades resultantes. Este procedimento é apresentado na TAB.6.6 para os valores experimentais de FSA e FG (constantes na TAB.6.4).



Na TAB. 6.6, o VC = 257,8 UA está realçado em negrito, resultando S = 75% e E = 80%. Este valor de corte corresponde à maior média aritmética entre S e E, que é um critério conhecido como o de maior eficiência, quando a prevalência é 50%. Outros critérios para derivar VCs são largamente conhecidos. (Greiner *et al.*, 2000).

TABELA 6.6: Sensibilidades e especificidades para valores de corte crescentes.

Valor de corte (UA)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
>=130,4	100,00	0,00
>130,4	100,00	6,67
>130,8	100,00	13,33
>135,3	100,00	20,00
>149,9	100,00	26,67
>163,2	100,00	33,33
>184,7	100,00	40,00
>202,2	75,00	40,00
>219,8	75,00	46,67
>232,8	75,00	53,33
>242,8	75,00	60,00
>245,9	75,00	66,67
>255	75,00	73,33
<b>&gt;257,8</b>	<b>75,00</b>	<b>80,00</b>
>293,03	50,00	80,00
>300,3	50,00	86,67
>335,5	50,00	93,33
>442,2	50,00	100,00
>572,67	25,00	100,00
>814,45	0,00	100,00

O gráfico de S versus E é mostrado na FIG. 6.4 (na literatura são mais comuns gráficos de S versus 100-E, isto é, positivos verdadeiros versus falsos positivos). Este gráfico é conhecido como curva ROC (*Receiver Operating Characteristic curve*). A área sob uma curva ROC significa a probabilidade do teste responder corretamente quando duas gengivas escolhidas aleatoriamente, uma inflamada e uma saudável, são interrogadas (Hanley & Mcneil, 1982). A área sob a reta oblíqua pontilhada na FIG. 6.4 é 50%, e significa um teste que não tem capacidade de discriminação. Noutro extremo, uma área igual a 100% significa um teste que sempre responde corretamente.

A curva na FIG. 6.4 é uma curva obtida com os dados experimentais. Mas partindo dos dados experimentais, que são amostras de uma população, é possível estimar a área sob a curva ROC verdadeira (ACV), que seria obtida com dados de toda população.

A ACV estimada é 80%. Segundo uma escala arbitrária largamente usada, este teste é classificado como moderadamente acurado, enquanto  $ACV = 50\%$  são testes não informativos,  $50\% < ACV \leq 70\%$  são pouco acurados,  $90\% < ACV \leq 100\%$  são altamente acurados e  $ACV = 100\%$  são testes perfeitos (Greiner *et al.*, 2000).

Foi verificada a capacidade de  $V(\%)$  discriminar os estados das gengivas, resultando evidências insuficientes para rejeitar a hipótese nula de igualdade da ACV e 50%. Portanto o teste não é informativo.

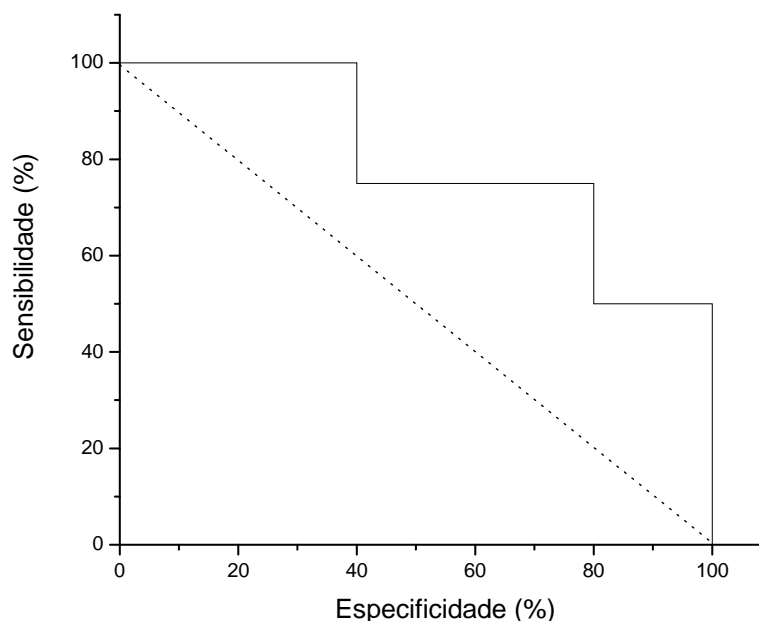


Figura 6.4: Curva ROC de FSA e FG.

## 7 DISCUSSÃO

O fluxo sanguíneo na gengiva, tanto em condições de saúde, como de doença, ainda é um assunto pouco conhecido e contraditório na literatura. Existem diversos métodos de mensuração do fluxo sanguíneo. Entretanto, apenas a Fluxometria Laser Doppler reúne as vantagens de não ser invasiva, a possibilidade de registros instantâneos de vários parâmetros hemodinâmicos (fluxo, velocidade e concentração de hemácias) e suas variações em tempo real, como também a comparação de fluxo em uma mesma região em momentos diferentes.

Assim, no primeiro momento, a FLD pode auxiliar no entendimento da dinâmica do fluxo sanguíneo gengival em processos de reparação tissular, tornando-se um método efetivo de acompanhamento e avaliação da reparação gengival (vistos em processos inflamatórios e cirúrgicos, por exemplo). Em adição, a FLD pode auxiliar os estudos de fenômenos fisiológicos e patológicos atuantes nesta região e promover à prática clínica um maior conhecimento na prevenção e diagnóstico de patologias periodontais, como por exemplo, a gengivite e a periodontite.

Neste trabalho, a princípio, foi formado para estudo um grupo de voluntários com gengiva clinicamente sadia. No primeiro momento, foi realizada a mensuração do fluxo sanguíneo gengival. Após este procedimento, foi feita a raspagem e o alisamento periodontal com o objetivo de observar eventuais respostas inflamatórias de origem traumática (decorrente da raspagem e alisamento). Assim, 24h após o tratamento periodontal, foi novamente registrado o fluxo sanguíneo, na tentativa de verificar se a FLD pudesse detectar uma provável resposta inflamatória. Entretanto, não foram encontradas diferenças significantes nos índices gengivais e nos parâmetros V(%) e F(UA) antes e após raspagem.

Portanto, segundo o método usado para classificar as gengivas (IG), o estado das gengivas não foi alterado. Assim, caso tenha ocorrido alguma alteração (que talvez pudesse ter sido detectada por métodos invasivos), não foi detectada pelos parâmetros investigados, F(UA) e V(%).

Dentre os voluntários estudados foram detectados (segundo o método de classificação usado) cinco sítios com gengivite.

O fluxo medido via Fluxometria Laser Doppler varia largamente entre gengivas saudáveis e entre gengivas inflamadas. Nestes casos, o acompanhamento longitudinal (no tempo) de um grupo de gengivas inflamadas tomando como referência (controle) um grupo de gengivas saudáveis (como um exemplo, comparando médias) pode deixar de evidenciar alterações menos pronunciadas.

Num acompanhamento longitudinal de uma única gengiva, eventuais alterações de algum parâmetro hemodinâmico podem ser úteis. Mas antes de qualquer avaliação das alterações, é necessário conhecer a relação entre as alterações e o estado funcional da gengiva. Assim, seria possível medir o fluxo em um sítio em um determinado momento e saber se em momentos anteriores ou posteriores ocorreram variações, tomando como referência o fluxo naquele instante. Neste caso, o mesmo indivíduo é seu próprio controle. Este procedimento foi explorado por Nuñez *et al.* (2004), tomando como referência o fluxo da pele de ratos antes de uma lesão, e observando as variações de fluxo em momentos posteriores, relativas ao momento inicial e relativas a uma região remota no mesmo rato, minimizando também variações sistêmicas. No entanto, note-se que é necessário saber o estado funcional do tecido interrogado num determinado instante.

Quando o estado funcional não pode ser precisamente avaliado num período de interesse, a interpretação das variações hemodinâmicas pode ser ambígua. Como um exemplo, um fluxo medido num instante do tempo de uma gengiva somente poderia ser atribuído ao estado saudável se conhecermos este estado. Ocorre que somente métodos invasivos (e pouco precisos) permitem tal avaliação. Assim seria útil conhecer um parâmetro hemodinâmico da gengiva (e de outros tecidos) cuja relação com o estado do tecido fosse previamente estabelecido, de tal forma que uma medição seja suficiente para atribuir o estado funcional do tecido.

A medição do fluxo sanguíneo em unidades arbitrárias (UA) e não em valores absolutos é uma das desvantagens na utilização da FLD. Além disso, o parâmetro Fluxo (UA) apresenta grande variabilidade entre indivíduos (Hinrichs *et al.*, 1995b; Hoke *et al.*, 1994; Baab *et al.*, 1986). Tal fato dificulta a avaliação dos resultados obtidos em virtude do fato de não poder afirmar se determinado valor F(UA) é elevado ou baixo. Assim, Patiño-Marín *et al.* (2005), motivados pela elevada variabilidade dos valores de fluxo medidos via FLD em gengivas de diferentes indivíduos, sugeriram doze parâmetros derivados de uma manobra de compressão, e observaram que todos apresentavam elevados coeficientes de variações (CV). Mas também observaram que a razão entre dois parâmetros, resultando um parâmetro semelhante ao aqui denominado V(%), apresentava uma diminuição significativa do CV. Os autores concluíram que este último parâmetro apresenta menor variabilidade, mas ressaltaram que seriam necessárias investigações do comportamento deste parâmetro nos estados patológicos da gengiva.

Em 2006, Rodríguez-Martínez *et al.*, verificaram a associação do parâmetro sugerido no trabalho anterior com a gengivite e a periodontite. Os autores concluíram que o aumento ou diminuição do parâmetro estudado na gengiva inserida pode indicar, respectivamente, predominância clínica de gengivite e periodontite.

Pelos resultados aqui apresentados verificou-se que, de fato, V(%) apresenta CV significativamente menor que o fluxo medido F(UA). No entanto, este indicador de dispersão (CV), assim como outros (como exemplos, desvio-padrão e distância inter-quartis) não expressam adequadamente o seguinte problema: a capacidade de um parâmetro discriminar dois ou mais estados da gengiva. Esta questão não foi avaliada por Rodríguez-Martínez *et al.*, 2006 e por Patiño-Marín *et al.*(2005).

Dentre os resultados aqui apresentados ficou evidente que somente a diminuição da dispersão de valores de um grupo (gengiva sadia) não expressa a necessidade de que a distribuição de valores do outro grupo (gengivite) deve estar distante da primeira, para possibilitar diferenciar os estados. Esta questão é discutida na seqüência.

Quando há respostas de dois grupos (de amostras, provenientes de populações diferentes), é comum tratar de cada grupo separadamente. Outra

alternativa é considerar um único grupo, o grupo normal como uma alternativa e tratar os casos anormais como afastamentos da resposta normal. Mas, retornando à alternativa de considerar dois grupos, em sistemas biológicos as respostas de cada grupo comumente são distribuições normais ou aproximadamente normais. No presente caso, ambas as respostas foram admitidas como normais. Assim o problema poderia ser tratado usando um modelo binormal (duas repostas normais distintas), onde as variâncias e o afastamento (distância entre as médias) das distribuições caracterizam adequadamente a questão da separação entre as populações. Mas este problema (separação entre populações) já é tratado adequadamente na análise de curvas ROC, que é uma técnica largamente usada em testes diagnósticos (Greiner *et al.*, 2000): esta é a principal razão do uso da análise de curvas ROC, lembrando que não é objetivo do presente trabalho apresentar um teste capaz de diagnosticar o estado da gengiva, quando há suspeita de gengivite, mas sim usar uma ferramenta que caracterize adequadamente o problema: a determinação do estado da gengiva.

A área sob uma curva ROC verdadeira pode ser interpretada como sendo a probabilidade de classificarmos corretamente duas gengivas escolhidas aleatoriamente, uma sadia e outra com gengivite, usando um discriminante: no presente caso, são discriminantes: o fluxo medido ou a variação percentual de volume sanguíneo na manobra de compressão.

A literatura tem apontado o problema da elevada dispersão de valores de fluxo entre indivíduos, sugerindo ser possível distinguir estados de grupos de gengivas, mas não individualmente o estado de cada gengiva, quando fluxos de gengivas inflamadas são comparados com os de gengivas sadias. A prova da possibilidade de separação entre grupos tem sido conduzida via testes de hipóteses estatísticos, onde a hipótese nula é a de igualdade entre os valores médios de fluxo dos grupos, e a hipótese alternativa é a de diferença. Quando há diferença estatisticamente significativa, é senso comum na literatura interpretar que há separação entre os grupos (Gleissner *et al.*, 2006; Kerdvongbundit *et al.*, 2003; Kerdvongbundit *et al.*, 2002a; Vág & Fazekas, 2002). Mas, a questão (possibilidade) da separação entre indivíduos, ainda não foi adequadamente tratada na literatura, embora tenha sido destacada tal dificuldade (Patiño-Marín *et al.*, 2005). Ainda não foi encontrado na literatura qualquer estudo prévio que

quantifique a capacidade de discriminação do fluxo medido via FLD, quando a gengivite é investigada.

Pelo presente estudo, verificou-se que a capacidade de discriminação do estado da gengiva usando fluxo medido é razoável, embora não tenha sido encontrado também qualquer outro estudo que quantifique a capacidade de discriminação de outros métodos de diagnóstico, por exemplo, o índice gengival de Løe, ou mesmo cortes histomorfológicos. Assim, o problema que antecede a análise de curvas ROC é o estabelecimento de um padrão confiável (*gold standard*) e esta questão é discutida na seqüência.

No planejamento do presente trabalho, depois de analisar a literatura pertinente ao assunto, foi notado que o estado da gengiva (em humanos) é sempre atribuído tomando como referência um índice gengival (Patiño-Marín *et al.*, 2005; Vág & Fazekas, 2002; Matheny *et al.*, 1993; Baab & Öberg, 1987). Assim foi aqui planejado usar um índice gengival apropriado.

O índice gengival utilizado foi descrito por Løe (Løe & Silness, 1963; Løe, 1967). Este índice procura determinar o grau de severidade da gengivite. Assim, *grau 0* é considerado gengiva sadia; *grau 1* é uma gengivite leve (com ligeira modificação na cor, ligeiro edema e nenhum sangramento à sondagem); *grau 2* apresenta uma gengivite moderada (gengiva edemaciada, brilhante e avermelhada ou vermelha azulada, com presença de sangramento à sondagem) e *grau 3* é a gengivite severa (gengiva marcadamente vermelha ou vermelha azulada edemaciada, com presença de ulceração e tendência ao sangramento espontâneo). Esta análise deve ser realizada em todas as faces dos dentes, os scores somados e divididos pelo número de dentes presentes na arcada (média aritmética dos graus obtidos em cada face dental). Assim, tem-se o grau de gengivite do paciente, abrangendo toda a boca. Quando a média tem valor zero, o paciente apresenta grau 0. O grau 1 é determinado pelos escores de 0,1 a 1,0.; grau 2, escores de 1,1 a 2,0 e grau 3, escores de 2,1 a 3,0.

Entretanto, como neste estudo era de interesse verificar presença ou ausência de inflamação apenas na região vestibular dos dentes investigados (elementos 32 e 42), o índice gengival foi modificado seguindo os seguintes critérios: (a) determinação do grau de gengivite na face vestibular, face mésio-vestibular e disto-vestibular do elemento 32; (b) Somatório dos três valores e divisão por três e (c) o valor obtido pela média aritmética determina o grau de

gingivite do elemento 32, segundo a faixa dos scores dada acima. A mesma manobra é realizada no elemento 42.

Contudo, observou-se neste estudo que o próprio diagnóstico de saúde do tecido gengival é ainda subjetivo e pode variar conforme o examinador. O estado de saúde gengival foi avaliado por exame periodontal convencional, composto por índice gengival (Løe & Silness, 1963; Løe, 1967), nível clínico de inserção e profundidade clínica de sondagem (Lindhe, 1999) dos elementos 32 e 42. Apesar destes métodos serem utilizados rotineiramente em aplicações clínicas para diagnóstico de gengivite e periodontite, não é um método objetivo, pois depende da avaliação pessoal do examinador. O aumento na profundidade de sondagem e nos níveis de inserção clínica, utilizando sondas convencionais, é sinônimo de avanço de doença. Entretanto, erros inerentes à técnica de sondagem, tais como variações na força, diâmetro da sonda, angulação e a penetração nos tecidos podem dificultar a detecção de pequenas mudanças no tecido gengival, associadas à gengivite e a periodontite. Além disso, há a análise subjetiva da cor e textura do tecido gengival, e se considerarmos uma gengiva com maior quantidade de tecido fibroso, a alteração de cor durante um processo inflamatório torna-se mais difícil ainda. Apesar destas desvantagens, é o método mais difundido para pesquisas em humanos, motivo este pelo qual foi escolhido.

Assim, ficou evidente que a interpretação de IGs é subjetiva, suscitando dúvidas acerca do padrão usado não somente no presente trabalho, como também noutros na literatura. Uma vez que a prática de cortes histológicos em humanos encontra barreiras de aceitação e os resultados podem ainda ser ambíguos, esta questão requer respostas que fogem do escopo deste trabalho. Assim, uma possível continuidade do presente trabalho seria rever critérios de avaliação do estado da gengiva, objetivando estabelecer um método padrão, partindo do qual seria estendida a presente metodologia, usando a análise de curvas ROC.

Uma questão que requer reflexões é o fato de, no presente trabalho, não ter ocorrido a predominância de hipoemia, seguindo os resultados obtidos por Patino-Marín *et al.*(2005) e Rodríguez-Martínez *et al.* (2006).

Yamaguchi *et al.* (1991) realizaram uma pressão localizada na gengiva inserida, na linha média da maxila, com a própria sonda do fluxômetro Laser Doppler. Segundo os autores, o fluxo sanguíneo, após a sonda entrar em contato



com o tecido gengival, diminuiu rápida e drasticamente. Após cessar a força, observou-se hiperemia reativa. A magnitude da hiperemia reativa, nesta pesquisa, mostrou-se inversamente proporcional ao decréscimo do fluxo sanguíneo decorrente da manobra de compressão, enquanto que a duração da hiperemia foi proporcional a duração da força de compressão. Baab *et al.* (1986) também puderam observar com a pressão local realizada com a sonda do FLD uma típica resposta de hiperemia reativa, uma resposta regulatória local com aumento do fluxo sanguíneo logo após cessar o estímulo. Entretanto, eles não afirmaram a relação entre a resposta hiperêmica e o grau e duração da força. Por outro lado, Patino-Marín *et al.*(2005) e Rodríguez-Martínez (2006) relataram hipoemia após cessar a manobra de compressão.

É conhecido que durante um processo inflamatório pode ocorrer hiperemia ativa ou passiva, a depender do estágio do processo. Em qualquer um dos casos, ocorrem alterações na resistência dinâmica dos vasos. Embora tais alterações não signifiquem necessariamente alterações pronunciadas de fluxo, era esperado que uma manobra de compressão evidenciasse as alterações de resistência. Ou seja, como um exemplo, numa hiperemia passiva, é conhecido que o aumento da quantidade de hemácias na região inflamada ocorre, ao mesmo tempo em que a velocidade linear das hemácias está diminuída. Mas, uma vez que o fluxo medido via FLD é o produto da velocidade pela concentração de hemácias, o fluxo medido pode ser pouco alterado. No entanto era esperado que a resistência alterada resultasse alteração no volume sanguíneo após a compressão. Esta expectativa se deve ao fato de que é conhecido, na teoria de sistemas, que o aumento da resistência significa fluxo diminuído na resposta pós-compressão. Ou seja, com a compressão, a pressão sanguínea distende os vasos localizados antes da compressão, e o volume armazenado flui rápida e imediatamente após a compressão. Geralmente ocorre sobre-fluxo depois da compressão, e os mecanismos sugeridos são as respostas metabólicas, as respostas miogênicas e a resposta elástica dos vasos (Rossi *et al.*, 2007; Mul *et al.*, 2005; Pontrelli, 2001; Douglas, 1998; Wilkin, 1987). Entretanto, existem poucos trabalhos utilizando o estímulo de compressão na mucosa oral para acompanhar as variações de fluxo. Assim, ainda não está estabelecido o fenômeno da hiperemia reativa no tecido gengival e os fatores mais atuantes que controlam a vasodilatação neste tecido.

Segundo Douglas (1998), a manobra de compressão é um estímulo mecânico que pode provocar isquemia tecidual (hipóxia) extrema, cessando o suprimento sanguíneo naquela região. Em resposta a este estímulo, as arteríolas sofrem dilatação. Quando a circulação é restabelecida, o sangue que flui pelos vasos dilatados faz com que o tecido assuma uma coloração vermelha mais intensa, acarretada pelo aumento do fluxo sanguíneo local. Neste caso, a dilatação se deve ao aumento da liberação de NO e a diminuição na concentração de O<sub>2</sub> arterial.

Wilkin (1987) sugere que o mecanismo predominante no tecido cutâneo é o viscoelástico. Considerando somente este último mecanismo, dependendo do incremento da resistência vascular, o sobre-fluxo característico da hiperemia reativa seria amortecido, passando para hipoemia num extremo oposto. De fato, para o curto intervalo de compressão considerado no presente trabalho, as respostas metabólicas (à hiperemia) provavelmente não são predominantes. Nesta condição (curto intervalo de compressão), a elasticidade das paredes dos vasos pode predominar na resposta, e o aumento da resistência é um fator importante (Wilkin, 1987). No entanto tal resposta não foi observada, e não concorda com a observada por Patino-Marín *et al.*(2005) e Rodríguez-Martínez (2006).

Uma possibilidade de explicação a este fato é a elevada resistência hidrodinâmica nos vasos entre a região comprimida e a região interrogada. Ou seja, na gengiva toda vasculatura é de baixo calibre, sendo considerada ser composta somente por microvasos (Lindhe, 1999; Hock & Nuki, 1975; Nuki & Hock, 1974). Neste caso, a resistência é elevada, independentemente do estado da gengiva, pois eventuais incrementos na resistência não seriam significativos nesta condição. Note-se que este não é o caso de respostas hiperêmicas reativas noutros tecidos, onde a compressão ocorre em grandes artérias, como a manobra de compressão comumente executada no antebraço, e o fluxo medido no dedo, onde é observada a hiperemia reativa (Rossi *et al.*, 2007; Mayrovitz *et al.*, 2003; Wilkin, 1987). De fato, Baab *et al.* (1986), comprimindo a gengiva no mesmo local onde o fluxo foi medido, observou hiperemia. Esta possibilidade explica a ausência de predominância de hiperemia nos dados aqui apresentados, e explica a predominância de hipoemia no trabalho de Patiño-Marín *et al.* (2005), onde as regiões comprimidas podem ter sido mais distantes que as empregadas no

presente trabalho, julgando pelas ilustrações publicadas no artigo referido, onde aparenta a compressão no fundo de sulco (pois não há menção da posição exata das compressões no trabalho citado).

Em adição aos comentários acima, a região de compressão bem como o índice de compressão usados no presente trabalho não são os mesmos sugeridos por Patino-Marín *et al.* (2005), e as razões são as que se seguem.

O estímulo de compressão foi usado neste trabalho pelas vantagens de ser um estímulo tópico, tolerável, transitório e facilmente aplicado em humanos, além de que pode ser facilmente controlado, reproduzido e quantificado (Patino-Marín *et al.*, 2005). Baab *et al.* (1986) analisaram o efeito de uma pressão de 1,5N por 60s no fluxo sanguíneo gengival, através da FLD. Para isso, os autores comprimiram a papila interdental, a gengiva livre, inserida e mucosa alveolar com a própria sonda do fluxômetro.

Baab *et al.* (1986) realizaram uma força média de 1,5 N em todos os indivíduos. Patino-Marín *et al.*(2005) e Rodríguez-Martínez (2006) comprimiram a mucosa até que o fluxo registrado fosse reduzido a cerca de 20% do valor basal.

A manobra de compressão até o índice de 20% do fluxo basal, preconizado por Patino-Marín *et al.* (2005), é dificilmente obtida, pois não há como saber o valor do fluxo com precisão observando o registro durante a transição, quando o valor do fluxo está baixando numa taxa elevada. Mesmo que fosse desenvolvido um método auxiliar para medir com precisão o valor do fluxo durante o momento inicial da compressão, a manutenção deste valor exigiria um intervalo de tempo extra para eventual ajuste, caso a compressão fosse menor ou maior que a exata necessária para causar redução de 80% do fluxo basal. Assim, aqui foi testada a manobra de compressão até cessar a pulsatilidade (cuja redução de fluxo variou entre aproximadamente 15% a 50% do fluxo basal, com valor médio igual a 29,7%), na premissa de que, nesta condição, as arteríolas que irrigam a região em estudo estariam comprimidas com pressão externa maior que a interna (hidrostática). Assim, a amplitude da pressão de compressão é irrelevante. Ou seja, a pressão deve ser maior que uma mínima que cause o efeito desejado: cessar a pulsatilidade. Nesta condição, foi observado que ainda há fluxo residual (o fluxo não é nulo). Mas uma vez que o tempo de compressão usado foi curto (20 a 22 segundos), o mecanismo de resposta metabólica provavelmente não é predominante (Wilkin, 1987).

A ausência de resposta de V(%) ao estado da gengiva, aqui observado, é outra questão, discorrida na seqüência.

Apesar do parâmetro V(%) ter apresentado baixa variabilidade entre indivíduos, não houve capacidade de discriminação entre os grupos, ou seja, não foram observadas diferenças entre os grupos de gengiva sadia e inflamada. Contudo, Rodríguez-Martínez (2006), observaram diferenças entre o grupo de gengivite, periodontite e gengiva sadia. Essas diferenças no resultado podem ser devido a diferenças na técnica (modo e local de compressão) e ao estágio da inflamação investigada.

No presente trabalho, o fluxo sanguíneo gengival no grupo com gengivite apresentou-se maior que no grupo com gengiva saudável, sustentando-se a idéia de que as alterações morfológicas que ocorrem no processo inflamatório gengival levam às mudanças funcionais (Hock *et al.*, 1980). Tal resultado está de acordo com o observado nos trabalhos de Kerdvongbundit *et al.*, em 2002a e 2003 (utilizando FLD) e Kaplan *et al.*, em 1982 (utilizando microesferas radioativas). Vág & Fazekas (2002), também encontraram uma relação diretamente proporcional entre o fluxo sanguíneo e a inflamação gengival. Entretanto, existe o trabalho de Matheny *et al.* (1993), que combinou FLD e videomicroscopia, encontrando que o fluxo sanguíneo diminuiu na gengiva marginal durante a inflamação ocasionada por uma gengivite experimental, apresentando também um aumento no número de vasos visíveis e diminuição do número de vasos exibindo fluxo ativo. No estudo realizado por Kerdvongbundit *et al.* (2002a), apesar da observação de que o fluxo sanguíneo na gengiva sadia é menor que o da gengiva inflamada, não foi encontrada diferença entre os fluxos na gengivite moderada e na periodontite, ou seja, a progressão da doença não mudou o fluxo sanguíneo.

A contradição entre a variação de fluxo sanguíneo no processo inflamatório pode ser reflexo das diferenças nas técnicas, sítios específicos da gengiva, a vasculatura estudada, a fase do processo inflamatório gengival e a condição de obtenção da gengivite (clínica ou experimental).

Em 2006, Gleissner *et al.* realizaram uma pesquisa de mensuração do fluxo sanguíneo via FLD em três condições gengivais: (i) gengiva saudável, (ii) gengivite experimental, EG e (iii) gengivite clínica, CG. Nos voluntários que desenvolveram a EG, o fluxo sanguíneo aumentou levemente, mas não

significativamente com o aumento do IG, comparado com o sítio saudável. Para um mesmo IG, o fluxo sanguíneo no grupo CG foi significativamente maior que o fluxo do grupo EG. Os autores citaram como possíveis causas desta diferença, o sítio escolhido para a medição (papila e gengiva marginal). Segundo eles, o sulco gengival seria o melhor sítio escolhido, em virtude de ali ocorrerem as primeiras manifestações inflamatórias. Entretanto, as medições tanto da CG quanto da EG foram feitas nas mesmas condições, inclusive nos mesmos sítios e o resultado foi que o fluxo sanguíneo da papila e margem gengival em condições de CG apresentou-se maior que em EG. Outro fator exposto pelos autores é a diferença de idade entre os grupos EG e CG, onde a média de idade era maior no grupo de CG. Segundo Matheny (1993), há uma leve diminuição do fluxo sanguíneo gengival com a idade.

Zoellner, em 2002, citou em seu trabalho que a gengivite experimental tanto em humanos quanto em animais, é definida por lesão de curta duração, tempo este que pode ter sido insuficiente para a expansão dos eventos observados em outros estudos.

Avaliando a capacidade de discriminação do estado gengival dos parâmetros discriminatórios fluxo  $F(UA)$  e variação percentual de volume  $V(\%)$ , foi verificado que, nas condições do experimento,  $V(\%)$  não tem capacidade de discriminação, enquanto  $F(UA)$  apresenta capacidade discriminatória. O grau de acurácia obtido foi de 80,6%, que é um valor significativo. Assim, apesar do  $F(UA)$  apresentar uma alta variabilidade entre indivíduos, tem um poder de discriminação entre grupo de gengivite e gengiva saudável melhor que o parâmetro  $V(\%)$ .

Assim, nas condições experimentais usadas no presente estudo, foram encontradas evidências sugerindo que o fluxo gengival medido via fluxometria laser Doppler pode discriminar gengivas saudáveis das apresentando gengivite. Este resultado encoraja futuros estudos objetivando encontrar outros parâmetros hemodinâmicos que melhore a capacidade de discriminação da técnica.

## 8 CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados neste trabalho, e considerando as condições experimentais, foram encontradas evidências que:

- 1- O parâmetro variação percentual de volume,  $V(\%)$ , apresentou menor variabilidade entre indivíduos, quando comparado ao parâmetro fluxo,  $F(UA)$ ;
- 2- O parâmetro  $F(UA)$  mostrou-se mais efetivo, quando comparado ao  $V(\%)$ , na discriminação tanto de grupos de gengivas sadias e com gengivites, quanto na discriminação do estado de cada gengiva em cada grupo.

## **ANEXOS**

## ANEXO A

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Pelo presente termo, eu \_\_\_\_\_, RG\_\_\_\_\_ autorizo a C.D. Paula S. Anarelli Leite CRO 87564, aluna regularmente matriculada no Curso “Mestrado Profissionalizante Lasers em Odontologia” a realizar em mim a medição do fluxo sanguíneo gengival. Este procedimento será efetuado usando um fluxômetro laser Doppler. O fluxômetro usa um laser em baixa intensidade, que não oferece riscos de danos na pele ou olhos, desde que não seja utilizado qualquer dispositivo óptico de magnificação, tais como microscópios ou binóculos.

A pesquisa envolve voluntários saudáveis, com idades entre 18 a 45 anos, de ambos os sexos. Para o grupo de pacientes com gengivite simples, será realizada uma medição do fluxo sanguíneo gengival antes do tratamento que será realizado pela instituição procurada pelo paciente, e não pela pesquisadora. Assim o objetivo desta pesquisa não envolve qualquer tipo de tratamento.

Tanto para o grupo de pacientes sem gengivite, como o grupo de pacientes com gengivite, será utilizado um fluxômetro laser Doppler com a finalidade de medir o fluxo sanguíneo da gengiva. Para isso, serão necessárias 2 sessões. Na primeira sessão, será feita inicialmente uma moldagem dos dentes anteriores inferiores para a confecção de uma moldeira de resina acrílica ou silicone, a qual fixará a sonda do fluxômetro (sessão de aproximadamente 15 minutos). Existe a possibilidade do voluntário sentir um desconforto, embora mínimo, quando realizada a moldagem e quando aplicado o molde, denominado suporte da sonda. O desconforto cessa assim que removidos os moldes.

Na segunda sessão será aplicado o suporte da sonda confeccionado na sessão anterior, e será efetuada a medição do fluxo sanguíneo gengival. Esta sessão terá duração de aproximadamente 40 minutos. Para o registro de fluxo, a gengiva será comprimida com uma haste de algodão (“cotonete”), sem causar dor ao paciente, de forma rápida, tópica, controlável e transitória.



O efeito e natureza do procedimento considerado me foram perfeitamente explicados.

**Os dados confidenciais envolvidos nesta pesquisa serão mantidos em sigilo, mantendo a minha privacidade.**

Terei assistência integral da C.D. Paula S. Anarelli Leite, telefone: (12) 8111.1185 ou (11) 3091.7645 para esclarecimento de quaisquer dúvidas.

Tive a oportunidade de esclarecer todas as minhas possíveis dúvidas, quanto ao procedimento que serei submetido(a), tendo lido e compreendido todas as informações deste documento antes da assinatura. Declaro também que ao assinar, recebi uma cópia desse termo.

Sabendo que poderei abandonar a pesquisa em qualquer etapa, sem que a mim sejam aplicadas penas ou multas, conscientemente autorizo, por minha livre iniciativa a realização dos trabalhos.

São Paulo, ..... de .....de .....

.....

Assinatura do paciente

.....

Assinatura da  
pesquisadora

## ANEXO B - Parecer do Comitê de Ética

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA****PARECER DE APROVAÇÃO**  
**Protocolo 96/06**

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa APROVOU o protocolo de pesquisa "**Desenvolvimento de um novo método de análise da microcirculação gengival via fluxômetria Laser Doppler**", de responsabilidade da Pesquisadora **Paula Silvestrini Anarelli Leite** sob orientação do Professor Doutor **Gesse Eduardo Calvo Nogueira**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 16 de fevereiro de 2007

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz  
Coordenador do CEP-FOUSP

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 AMBROSINI, P.; CHERENE, S.; MILLER, N.; WEISSENBACH, M.; PENAUD, J. A laser Doppler study of gingival blood flow variations following periosted stimulation. *J. Clin. Periodontol.*, v.29, p.103-7, 2002.
- 2 ATKINS, S.E.; TUNCAY, O.C. Gingival blood flow. *Mississippi Dental Assoc. J.*, v.49, p.27-9, 1993.
- 3 BAAB, D.A.; ÖBERG, P.A.; HOLLOWAY, G.A. Gingival blood flow measured with a laser Doppler flowmeter. *J Periodont Res*, v.21, p.73-85, 1986.
- 4 BAAB, D.A.; ÖBERG, P.A. Laser Doppler measurement of gingival blood flow in dogs with increasing and decreasing inflammation. *Archs Oral Biol*, v.32, n.8, p.551-5, 1987.
- 5 BOUTAULT, F.; CADENAT, H.; HIBERT, P.J. Evaluation of gingival microcirculation by a laser Doppler flowmeter. *J Cranio-Max-Fac.Surg.*, v.17, p.105-9, 1989.
- 6 COLLINS, T. *Inflamação aguda e crônica*. In: Cotran, R.S.; Kumar, V.; Collins, T. Robbins –Patologia Estrutural e Funcional. Rio de Janeiro, R.J.: Guanabara Koogan, 2000, 6ª ed., cap.3, p.44-78.
- 7 DEVELIOGLU, H.; KESIM, B.; TUNCEL, A. Evaluation of the marginal gingival health using laser doppler flowmetry. *Braz Dent J*, v.17, n.3, p.219-22, 2006.
- 8 DONOS, N.; D'AIUTO, F.; RETZEPI, M.; TONETTI, M. Evaluation of gingival blood flow by the use of laser Doppler flowmetry following periodontal surgery. A pilot study. *J Periodont Res*, v.40, p.129-37, 2005.
- 9 DOUGLAS, C.R. *Fisiologia do fluxo sanguíneo das estruturas orais*. In: Douglas, C.R. Patofisiologia oral: Fisiologia normal e patológica aplicada a odontologia e fonoaudiologia. São Paulo, S.P.: Pancast, 1998, cap.24, p.461-76.
- 10 EDUARDO, F.T.O.P. *Avaliação da Fluxometria Laser Doppler como teste da vitalidade pulpar*. 2004. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Universidade de São Paulo.

- 11 GLEISSNER, C.; KEMPSHI, A.; PEYLO, S.; GLATZEL, J.H.; WILLERSHAUSEN, B. Local gingival Blood flow at healthy and inflamed sites measured by laser doppler flowmetry. *J Periodontol.*, v.77, p.1762-1771, 2006.
- 12 GREGORI, C. *Cirurgia Buco-dento-alveolar*. São Paulo, S.P.: ed. Sarvier, 1996. cap.2, reparação tecidual, p.104-108.
- 13 GREINER, M.; PFEIFFER, D.; SMITH, R.D. Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 45, n. 1, May, p. 23-41, 2000.
- 14 HANLEY, J. A.; MCNEIL, B. J. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology*, v.143, n.1, p.29-36, 1982.
- 15 HANSSON, B.O.; LINDHE, J.; BRANEMARK, P.I. Microvascular topography and function in clinically healthy and chronically inflamed dento-gingival tissues – a vital microscopic study in dogs. *Periodontics*, v.6, p.264-71, dec., 1968.
- 16 HINRICHS, J.E.; JARZEMBINSKI, C.; HARDIE, N.; AEPPLI, D. Intrасulcular laser Doppler readings before and after root planing. *J Clin Periodontol*, v.22, p.817-23, 1995a.
- 17 HINRICHS, J.E.; LABELLE, L.L.; AEPPLI, D. An evaluation of laser Doppler readings obtained from human gingival sulci. *J Periodontol*, v.66, p.171-6, 1995b.
- 18 HOCK, J.; NUKI, K. A vital microscopy study of the morphology of normal and inflamed gingival. *J Periodontol. Res.*, n.6, p.81-8, 1971.
- 19 HOCK, J.; NUKI, K. Microvascular response to chronic inflammation in gingival. *Bibl. Anat.*, n.13, p.186-187, 1975.
- 20 HOCK, J.; NUKI, K. Erythrocyte velocity in vascular networks of young noninflamed dog gingiva. *J Dent Res.*, v.55, n.6, nov-dec, 1976.
- 21 HOCK, J.; NUKI, K.; SCHLENKER, R.; HAWKS, A. Clearance rates of xenon-133 in non-inflamed and inflamed gingiva of dogs. *Archs Oral Biol.*, v.25, p. 445-449, 1980.
- 22 HOKE, J.A.; BURKES, E.J.; WHITE, J.T.; DUFFY, M.B. KLITZMAN, B. Blood flow mapping of oral tissues by laser Doppler flowmetry. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.23, p.312-5, 1994.
- 23 KAPLAN, M.L.; DAVIS, M.A.; GOLDHABER, P. Blood flow measurements in selected oral tissues in dogs using radiolabelled microspheres and rubidium-86. *Archs Oral Biol.*, v.23, p.281-284, 1978.

- 24 KAPLAN, M.L.; JEFFCOAT, M.K.; GOLDHABER, P. Blood flow in gingiva and alveolar bone in beagles with periodontal disease. **J Periodontol Res.**, v.17, p.384-389, 1982.
- 25 KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. **Histologia e embriologia oral : texto - atlas e correlações clínicas**. 1ª ed. São Paulo, S.P.: Ed. Médica Panamericana, 1999.
- 26 KERDVONGBUNDIT, V.; SIRIRAT, M.; SIRIKULSATHEAN, A.; KASETSUWAN, J.; HASEGAWA, A. Blood flow and human periodontal status. **Odontology**, v.90, p.52-56, 2002a.
- 27 KERDVONGBUNDIT, V.; VONGSAVAN, N.; SOO-AMPON, S.; PHANKOSOL, P.; HASEGAWA, A. Microcirculation of the healthy human gingiva. **Odontology**, v.90, p.48-51, 2002b.
- 28 KERDVONGBUNDIT, V.; VONGSAVAN, N.; SOO-AMPON, S.; HASEGAWA, A. Microcirculation and micromorphology of healthy and inflamed gingivae. **Odontology**, v. 91, p.19-25, 2003.
- 29 KINNEN, E.; GOLDBERG, H.J.V. The application of electrical Impedance plethysmography to the study of gingival circulation. **J. Periodontol.**, v.49, n.10, oct., p. 528-533, 1978.
- 30 LINDHE, J. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 3ª ed. Rio de Janeiro, R.J.: Ed.Guanabara Koogan, 1999.
- 31 LÖE, H.; SILNESS, J. Periodontal disease in pregnancy. I- Prevalence and severity. **Acta Odontol. Scand.**, v.21, p.533-551, 1963.
- 32 LÖE, H. The gingival index, the plaque index and the retention index systems. **J Periodontol.**, v.38, n.6, p. 610-616, 1967.
- 33 LOSSOW, J.F. **Anatomia e Fisiologia humana**. 5ª ed. Rio de Janeiro, R.J.: Ed. Guanabara Koogan, 1990.
- 34 MATHENY, J.L.; ABRAMS, H.; JOHNSON, D.T.; ROTH, G.I. Microcirculatory dynamics in experimental human gingivitis. **J Clin Periodontol**, v.20, n.8, p.578-83, Sept., 1993.
- 35 MATSUKI, M.; XU, Y.B.; NAGASAWA, T. Gingival blood flow measurement with a non-contact laser flowmeter. **Journal of Oral Rehabilitation**, v.28, p.630-3, 2001.
- 36 MAYROVITZ, H.N.; SIMS, N.; DRIBIN, L. Hell skin hyperaemia: direct compression versus vascular occlusion. **Clin Physiol Funct Imaging**, v.23, p.354-9, 2003.

- 37 MUL, F.F.M.; MORALES, F.; SMIT, A.J.; GRAAFF, R. A model for post-occlusive reactive hyperemia as measured with laser-doppler perfusion monitoring. *IEEE transactions on Biomedical Engineering*, v.52, n.2, 2005.
- 38 NOGUEIRA, A. L. F. **Laser Doppler como meio diagnóstico para a vitalidade pulpar – Estabelecimento de parâmetros de leitura**. 2003. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade de São Paulo.
- 39 NUKI, K.; HOCK, J. The organisation of the gingival vasculature. *J Periodont Res*, v.9, p.305-13, 1974.
- 40 NÚÑEZ, S.C. **Efeito do laser de Hélio Neônio sobre a microcirculação sanguínea : Estudo in vivo por meio de fluxometria laser doppler**.2002. Dissertação (Mestrado em Lasers em Odontologia) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, *Co-Orientador*: Gesse Eduardo Calvo Nogueira, São Paulo.
- 41 NÚÑEZ, S. C. ; NOGUEIRA, G. E. C. ; RIBEIRO, M. S. ; GARCEZ, A. S. ; Lage-Marques, J. L. . He-Ne laser effects on blood microcirculation during wound healing: A method of in vivo study through laser Doppler flowmetry . *Lasers In Surgery and Medicine*, EUA, v. 35, n. 5, p. 363-8, 2004.
- 42 PATIÑO-MARÍN, N.; MARTÍNEZ, F.; LOYOLA-RODRÍGUEZ, J.P.; TENORIO-GOVEA, E.; BRITO-ORTA, M.D.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, M. A novel procedure for evaluating gingival perfusion status using laser-Doppler flowmetry. *J Clin Periodontol*, v.32, p.231-7, 2005.
- 43 PERRY, D.A.; MCDOWELL, J.; GOODIS, H.E. Gingival microcirculation response to tooth brushing measured by laser Doppler flowmetry. *J Periodontol*, v.68, n.10, p.990-995, oct, 1997.
- 44 PONTRELLI, G. Modeling the fluid-wall interaction in a blood vessel. *Progress in Biomedical Research*, jun, p.330-8, 2001.
- 45 RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, M.; PATIÑO-MARÍN, N.; LOYOLA-RODRIGUEZ, J.P.; BRITO-ORTA, D. Gingivitis and periodontitis as antagonistic modulators of gingival perfusion. *J Periodontol*, v.77, n.10, p.1643-50, 2006.
- 46 ROSSI, M.; CARPI, A.; DI MARIA, C.; FRANZONI, F.; GALETTA, F.; SANTORO, G. Post-ischaemic peak flow and myogenic flowmotion component are independent variables for skin post-ischaemic reative hyperaemia in healthy subjects. *Microvasc. Res.* (2007), doi:10.1016/j.mvr.2007.02.006.
- 47 SALLES, A.W.R. **Estudo da microcirculação na polpa dentária durante a movimentação ortodôntica via técnica laser doppler**. 2006. Tese (Doutorado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

- 48 SIMAS,L.J.P. **Glossário Odontológico**. 1989. Ed. Pancast. – SP.
- 49 STAPLE, P.H.; COPLEY, A.L. Observations on the microcirculation in the gingiva of hamsters and other laboratory animals. **Circulation Res.**, v.7, mar., p.243-249, 1959.
- 50 VÁG, J.; FAZEKAS, Á. Influence of restorative manipulations on the blood perfusion of human marginal gingiva as measured by laser Doppler flowmetry. **J Oral Rehabilitation**, v.29, p.52-7, 2002.
- 51 WANDERLEY, M.T. **Avaliação da Fluxometria Laser Doppler como método de diagnóstico da vitalidade pulpar incisivos superiores decíduos**. 2004. Tese (Doutorado em Odontologia – Pediatria) – Universidade de São Paulo.
- 52 WILKIN, J.K. Cutaneous reactive hyperemia: viscoelasticity determines response. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.89, n.2, p.197-200, 1987.
- 53 YAMAGUCHI, K.; NANDA, R.S.; KAWATA, T. Effect of orthodontic forces on blood flow in human gingiva. **The Angle Orthodontist**, v.61, n.3, p.193-203, 1991.
- 54 ZOELLNER, H.; CHAPPLER, C.C.; HUNTER, N. Microvasculature in gingivitis and chronic periodontitis: disruption of vascular networks with protracted inflammation. **Microscopy research and technique**, v.56, p.15-31, 2002.