

AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ESTUDO DA INTERAÇÃO DE PULSOS DE FEMTOSSEGUNDOS COM O TECIDO ÓSSEO

VLADIMIR DOURADO POLI

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

Orientador: Prof. Dr. Nilson Dias Vieira Jr.

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo

São Paulo 2006





MESTRADO PROFISSIONALIZANTE DE LASER EM ODONTOLOGIA



INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

ESTUDO DA INTERAÇÃO DE PULSOS DE FEMTOSSEGUNDOS COM O TECIDO ÓSSEO

Vladimir Dourado Poli

São Paulo, 2006





INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

ESTUDO DA INTERAÇÃO DE PULSOS DE FEMTOSSEGUNDOS COM O TECIDO ÓSSEO

Vladimir Dourado Poli



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

Orientador: Prof. Dr. Nilson Dias Vieira Jr. Co-orientador: Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo

São Paulo, 2006



COMISSÃO NACIONAL DE ENCIMA MUCLEAR/SP-IPER

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P766e Poli, Vladimir Dourado

i.

Estudo da interação de pulsos de femtossegundos com o tecido ósseo / Vladimir Dourado Poli; orient. Nilson Dias Vieira Junior; co-orient. Carlos de Paulo Eduardo. São Paulo: USP; 2006.

112f.: il. gráf. II. tab.

Dissertação (Mestrado Profissionalizante) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Odontologia. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Area de concentração: Lasers em Odontologia.

1. LASERS. 2. FEMTOSSEGUNDOS. 3. CIRURGIA A LASER. 4. ABLAÇÃO. 5. TECIDO ÓSSEO. 6. PULSOS ULTRACURTOS. 7. FENÔMENOS ULTRA-RÁPIDOS. 8. ESTUDOS EXPERIMENTAIS. 9. COELHOS. 10. IN VITRO. I. VIEIRA JUNIOR, NILSON DIAS. II. EDUARDO, CARLOS DE PAULO. III. TÍtulo.

> C.D.D. 617.6 C.D.U. 611.71:621.375.826 (043.3) N.L.M. WU 29

Rosária Maria Lúcia Prenna Geremia Bibliotecária CRB 10/196

Dedico este trabalho

34

2

ALC: N

......

.

1

- a meus pacientes, responsáveis pela minha incansável e eterna busca pela excelência em seus atendimentos;
- a Marcelino, Nardila e Débora, minha família;
- à Fernanda, minha futura família.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é fruto da colaboração indispensável de várias pessoas e instituições que contribuíram, de modo diferente, com o mesmo propósito: ajudarme. Então, meus agradecimentos dirigem-se:

à Universidade de São Paulo e a toda sua hierarquia que me acolheu como um de seus alunos;

à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, sede do Laboratório Especial de Laser em Odontologia, e seus membros;

ao Laboratório Especial de Laser em Odontologia, reduto da maioria de minhas atividades práticas e teóricas, e seus membros;

ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, sede do Centro de Lasers e Aplicações, e seus membros;

ao Centro de Lasers e Aplicações, reduto de muitas atividades práticas e teóricas e local de meu experimento, e seus membros;

a todos os professores deste curso;

aos meus colegas mestrandos.

AGRADECIMENTOS ESPECIÁIS

Meus agradecimentos muito especiais para aqueles que contribuíram com parcelas importantes durante a viabilização de minha jornada:

Prof. Dr. Nilson Dias Vieira Jr., incansável orientador que se excedeu nas tarefas que lhe seriam próprias e auxiliou-me, de forma brilhante, a viabilizar este trabalho;

Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo, pelo auxílio precioso e competência suprema em sua ajuda para com este estudo;

Profa. Dra. Denise Maria Zezell, pela colaboração inestimável em todas as etapas deste trabalho, sempre me conduzindo a uma qualidade superior;

Prof. Dr. Anderson Zanardi de Freitas, pelo auxílio único e extremamente competente em diversas etapas deste trabalho;

Prof. Dr. Ricardo Elgul Samad, pela ajuda ímpar na elaboração deste trabalho;

Mestranda Cláudia Cristina Riquelme, companheira e amiga, de ajuda indispensável nas fases iniciais deste trabalho;

Secretária Elsa Pereira, de sorriso sempre presente para atender minhas inúmeras solicitações.

Um último agradecimento especial

ao Prof. Dr. Rogério Miranda Pagnoncelli, chefe do Centro de Lasers da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, meu grande precursor e incentivador permanente na área do laser, o responsável por despertar em mim a paixão pela pesquisa e pela clínica nesta área.

Muito obrigado!

ESTUDO DA INTERAÇÃO DE PULSOS DE FEMTOSSEGUNDOS COM O TECIDO ÓSSEO

Vladimir Dourado Poli

RESUMO

2.0

Apesar da utilização crescente do laser nas áreas da saúde, sua interação com o tecido ósseo tem encontrado empecilhos para a utilização clínica. devido aos danos térmicos gerados no tecido. O objetivo do presente trabalho foi estudar, in vitro, a interação ablativa de pulsos laser com dezenas de femtossegundos (fs) de duração temporal e alta potência com tecidos duros, em particular, em tecido ósseo de coelho. Este sistema de Ti:safira é composto por um oscilador principal e um amplificador (técnica CPA). Os pulsos extraídos após a compressão temporal apresentaram 830 nm, 51 fs, 1000 Hz e energia de ~0,7 mJ. O fator de gualidade do feixe M^2 era de 2,0; a lente focalizadora tinha 38 mm de diâmetro, com distância focal de 20 cm. Utilizou-se, também, uma mesa de translação x,z computadorizada para o deslocamento das amostras. Determinouse a fluência de limiar de ablação como 0,54 J/cm², e a intensidade de limiar de ablação como 9,26 TW/cm². Pela técnica OCT, analisou-se a profundidade de ablação em função da intensidade e verificou-se que a intensidade, na região de ablação em forma de "gravata borboleta", que apresentou o maior volume de ablação relativo, corresponde a cerca de quatro vezes a intensidade de limiar de ablação. Por meio da análise em MEV, observaram-se as bordas das cavidades produzidas com cantos extremamente vivos, na ordem submicrométrica, desenhos agudos e alta precisão de corte. Danos térmicos não foram observados em nenhuma das amostras.

1

Palavras-chave: *laser*; femtossegundos; tecido ósseo; pulsos ultracurtos; ablação; fenômenos ultra-rápidos.

IN VITRO STUDIES OF FEMTOSECOND PULSE INTERACTION WITH BONE TISSUE

Vladimir Dourado Poli

ABSTRACT

Lasers utilization in biomedical areas is a growing area, in spite of the collateral thermal damage that they can cause in the surrounding tissue. The purpose of this study is to analyze, in vitro, the ablative interaction of a femtosecond and high power laser, the amplified Ti:sapphire laser (830 nm), impinging in the hard tissue, in particular, the rabbit bone tissue. A principal oscillator and an amplificator compose this laser system (CPA technique). The extracted pulses peaking at 830 nm, after the temporal compression, present 51 fs, 1000 Hz and energy of \sim 0,7 mJ. The M^2 guality factor was 2.0, and the laser was focused by 20 cm focus lens. A computerized translation table x,z was also used for the movement of the samples. We determined an ablation threshold fluency of 0,54 J/cm² and the ablation threshold intensity of 9,26 TW/cm². Using the Optical Coherent Technique, we analyzed the ablation volume as a function of the intensity and then verified that the intensity the maximum ablation rate is found at four times the ablation limier intensity. With the SEM analysis, it was observed the cavities produced with shape edges, at sub micrometric order, sharp design and high cut precision. Thermal damages were not observed in any of the samples.

Key words: laser; femtosecond; bone tissue; ultra short pulse.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	18
3 FUNDAMENTAÇÃO CIENTÍFICA	19
3.1 Estudo dos Lasers	20
3.1.1 Regimes de operação dos Lasers	25
3.1.2 O Laser de Ti:safira: Tecnologia Femtossegundo – O sistema de pulsos	
ultracurtos - USPL T ³ (<i>Table Top Terawatt</i>)	32
3.2 Características do tecido-alvo - tecido ósseo	40
3.3 Estudo da interação do feixe Laser com o tecido ósseo	46
3.4 Estudo da técnica de Tomografia por Coerência Óptica – Optical	
Coherence Tomography (OCT)	60
4 MATERIAIS E MÉTODOS	66
4.1 Material	.66
4.1.1 Equipamentos	.66
4.2 Métodos	.67
4.2.1 Obtenção das amostras	.67
4.2.2 Preparo das amostras	.68
4.2.3 Sistema USPL T ³ de Ti:Al ₂ O ₃ utilizado	.69
4.2.4 Preparo da mesa de translação	.71
4.2.5 Irradiação das amostras	.72
5 RESULTADOS	.75
5.1 Intensidade de limiar de ablação	.80
5.2 Fluência de limiar de ablação	.81
5.3 Profundidade de ablação em função da intensidade	.82

V	I	l	

5.4 Análise micromorfológica das superfícies irradiadas	85
6 DISCUSSÃO	98
7 CONCLUSÕES	104
BIBLIOGRAFIA	105

 $\{i\}$

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\Delta \mathbf{t_p}$	-	Duração temporal do pulso, ou largura temporal, ou largura de pulso, ou tempo de duração do pulso
λ	_	Comprimento de onda
Ø	-	Diâmetro do feixe
μ_a	-	Coeficiente de absorção
μ m	_	Micrômetro
μ _s	-	Coeficiente de espalhamento
μs	_	Microssegundo
Α	-	Área do feixe
CCD	3.T	Charge-Coupled Device
CCTN	_	Centro de Ciência e Tecnologia dos Materiais
CLA	-	Centro de Lasers e Aplicações
CNEN	—	Comissão Nacional de Energia Nuclear
CO ₂	-	Dióxido de carbono
СРА	-	Chirped Pulse Amplification (Amplificação por Pulsos Chirped)
CW	_	Continuous Wave (Regime de operação contínua)
Ep	-	Energia por pulso
f	_	Distância focal da lente ou foco
FL	·	Fluência de limiar de ablação
FROG	_	Frequency-Resolved-Optical
fs	<u></u>	Femtossegundo
GW	7	Gigawatt
HAZ	-	Heat Affected Zone (Zona Afetada pelo Calor)
He-Ne	-	Hélio-Neônio
Hz	_	Hertz
l _o	_	Intensidade no foco do feixe
I	6	Intensidade do campo, ou densidade de potência, ou densidade de fluxo emitido

l _{th}	-	Intensidade de limiar de ablação
IPEN	_	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
J		Joule
kHz	_	Quilohertz
kW	_	Quilowatt
KLM	_	Kerr-lens Mode-Locking (Mode Locking por Lente Kerr)
M ²	-	Fator de qualidade do feixe
MEV	-	Microscopia eletrônica de varredura
MHz	-	Megahertz
ms	_	Milissegundo
MW	_	Megawatt
nm		Nanômetro
ns	-	Nanossegundo
nJ	-	Nanojoule
ОСТ	_	Optical Coherence Tomography (Tomografia por Coerência Óptica)
Ρ	-	Potência
ps	-	Picossegundo
P _{média}	Н	Potência média
P _{pico}	_	Potência de pico
Q	_	Quality factor (Fator de Qualidade)
SESAM	-	Semiconductor Saturable Absorber Mirror (Espelho Semicondutor Absorvedor Saturável)
S	—	Segundos
t _e	_	Tempo de exposição
	_	Transverse Eletromagnetic Mode 00
Ti	_	Titânio
TR _p		Taxa de repetição de pulso
тw	-	Terawatt
USPL	Ξ	Ultra Short Pulse Laser (Laser de pulsos ultracurtos)
W	_	Watt

LISTA DE TABELAS

0

Tabela 1:	Coeficientes de absorção (μ_a) e de espalhamento (μ_s) do tecido ósseo para os comprimentos de onda (λ) de 514 e	50
	1004 11/11	00
Tabela 2:	Deslocamentos e velocidades de deslocamento das amostras nos eixos x e z	73
Tabela 3:	E _{pulso} (μJ) aferida e potência (GW) já calculada para as amostras	76
Tabela 4:	Limiares de ablação em diferentes materiais	101

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1:	Traço de autocorrelação demonstrando a largura temporal	75
Gráfico 2:	Área do feixe <i>laser</i> [A] (μ m ²) em relação à posição da amostra [Z] (μ m), evidenciando que quanto mais próximo à posição 2 _{PL} , menor é a área do feixe	78
Gráfico 3:	Cintura do feixe [ω] (μ m) em relação à posição na amostra [Z] (μ m), evidenciando que quanto mais próximo à zona central da amostra (posição [0]), menor é a cintura do feixe	79
Gráfico 4:	Potência [P] (10^{14} W/cm ²) em função da posição na amostra [Z] (µm), evidenciando que quanto mais próximo da zona $2\rho_L$, maior é a potência	80
Gráfico 5:	Relação entre a profundidade de ablação e a intensidade. A linha azul representa o volume de ablação relativo e a linha vermelha o perfil da intensidade em função da distância Z de varredura. Evidencia-se que a região de maior volume de ablação relativo corresponde a, aproximadamente, 40 TW/cm ² de intensidade.	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Laser de Tissafira	19
Figura 2:	Quadro da escala de potência e escala de tempo não usual com classificação dos pulsos de acordo com a duração	06
		20
Figura 3:	Cristal de $\Pi:Al_2O_3$ (Π tanio/satira)	33
Figura 4:	Visualização de harmônicos gerados por feixe de pulsos ultracurtos de alta energia	33
Figura 5:	Amplificador CPA de Ti:safira	34
Figura 6:	Laser de Ti:safira	35
Figura 7:	Sistema de tomografia por coerência óptica	61
Figura 8:	Sistema simplificado de tomografia por coerência óptica	63
Figura 9:	Osteotomia com serra circular da tíbia do coelho para obtenção das amostras	68
Figura 10:	Mesa de translação computadorizada utilizada	71
Figura 11:	Amostra posicionada sobre a mesa de translação	72
Figura 12:	Irradiação da amostra visualizada com auxílio de um marcador	72
Figura 13:	Região de ablação em forma de língua de gato	77
Figura 14:	Micrografia eletrônica de varredura demonstrando as medidas do comprimento de ablação e da ρ_{max} (aumento original de 30X)	81
Figura 15:	Imagem reconstruída e tomada por tomografia por coerência óptica (OCT) da amostra 3: cortes frontal, sagital, axial e imagem em três dimensões	82
Figura 16:	Imagem em perfil de relevo em três dimensões do volume do material ablacionado da amostra 3, reconstruída a partir das medidas por tomografia por coerência óptica	83
Figura 17:	Micrografia eletrônica de varredura da região $2\rho_{max}$, evidenciando a nitidez das bordas da cavidade, cantos extremamente vivos e ausência de HAZ (aumento original de 400X)	85

Figura 18: Micrografia eletrônica de varredura da região 2pmáx, evidenciando um desenho aqudo da cavidade, cantos vivos 86 e ausência de HAZ (aumento original de 1000X)..... Figura 19: Micrografia eletrônica de varredura da região 2pmáx, mostrando que a estrutura do tecido ósseo presente é muito parecida com a estrutura do tecido ósseo íntegro (aumento original de 2000X)..... 87 Figura 20: Micrografia eletrônica de varredura da região 2pmin, evidenciando uma maior nitidez das bordas da cavidade e cantos ainda mais vivos, guando comparada com a região 88 2pmáx, observada na Figura 17 (aumento original de 400X)... Figura 21: Micrografia eletrônica de varredura da região 2pmin, evidenciando uma maior nitidez das bordas da cavidade e cantos ainda mais vivos, guando comparada com a região 88 2pmáx, observada na Figura 18 (aumento original de 1000X). Figura 22: Micrografia eletrônica de varredura da região 2pmin, evidenciando uma maior nitidez das bordas da cavidade e cantos ainda mais vivos, guando comparada com a região 89 $2\rho_{max}$, observada na Figura 19 (aumento original de 2000X). Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo, Figura 23: evidenciando uma cavidade redonda, com cantos vivos e ausência de HAZ. No fundo da cavidade, pode-se, também observar uma zona mais profunda, correspondente ao local de maior intensidade da radiação laser. As trincas são artefatos de técnica (aumento original de 90 400X)..... Figura 24: Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo, demonstrando, com mais detalhes, o fundo da cavidade, local de maior intensidade da radiação laser (aumento original de 1000X)..... 91 Figura 25: Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo, demonstrando, com mais detalhes, a borda da cavidade 92 (aumento original de 2000X)..... Figura 26: Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo, demonstrando, com mais detalhes, a borda da cavidade (aumento original de 2000X)..... 92 Figura 27: Micrografia eletrônica de varredura das cavidades do tipo furo produzidas ao longo da cavidade tipo traço. Desse modo, é possível comparar os dois tipos de cavidades formadas (aumento original de 15X)..... 93 Figura 28: Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo produzida no ponto Z_L. Nesse ponto, a cavidade é redonda, não apresenta os cantos vivos, é nitidamente rasa e apresenta 53 µm de diâmetro (aumento original de 400X)..... 94

XIV

Figura 29:	Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo produzida próxima à região $2\rho_{máx}$. Cavidade mais profunda, cantos tornam-se mais vivos e diâmetro maior (110 μ m), quando comparada com a cavidade da Figura 28 (aumento original de 400X)	95
Figura 30:	Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo produzida próxima à região $2\rho_{máx}$. Cavidade muito semelhante à cavidade presente na Figura 29 (aumento original de 400X)	96
Figura 31:	Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo produzida na região correspondente ao $2\rho_{min}$. Apresenta maior nitidez dos bordos, maior profundidade e cantos mais vivos, quando comparada com as cavidades presentes nas Figuras 28, 29 e 30. Seu diâmetro é de 64 μ m (aumento original de 400X).	97

XV

1 INTRODUÇÃO

Lasers são instrumentos que fazem parte do cotidiano, cada vez com maior freqüência. Podem ser observados em várias atividades corriqueiras no dia a dia como, por exemplo, em telefonia, espetáculos de música, aparelhos de *compact disc*, hospitais e consultórios dentários. De maneira mais discreta, os *lasers* executam inúmeras tarefas em fábricas e indústrias dos mais diversos ramos de atividade, fornecendo maior rapidez e precisão que os métodos tradicionais.

A importância dos *lasers* vem crescendo, na medida em que novas aplicações são descobertas. Tarefas que seriam muitos difíceis, ou até impossíveis de serem realizadas pelo emprego de outros métodos, estão cada vez mais ao alcance de todos, pois um feixe *laser* consegue ter grande resolução espacial, atingindo intensidades extremamente altas e em lugares de difícil acesso ou em ambiente agressivo (MELLO; MELLO, 2001).

Uma das áreas da saúde mais interessantes e atuais diz respeito ao estudo das interações dos diversos tipos de *lasers* com os tecidos biológicos, compreendendo inúmeras pesquisas a fim de avaliar os benefícios e possíveis efeitos adversos desta técnica (EDUARDO; GUTKNECHT, 2004).

Os *lasers* já estão sendo amplamente utilizados nas áreas de Oftalmologia, Dermatologia, Cirurgia Geral, Odontologia e na Oncologia, entre outras. Atualmente, os *lasers* vêm-se destacando dentro das novas tecnologias aplicadas às ciências da vida (MISERENDINO; PICK, 1999).

As pesquisas, envolvendo a utilização do *laser* nas ciências da vida, vêm objetivando analisar as mudanças obtidas, do ponto de vista químico, físico e morfológico, e correlacioná-las tanto com as propriedades dos tecidos irradiados como com as características do *laser* utilizado.

A utilização do *laser*, na Odontologia, está em ascensão e já é uma realidade em diversos países, sendo utilizado como técnica alternativa ou como coadjuvante ao tratamento convencional. Inúmeras são as técnicas de irradiação *laser*, estando presente nas diversas áreas odontológicas, e tendo indicação em tecidos moles como para tecidos duros (EDUARDO; GUTKNECHT, 2004).

Os *lasers* de pulsos ultracurtos, emitindo pulsos na ordem de femtossegundos, surgem de maneira promissora na medida em que resultados nunca antes obtidos estão sendo alcançados. Características particulares destes equipamentos possibilitam novos achados, colocando a interação da radiação *laser* com a matéria, e em particular, com os tecidos biológicos, em novos patamares (KIM et al., 2001).

÷

2 OBJETIVOS

O corte do tecido ósseo é um procedimento relativamente freqüente na clínica odontológica e pode ser utilizado em cirurgias periodontais, dentoalveolares ou em casos de traumatismos e cirurgias bucomaxilofaciais.

A técnica empregada para a realização de tal procedimento é a utilização de motores cirúrgicos, micromotores ou turbinas de alta rotação, e implica aquecimento significativo do tecido (necessidade de refrigeração), assim como baixa precisão de corte.

Por esse motivo, estudar-se-á a viabilidade de uso de um *laser* para corte de tecido ósseo, visando diminuir as desvantagens presentes nas técnicas tradicionais, ou seja, tentar minimizar ou excluir o aquecimento do tecido e fornecer uma maior precisão de corte.

O presente estudo, então, terá como proposição analisar, *in vitro*, a interação da radiação de um *laser* de pulsos ultracurtos (*Ultra Short Pulse Laser* – USPL) de Ti:Al₂O₃ (Titânio:safira) com o tecido ósseo de coelhos. Assim, busca-se com esse trabalho:

- a) determinar, experimentalmente, o limiar de ablação no regime de 60 femtossegundos (fs);
- b) determinar, experimentalmente, a intensidade que promove o maior volume de ablação;
- c) utilizar técnicas de medidas convencionais (microscopia eletrônica de varredura – MEV) e não invasivas (Tomografia por Coerência Óptica - Optical Coherence Tomography – OCT) para analisar as características morfológicas da região de ablação.

3 FUNDAMENTAÇÃO CIENTÍFICA

Para melhor compreensão e didática, dividiu-se este capítulo em quatro partes:

- 1^a) estudo dos *lasers*, especificando os regimes de operação dos *lasers* e o *laser* de Ti:safira (Figura 1);
- 2ª) características do tecido-alvo tecido ósseo;
- 3ª) estudo da interação do feixe laser com o tecido ósseo;
- 4^a) estudo da técnica de Tomografia por Coerência Óptica.



Figura 1: Laser de Ti:safira.

3.1 Estudo dos Lasers

.

1

1

Pode-se começar a falar do surgimento do *laser* na época do Renascimento, quando o paradigma Aristotélico foi quebrado pela introdução dos novos conceitos da Mecânica Clássica, fundamentados por Galileu e Newton. As idéias, defendidas por Aristóteles e apoiadas pela Igreja Católica, apresentavam um forte componente espiritualista e, com a revolução cultural da época, passaram a ter um componente mais materialista, sendo fundamentadas pela experimentação.

Leonardo da Vinci, grande filósofo da época, afirmava: "Nenhuma investigação humana pode considerar-se verdadeira ciência se não passar por demonstrações matemáticas".

Valendo-se desse pensamento da época, Young e Fresnel, com seus experimentos de interferência, preconizaram o entendimento da luz como uma onda. A luz também foi interpretada, na Física Clássica, em demonstrações de Maxwell e Hertz, como um fenômeno eletromagnético, ou seja, capaz de exercer força em cargas elétricas (FREIRE Jr.; NETO, 1997).

A partir dessas novas idéias, Albert Einstein passou a descrever a luz como constituída de pequenas partículas de energia eletromagnética, denominadas fótons e, em 1905, reporta a teoria quantitativa da luz. Em 1917, estudando a interação dos átomos com a luz, Einstein introduz o conceito de emissão estimulada, além dos já existentes de absorção estimulada e decaimento espontâneo. A emissão estimulada da radiação tornou-se o princípio físico básico que permitiu a invenção dos *Masers* e, posteriormente, dos *Lasers* (FREIRE Jr.; NETO, 1997).

Em 1957, dois cientistas americanos, Charles Townes e Arthur Schawlow, sugeriram a teoria específica do *laser* baseada na amplificação da luz por emissão estimulada (FREIRE Jr.; NETO, 1997).

Assim, em 1960, Theodore Maiman, baseado nessas teorias, desenvolve o primeiro *laser*, feito com uma barra de rubi sintético, que produzia a ação *laser* ou emissão *laser*, quando uma luz comum intensa, por meio de bombeamento, incidia sobre essa barra (HELLWARTH, 1961). A palavra "LASER" é um acrônimo e é composta pelas iniciais de Light <u>Amplification by Stimulated Emission of Radiation</u>, ou seja, "amplificação da luz por emissão estimulada de radiação".

Para entender alguns princípios da luz *laser* é importante o conhecimento de algumas características presentes em todos os tipos de luz.

A luz pode ser descrita como uma onda eletromagnética e, como tal, apresenta algumas características ondulatórias que a identificam plenamente (MELLO; MELLO, 2001).

Esta onda tem uma característica importante chamada de comprimento de onda (λ), que nada mais é do que a distância medida entre dois picos consecutivos desta trajetória. É o comprimento de onda que define a cor da luz. A unidade utilizada para a medição deste comprimento é uma fração do metro, o nanômetro (nm), que é equivalente a 10⁻⁹ metro. Essa característica, juntamente com a freqüência e a amplitude, definem a luz dentro do espectro completo de ondas eletromagnéticas (DEDERICH, 1993).

Fóton é a menor unidade da luz que é composta por um número inteiro de fótons, ou quanta de luz. Este fóton é um quantum de energia eletromagnética com polarização, direção e comprimento de onda únicos.

63

Uma maneira simples de entender o conceito de espectro é a observação de um arco-íris. Esse fenômeno natural é formado pela decomposição da luz branca em sete cores básicas que, perceptíveis ao olho humano, fazem parte do espectro de ondas eletromagnéticas e são definidas por seus comprimentos de onda: a luz azul tem o seu comprimento de onda em torno de 450 nm; a verde tem o seu comprimento de onda em torno de 550 nm; e assim por diante com todas as cores básicas. Existem, porém, outras "cores" imperceptíveis ao ser humano, mas que podem ter seus efeitos medidos (MISERENDINO; PICK, 1999).

Abaixo da faixa de luz que se chama de "visível", ou seja, com menor comprimento de onda, tem-se o ultravioleta, que é uma faixa de luz bem ampla de comprimentos de onda. A luz ultravioleta é a responsável pelo escurecimento da pele quando há exposição ao sol (MELLO; MELLO, 2001; MISERENDINO; PICK, 1999).

Acima da faixa de luz visível, ou seja, com maior comprimento de onda, tem-se o infravermelho que, por sua vez, também é uma faixa de luz muito mais ampla do que aquela que se consegue enxergar. Essa luz é responsável pelo aquecimento e é comumente chamada de "calor" (MELLO; MELLO, 2001; MISERENDINO; PICK, 1999).

Segundo Mello e Mello (2001), além das características de comprimento de onda, freqüência e amplitude, os *lasers* apresentam três propriedades específicas:

- 1^a) monocromaticidade: apresenta grande pureza espectral, ou seja, cada cor é constituída de fótons de mesmo comprimento de onda e freqüência, apresentando coerência temporal;
- 2ª) colimação: os fótons viajam em uma única direção e de forma paralela, sem divergências significativas, até mesmo em grandes distâncias, e;
- 3ª) coerência: os fótons caminham em fase uns com os outros, no tempo e no espaço, e na mesma direção.

A coerência manifesta-se, simultaneamente, pela monocromaticidade (coerência temporal) e pela frente de onda unifásica (coerência espacial), permitindo que o feixe *laser* seja focalizado em regiões extremamente pequenas, até o limite teórico do comprimento de onda do *laser* (KUTSCH, 1993; RENSON, 1989).

O equipamento *laser* é um oscilador e, como tal, é composto por três componentes, independentemente de seu tamanho: 1) um meio ativo; 2) um sistema de bombeamento; e 3) um ressonador óptico (MAILLET, 1987). É alimentado, praticamente, por qualquer fonte externa de energia; até mesmo um outro *laser* pode lhe servir como fonte de excitação.

Quando em condições normais e sem excitação, as espécies *laser* ativas do sistema estão em seu estado fundamental, ou de mínima energia.

Quando uma determinada quantidade de energia incide sobre as partículas do meio ativo, este, dependendo da quantidade de energia que recebe, pode se desprender de sua órbita original e passar para outra, mais interna ou mais externa, absorvendo energia.

No equipamento *laser*, o meio de ganho ativo, também chamado de meio amplificador ou, simplesmente, meio ativo, é escolhido por conveniência, para que se consiga próduzir uma luz com o comprimento de onda desejado. O meio de ganho, construído com material que pode produzir radiação *laser*, pode ser classificado em sólido, líquido, gasoso ou semi-sólido. É o meio ativo que nomeia as categorias dos *lasers* (TODESCAN, 2003).

De acordo com Mello e Mello (2001), os raios absorvidos podem causar ou produzir diversas situações:

- a) reações químicas (provocar transformação química), rompendo as ligações químicas;
- b) oxidação calórica;

;

ŝ

- c) recombinação de elétrons;
- d) ionização de átomos e/ou moléculas;
- e) colisão de átomos e elétrons; e

f) excitação de átomos e/ou moléculas, no caso dos lasers.

Então, um fóton, vindo da fonte externa de alimentação, excita as partículas que podem ser átomos, íons ou moléculas do meio ativo. Os elétrons dessas partículas armazenam o fóton recebido e, com isso, despopulam o estado fundamental de energia, também conhecido como energia de equilíbrio, modificando as distribuições de populações. Este é o fenômeno da absorção (RENSON, 1989; CHESS, 1991).

Essa transição entre os estados de energia é chamada de mecanismo de excitação ou bombeamento. Desse modo, pode ocorrer a destruição do equilíbrio termodinâmico e a conseqüente criação de um estado de não equilíbrio, ou equilíbrio artificial, no qual a população do nível energético superior (estado excitado) predomina sobre a de nível energético inferior (estado fundamental). Esse fenômeno é chamado de inversão de população (RENSON, 1989; CHESS, 1991).

Estes elétrons não ficam excitados por muito tempo, pois retornam para os níveis de energias mais baixas e acabam liberando a energia anteriormente absorvida de uma forma espontânea: é o fenômeno conhecido como emissão espontânea de radiação (MISERENDINO; PICK, 1995).

O decaimento dos elétrons (que se encontram no estado excitado) para o estado fundamental pode ser acelerado pelos fótons incidentes. Este processo faz com que a energia adquirida seja emitida, gerando o fenômeno conhecido como emissão estimulada de radiação (HILBORN, 1982). Este segundo fóton é chamado de fóton gêmeo, pois apresenta a mesma freqüência, fase, direção e polarização que o primeiro. Essa observação, antes de sua comprovação, foi teorizada por Einstein, já em 1917, quando o físico estudava as interações da luz com a matéria (HILBORN, 1982; MAILLET, 1987).

Esses fótons viajam, em várias direções, dentro da cavidade ressonante. Nesses percursos, alguns batem nas paredes e são absorvidos e perdidos na forma de calor. Há outros, entretanto, que viajam na direção paralela ao eixo dos dois espelhos do ressonador e sofrem múltiplas reflexões. São, então refletidos sobre si mesmos sucessivas vezes e, durante sua passagem pelo meio ativo, induzem a emissão de mais fótons por decaimento dos elétrons excitados, ocorrendo o fenômeno denominado de amplificação da radiação. Este ocorre como um crescimento geométrico.

Por um dos espelhos da cavidade ressonante ser parcialmente refletor, somente quando a amplificação atinge um limiar de energia dentro da cavidade, e, ainda, na dependência do meio ativo, ocorre uma transmissão desses fótons. Tal vazamento constitui uma perda útil inevitável e, então, tem-se um feixe *laser* emitido (LIZARELLI, 2000).

A cavidade ressonante do *laser* apresenta uma condição de ressonância específica na qual a distância entre os dois espelhos deve ser mantida na seguinte proporção:

$$L=\frac{n.\lambda}{2},$$

sendo n um número inteiro e λ o comprimento de onda de ressonância. Observase que a cavidade *laser* pode comportar um grande número de comprimentos de onda.

As diversas combinações de n e λ que satisfazem esta relação são denominadas modos de operação longitudinais da cavidade. Tal condição de ressonância é característica de fenômenos vibratórios (BOULNOIS, 1986).

O modo de emissão se refere à distribuição estável do feixe *laser* em um plano perpendicular ao eixo da cavidade. Isto quer dizer que a amplitude e a fase de onda permanecem inalteradas, em uma secção transversal da cavidade, após a propagação entre os dois espelhos. O Modo Eletromagnético Transversal (*Transverse Eletromagnetic Mode* – TEM₀₀) é simétrico, sendo que a distribuição espacial do campo tem uma forma gaussiana. Neste, a distribuição espacial da energia é mais concentrada na região central do feixe, possibilitando produzir aí intensidade luminosa (ROCHA, 2001).

Desse modo, o ressonador não só garante tal regeneração como também apresenta a função de filtrar as freqüências de oscilação desse campo no interior da banda de emissão dos átomos ativos (BOULNOIS, 1986).

3.1.1 Regimes de operação dos Lasers

Existem dois modos de funcionamento, ou dois regimes temporais fundamentais de operação, de um equipamento *laser*. Esses modos são baseados na maneira como o sistema (elemento ativo) é bombeado pela fonte de alimentação e denominam-se regime de operação contínuo (CW) e regime de operação pulsado.

No regime de operação contínuo, a emissão se dá na forma de um feixe de potência constante durante todo o período da radiação. A forma espacial do feixe também é constante e a inversão de população é estacionária, sendo a potência a única variável controlada pelo operador, podendo ir de zero até o valor máximo característico de cada equipamento (TODESCAN, 2003).

Os primeiros *lasers* empregados nas ciências da saúde eram os de regime contínuo. Atualmente, nessa área, a maioria dos *lasers* utilizados são os de regime pulsado por apresentarem esses equipamentos características mais adequadas, proporcionando maiores benefícios quando da interação com os tecidos biológicos (LIZARELLI, 2000).

Para melhor didática, a Figura 2 mostra um quadro com as escalas de tempo e potência. Essa escala é muito importante para o entendimento do funcionamento dos *lasers* pulsados nos quais a emissão de luz é intermitente.

segundo	Duração	ulassificaçao dos pulsos	Por extenso	Escala de potência	Símbolo	9
	1s		Um segundo	Watt	W	1W
Milissegundo ms	10 ⁻³ s		Um milésimo de segundo	Decawatt	daW	10W
Microssegundo µs	10 ⁻⁶ s	Pulsos longos	Um milionésimo de segundo	Quilowatt	kW	10 ³ W
Nanossegundo	10 ⁻⁹ s	Pulsos curtos	Um bilionésimo de segundo	Megawatt	MW	10 ⁶ W
Picossegundo	10 ⁻¹² s		Um trilionésimo de segundo	Gigawatt	GW	10 ⁹ W
Femtossegundo fs	10 ⁻¹⁵ s	Pulsos ultracurtos	Um quadrilionésimo de segundo ou milionésimo de bilionésimo de segundo	Terawatt	WT	10 ¹² W

Figura 2: Escala de potência e escala de tempo não usual com classificação dos pulsos de acordo com a duração tempo.

į,

(2 Esses equipamentos emitem pulsos com tempos extremamente curtos e potências muito altas. Esses números são tão extremos que, dificilmente, se ouve falar ou se lê algo a respeito no dia a dia.

Para o entendimento do estudo em questão, alguns conceitos são necessários:

- a) Taxa de repetição de pulso (TR_p): é a quantidade de pulsos emitidos em um segundo (freqüência dos pulsos), ou seja, quantos pulsos são dados em um segundo. A unidade é o Hertz (Hz);
- b) Duração temporal do pulso (∆t_p): é o intervalo de tempo de duração de cada pulso. Pode ser denominado largura temporal, largura de pulso ou tempo de duração do pulso. Sua medida pode variar de milissegundo (ms) até femtossegundo (fs);
- c) Tempo de exposição (t_e): é o tempo de duração da exposição da amostra à radiação *laser*, o tempo total da interação *laser*-tecido, e é medido em segundos (s).

Atualmente, os pulsos são divididos em longos, curtos e ultracurtos, dependendo de sua Δt_p (Figura 2).

A TR_p, portanto, é condicionada à capacidade do meio amplificador de retornar ao equilíbrio térmico entre dois pulsos. Trata-se de um problema de energia durante o bombeamento e, por esse motivo, geralmente, as TR_p variam em uma escala de 1 Hz a 100 Hz (BOULNOIS, 1986; TODESCAN, 2003).

De acordo com Miserendino e Pick (1987), para os *lasers* de menores Δt_p , é mais fácil falar da quantidade de energia por pulso (E_p), em Joules (J), do que falar da média de potência de saída em Watt (W).

Os primeiros *lasers* pulsados emitiam pulsos com duração na ordem de centenas de microssegundos (μs), atingindo potência de pico (P_{pico}) da ordem de quilowatt (kW) (VIEIRA Jr., 2000).

Era necessário, entretanto, aumentar a P_{pico} e a intensidade dos *lasers*, para que novos resultados pudessem ser alcançados. Esse foi um dos problemas mais importantes para a ciência e a tecnologia de *lasers* e, a fim de que tal feito pudesse ser alcançado, as pesquisas voltaram-se para o desenvolvimento de métodos pra encurtar a Δt_p do *laser*. Foi nesse momento que Hellwarth (1961) propôs o conceito de chaveamento-Q, ou *Q-switching*. A técnica de encurtamento da Δt_p pelo método de chaveamento-Q foi demonstrada, pela primeira vez, em 1962, por Hargrove et al. (1964), e resultou em pulsos de nanossegundos (ns) e P_{pico} de megawatts (MW).

A chave Q, de origem da palavra inglesa *Quality*, melhora a qualidade da emissão estimulada dentro da cavidade ressonante do *laser*. O *Q-switching* do *laser* impede que os fótons, que poderiam induzir o decaimento, cheguem até o espelho, o que culmina com uma amplificação e estimulação de toda a população armazenada. Se for comparado com o regime CW, o chaveamento Q permite um acúmulo muito maior de elétrons no estado excitado. Este acúmulo tem por objetivo causar um decaimento de população muito maior e em uma só vez, o que faz gerar uma energia muito maior por pulso (HARGROVE et al., 1964).

Nos *lasers* de operação pulsada, a indução do pulso pode ser originada das seguintes formas:

- a) por corrente elétrica, ligando e desligando a excitação;
- b) por interruptores acústico-ópticos, baseados na formação de uma rede de difração, ou outras interrupções mecânicas.

Hargrove et al. (1964), usando um *laser* de He-Ne, demonstraram outra técnica para encurtar a Δt_p do *laser*, denominada de travamento de modos, ou *mode-locking*. Essa técnica consiste no controle dos modos de oscilação permitidos na cavidade ressonante.

As fases desses modos são, normalmente, independentes entre si; entretanto, sob determinadas condições, essas ondas podem ter uma relação de fase fixa entre si. Tal modulação irá impor uma relação de fase dos modos oscilantes que corresponderá a um "trem" de pulsos, no qual uma espécie de seleção natural faz permanecer somente o pulso de maior intensidade (BLOEMBERGEN, 1999).

Mocker e Collins (1965) demonstraram o travamento de modos passivo de um *laser* de rubi por meio de um absorvedor saturável. Desse modo, a estimulação moduladora é via interação não-linear da intensidade do pulso intracavidade com certos componentes no ressonador (TODESCAN, 2003).

1

۰.

Demaria et al. (1966), utilizando um *laser* de Nd:vidro com travamento de modo passivo, conseguiram pulsos mais curtos que ns.

Já em equipamentos laser, com acoplamento de modos de oscilação ativo, o modulador é acionado externamente, porém se encontra dentro da

COMISSAO NACIONAL DE EXERCISA AUCUFARISP-IPEN

cavidade. O travamento de modos de operações passivo é aquele em que a própria luz do *laser* serve para acionar um elemento óptico não-linear (TODESCAN, 2003).

Spence et al. (1991) descobriram que os *lasers* de Ti:safira podem apresentar um travamento de modos dinâmico espontâneo sem o uso de um absorvedor saturável. O efeito é baseado na ocorrência do autofoco pelo índice de refração dependente da intensidade do cristal de Ti:Al₂O₃.

Essa modulação, que pode ser descrita como uma automodulação, utiliza um dos dois esquemas chamado de *Mode Locking* por Lente *Kerr* (*Kerr-Lens Mode Locking* – KLM) ou Modulação com Espelho Semicondutor de Absorção Saturável (*Semiconductor Saturable Absorbing Mirror* – SESAM). Essas modulações são extremamente rápidas, gerando pulsos na ordem de femtossegundos e apresentam, ainda, a possibilidade de se combinarem com diversos *lasers* de estado sólido (STRASSL et al., 2002).

O KLM foi fundamental para o desenvolvimento dos *lasers* de pulsos ultracurtos. Normalmente, os *lasers*, operando no regime KLM, produzem pulsos mais curtos que 100 fs, com energia de pulso na ordem de nanojoule (nJ) e taxa de repetição em torno de 10⁸ Hz (VIEIRA Jr., 2000).

A técnica KLM possibilitou a redução dos pulsos para o regime de picossegundos (ps) e fs, o que culminou com um aumento da P_{pico} para gigawatts (GW) (BLOEMBERGEN, 1999).

O primeiro pulso menor que 1 ps foi obtido por Shank e Ippen (1974), com um *laser* associado a um absorvedor saturável (BLOEMBERGEN, 1999). Zhou et al. (1994) alcançaram pulsos com 8 fs de duração com um *laser* de Ti:Al₂O₃. Havia, no entanto, um limite de energia por pulso que poderia ser alcançado devido ao fato de o pulso curto, em tempo, ter uma potência ou intensidade muito alta. Desse modo, a alta potência ou a alta intensidade acabava por danificar o material usado para amplificá-lo (CUOS, 2003).

Strickland e Mourou (1985), para evitar esse dano ao material e, ainda, alcançar altas intensidades, desenvolveram uma terceira técnica chamada de Amplificação por Pulsos *Chirped* (CPA). Esse sistema alarga a duração do pulso, em seguida, amplifica-o e, após, comprime-o para a sua duração inicial. O resultado é um aumento de suas energia e potência, como proposto nas técnicas iniciais (VIEIRA Jr., 2000). O uso de uma CPA impede a danificação do material amplificador, pois as amplitudes dos vários modos oscilantes são mantidas constantes no tempo (STRICKLAND; MOUROU, 1985; TODESCAN, 2003). A CPA acresce ao pulso um *chirp*, um atraso entre as componentes de freqüência do pulso e, assim, a freqüência muda durante o tempo do pulso. Por fim, o compressor remove esse *chirp* para reaver o pulso curto amplificado (CUOS, 2003).

Logo, na técnica CPA, o pulso é alargado no tempo, sua potência e, conseqüentemente, sua intensidade são diminuídas para abaixo do limiar de dano do meio de ganho e dos elementos ópticos do amplificador, evitando, desse modo, a destruição do sistema (TODESCAN, 2003).

Esta diminuição da P_{pico}, originada pelo alargamento da Δt_p para ps ou nanossegundos (ns), torna possível a utilização de amplificadores de estado sólido, com a capacidade de armazenar energia muito superior à dos amplificadores que utilizam corantes. A amplificação do pulso é induzida, e o pulso inicial com E_p, na ordem de nJ, Δt_p em torno de 100 fs e P_{pico} próxima de 10⁵ W é amplificado, podendo atingir intensidades superiores a 10¹⁸ W/cm² após a recompressão (ALBERT et al., 2000).

Assim, a técnica CPA torna possível, para pulsos ultracurtos, a extração de energia de materiais com alta capacidade de armazenamento, sem ocasionar efeitos não-lineares associados a altas intensidades (PERRY; MOUROU, 1993).

Os novos *lasers* de estado sólido, operando no regime de fs, que surgiram no início da década de 1980, aliados à técnica CPA, propiciaram o surgimento de *lasers* de bancada de laboratório com potências de pico na ordem de Terawatts (TW) (PERRY; MOUROU, 1993).

O surgimento de meios ativos de estado sólido com grande largura de banda, como, por exemplo, Ti: AI_2O_3 e Cr:LiSAF, juntamente com a técnica CPA, possibilitaram a extração de muito mais energia do que nos sistema anteriores (TODESCAN, 2003).

Desde que Strickland e Mourou (1985) demonstraram a técnica CPA, várias combinações de meios ativos e CPAs foram estudadas para a obtenção de pulsos de altas intensidades. Dentre os principais meios de ganho sólidos estudados, conforme Todescan (2003), citam-se:

a) Ti:Al₂O₃ (Titânio:Safira);

b) Cr:BeAl₂O₄, Cr:LiSAF (alexandrita), Cr:LiSGaF, Cr:LiCAF, Cr:YAG;

c) Ti:Al₂O₃/Nd:vidro;

d) Nd:YLF/Nd:vidro, e;

e) Er:fibra.

6.1

Desses meios ativos, o mais difundido, tanto para uso em laboratório como para uso comercial, é o Ti:Al₂O₃. Isso se deve ao fato de que esse meio de ganho apresenta a maior largura de banda de emissão conhecida em um sólido e por suas excelentes propriedades térmicas (BISWAL et al., 1999; MOULTON, 1986).

O cristal de Ti: AI_2O_3 apresenta ótimas propriedades termomecânicas, o que lhe confere grande dureza e capacidade de extração de calor. Outras qualidades que fazem esse meio ativo ser tão utilizado são sua alta condutividade térmica e seu alto limiar de dano (BACKUS et al., 1998; BASS, 1995).

O cristal de Cr:LiSAF também vêm sendo bastante utilizado, pois suas características espectroscópicas se assemelham bastante às do Ti:Al₂O₃ (PERRY; MOUROU, 1993).

Esses dois cristais possuem larguras de banda que possibilitam a formação de pulsos na ordem de fs, sendo as durações teóricas mínimas inferiores a 3 fs no Ti:Al₂O₃ e a 5 fs no Cr:LiSAF (VIEIRA Jr., 2000).

Tais pulsos eletromagnéticos são tão curtos que não podem ter sua Δt_p medida por meios elétricos, ou seja, são muito mais curtos que qualquer outro fenômeno físico que pode ser produzido eletricamente, utilizando efeitos nãolineares de segunda ordem. Para que essa medida possa ser feita, é necessário utilizar uma técnica chamada de autocorrelação (CUOS, 2003).

De acordo com Trebino e Kane (1993), uma das técnicas é a *Frequency-Resolved-Optical Grating* (FROG), que gera um espectrograma do pulso *laser*, também conhecido como traço FROG. A intensidade e fase do pulso ultracurto pode ser exibida em tempo real, configurando um osciloscópio de fs (KANE, 1998).

Segundo Todescan (2003), "a determinação do fator de qualidade do feixe, após a amplificação, é fundamental para a otimização dos parâmetros de amplificação".

31

3.1.2 O *Laser* de Ti:safira: Tecnologia Femtossegundo – O sistema de pulsos ultracurtos – USPL T³ (*Table Top Terawatt*)

Um sistema de pulsos ultracurtos, do inglês *Ultra Short Pulse Laser*, é composto por duas partes principais: um oscilador principal e um amplificador de pulsos, tipo *chirped pulse amplification*. Por sua vez, o CPA é composto por três módulos: um alargador temporal, o amplificador e um compressor temporal. Após a passagem por essas partes há, finalmente, o feixe de saída.

Para melhor compreensão, cada um será apresentado neste trabalho:

a) Oscilador principal:

O oscilador principal, também denominado de gerador de pulsos (*seeder*), utiliza o regime de operação de travamento de modos KLM para gerar um trem de pulsos ultracurtos. A partir da geração desse trem de pulsos, o qual foi criado por um cristal de Safira dopado com Titânio (Ti:Al₂O₃) (Figura 3) que emite luz no infravermelho próximo, será selecionado um pulso, chamado pulso semente, o qual será injetado na CPA para sofrer a amplificação.

De acordo com o que foi explicado anteriormente, a escolha desse cristal ocorre devido à sua característica de produzir uma banda larga de emissões, essencial para pulsos ultracurtos.

Como o feixe situa-se na região do infravermelho próximo, é invisível aos olhos humanos. Então, para sua visualização, sensores infravermelhos, câmaras *charge-coupled device* (CCD), cartões IV e visores IV são utilizados para identificar o feixe *laser* (Figura 4).


Figura 3: Cristal de Ti:Al₂O₃ (Titânio:safira).



Figura 4: Visualização de harmônicos gerados por feixe de pulsos ultracurtos de alta energia.

Os cristais de Ti: Al_2O_3 podem ser excitados por luz verde. Este *laser* é bombeado por um *laser* de Nd:YAG ou Nd:YVO (1064 nm) usado com um dobrador de freqüência, ou segundo harmônico, e a luz obtida é de 532 nm, ou seja, verde (CUOS, 2003).

O USPL utilizado nesse estudo possui, em seu sistema de bombeamento, dois *lasers* de diodo que bombeiam um *laser* de Nd:YVO, e um cristal não linear que é usado como gerador de segundo harmônico, obtendo-se, desse modo, a luz verde com 532 nm (Figuras 5 e 6).



Figura 5: Amplificador CPA de Ti:safira.



Figura 6: Laser de Ti:safira.

b) Amplificação por Pulso Chirped – (Chirped Pulse Amplification – CPA)

Como descrito anteriormente, três módulos compõem o CPA:

1°) Módulo 1 – Alargador Temporal

Inicialmente, o pulso é alargado, temporalmente, por um fator de 500. O chirp é acrescentado ao pulso, durante o processo de alargamento, o que acaba por mudar o atraso temporal entre as suas componentes de freqüência e, conseqüentemente, sua cor durante o tempo de pulso. A potência e a intensidade do pulso ficam, então, suficientemente baixas para evitar dano ao cristal. As cores da banda do pulso curto são atrasadas no tempo por uma grade de difração contida no alargador. Um espelho reflete este feixe espalhado de volta para a grade de difração, abaixo do feixe original. Como a cor do pulso curto está espalhada no espaço, e devido ao *design* do alargador, certas cores acabam por viajar em um tempo menor que as outras. A última passagem pela grade de difração colima as cores de volta juntas no espaço. Porém, nesse caso, as cores, no final da banda, chegam mais tarde que as outras cores no outro final. Devido a isso, o pulso curto, alargado no tempo, transforma-se em um pulso longo. Salienta-se que o alargador pode transmitir somente uma fração da energia que entra devido à eficiência da grade de difração.

2º) Módulo 2 – Amplificador

Os pulsos podem ser amplificados, basicamente, por meio de dois métodos: amplificação regenerativa e amplificação multipasso. Na primeira, o pulso fica retido numa cavidade *laser*, já na segunda, o pulso passa diversas vezes pelo meio ativo sob bombeamento o qual não está inserido em uma cavidade ressonante.

3°) Módulo 3 – Compressor Temporal

Para encurtar o pulso no tempo, o pulso amplificado deve ser comprimido para remover o *chirp*. Este é o último passo da amplificação do pulso.

As grades de difração do compressor, bem como as suas dimensões, devem ser escolhidas em função das potências e intensidades a serem atingidas após a amplificação dos pulsos. As grades de difração devem compensar os atrasos introduzidos pelo sistema de alargamento temporal.

À medida que as novas tecnologias dos compressores são descobertas, a produção de um sistema de baixo custo, compacto e portátil tornase mais viável (NEEV et al., 1996b).

c) Feixe Laser de saída

Existem diversos sistemas de entrega do feixe *laser* a um dado alvo. Dentre os mais conhecidos e mais utilizados, destacam-se os endoscópios, as lentes, os braços articulados, os guias de onda ocos ou, as mais difundidas na Odontologia, as fibras ópticas. Essa parte da energia luminosa é denominada potência útil do sistema *laser* e é responsável pela interação da radiação *laser* com o alvo. Denomina-se "feixe" o conjunto de raios de luz que partem de uma mesma fonte. Sendo assim, chama-se a luz emergente do sistema *laser* de feixe *laser* de saída (TODESCAN, 2003).

Dessa forma, para o presente trabalho, os seguintes parâmetros são importantes:

Potência (P):

É medida em watts (W), que corresponde a J/s, e é a quantidade de energia depositada por unidade de tempo em um dado processo.

$$\mathbf{P} = \frac{\mathbf{E}}{\Delta t}$$

Intensidade do campo ou densidade de potência ou densidade de fluxo emitido (I):

É medida em watts por centímetro quadrado (W/cm²) e corresponde à quantidade de energia por unidade de tempo que passa por uma unidade de área. No caso, a unidade de área é expressa em cm².

$$I = \frac{P}{A}$$
 ou $I = \frac{E}{\Delta t \cdot A}$

A intensidade pode ser aumentada colocando-se uma lente convergente no feixe. A lente convergente diminui a área irradiada, aumentando, conseqüentemente, a intensidade. Devido à luz *laser* ser colimada e monocromática, é possível focalizá-la para um *spot* de micrômetro (μm) e, portanto, concentrar, significativamente, a quantidade de energia por área, sem alterar o perfil do feixe.

Continuando a sua propagação, o feixe focalizado apresenta uma posição que corresponde ao seu menor diâmetro denominado de cintura do feixe ou ponto focal. O raio, hesse ponto, é denominado de ω_0 , e a distância da lente até o ponto focal é chamada de distância focal da lente ou foco (f).

Seguindo pela propagação do feixe, para além do ponto focal, e para ambas as direções no eixo z, simetricamente, o feixe diverge e sua intensidade decresce. A focalização para um feixe gaussiano é dada, aproximadamente, pela expressão:

$$\omega_{\alpha} = \frac{f_{\perp}\lambda}{\pi_{\perp}\omega_{z}} ,$$

onde ω_0 é o raio do feixe na cintura do feixe, f é a distância focal da lente, λ é o comprimento de onda e ω_z é o raio do feixe na lente. Uma vista perpendicular do feixe é chamada de perfil espacial do feixe (MISERENDINO; PICK, 1995).

O feixe mantém sua distribuição mesmo depois de focalizado pela lente. Seu raio irá variar ao longo do eixo óptico segundo a lei:

$$\omega_{(z)} = \omega_0 \left[1 + \left(\frac{z}{z_0} \right)^2 \right]^2$$

Uma vez que $z_0 = \frac{\pi \cdot \omega_{0^2}}{\lambda}$, então, para feixe com M² diferente de 1,

tem-se:

$$\omega_{(z)} = \omega_0 \left[1 + \left(\frac{M^2 \cdot z \cdot \lambda}{\pi \cdot (\omega_0)^2} \right)^2 \right]^2,$$

onde $\omega_{(z)}$ é o raio fora da cintura, ω_0 é o raio na cintura, M^2 é o fator de correção do perfil do feixe em relação ao gaussiano perfeito, z é a distância da lente e λ é o comprimento de onda do feixe.

Area do feixe (A):

É medida em centímetros quadrados (cm²) e é definida pela equação:

$$\mathsf{A}=\pi\,.\,\mathsf{r}^2\,,$$

onde r é o raio do feixe laser em centímetros (cm).

Normalmente, costuma-se medir o diâmetro do feixe (\emptyset), o qual pode ser também denominado de *spot size*, ou tamanho da mancha. Sabendo-se que o raio é a metade do diâmetro (r = \emptyset / 2), tem-se:

$$\mathsf{A}=\pi \cdot \left(\frac{\varnothing}{2}\right)^2$$

No modo TEM₀₀, o perfil do feixe também apresenta as características da curva gaussiana.

Nos *lasers* pulsados, a sua potência varia entre a potência de pico do pulso e zero.

Potência de pico do pulso (P_{pico}):

Corresponde à taxa máxima de luz por pulso do *laser*, ou seja, é a maior quantidade de energia depositada pelo pulso.

$$P_{pico} = \frac{E_p}{\Delta t_p}$$

Potência média (P_{média}):

Corresponde à média da variação entre a P_{pico} e zero.

$$P_{média} = TR_p \cdot E$$

A principal característica tecnológica deste sistema USPL T³ de Ti:Al₂O₃ é o curtíssimo tempo de duração de seus pulsos, na ordem de dezenas de femtossegundos, e a precisão da área na qual serão focados. Desse modo, é possível atingir potências pico extremamente altas com o equipamento instalado sobre uma mesa com 4,5 m². A potência gerada por esse equipamento pode atingir até 0,5 TW (SAMAD; VIEIRA, 2006).

39

3.2 Características do tecido-alvo - tecido ósseo

O tecido ósseo é um tipo de tecido conjuntivo especializado e sua principal característica é a mineralização. Leeson e Leeson (1980) afirmam que este tecido é constituído por uma matriz orgânica que representa, aproximadamente, 33% de seu volume total, e por íons e cristais, representando os outros 67% de seu volume. Os principais íons encontrados são o fosfato e o cálcio, mas há, também, a presença de bicarbonato, magnésio, potássio, sódio e citrato em pequenas quantidades. Junqueira (1982), por sua vez, afirma que a parte inorgânica representa cerca de 50% do peso da matriz óssea.

É importante salientar a distinção entre ossos, que são os órgãos do sistema esquelético, e tecido ósseo. Os ossos são constituídos por vários tecidos. Caracteristicamente, os seguintes tecidos são constituídos por tecido ósseo, bem como por outros tecidos conjuntivos: tecido hematopoético, tecido adiposo, vasos sangüíneos, nervos, cartilagem hialina, no caso de articulações sinoviais (móvel livre) e, em alguns casos, fibrocartilagem. A capacidade que o osso tem em desempenhar sua função esquelética é devida ao tecido ósseo e à cartilagem (ROSS; ROMRELL, 1993).

O cálcio e o fósforo formam cristais de hidroxiapatita, cuja fórmula é Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, no tecido ósseo. O cálcio pode ser mobilizado e captado pelo sangue para manter níveis apropriados em todos os tecidos do corpo. Assim, ele possui um papel secundário importante na regulação homeostática dos níveis de cálcio no sangue (ROSS; ROMRELL, 1993; TEN CATE, 1988).

Por meio de micrografias eletrônicas, pode-se observar que os cristais de hidroxiapatita aparecem sob a forma de agulhas ou tabletes alongados, medindo cerca de 40 x 25 x 3 nm. Esses cristais dispõem-se ao longo das fibras colágenas e são envolvidos por substância fundamental amorfa. Os íons da superfície do cristal de hidroxiapatita são hidratados, resultando na formação de uma camada de água e íons em volta do cristal, denominada de capa de hidratação. Essa capa facilita a troca de íons entre o cristal e o fluido intersticial (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1982).

A matriz orgânica é formada, basicamente, por colágeno tipo I (28%), porém também apresenta, em sua composição, um substrato composto por proteínas não colágenas (5%), denominado de substância fundamental amorfa. Este substrato é formado, principalmente, por osteonectina, osteocalcina, proteína morfogênica óssea, proteoglicanos ósseos e sialoproteína óssea (TEN CATE, 1988).

As fibras colágenas (osteocolágenos) encontram-se ordenadas em feixes e apresentam uma substância cimentante entre elas, além de sais inorgânicos (LEESON; LEESON, 1980).

A associação da hidroxiapatita com as fibras colágenas é responsável pela dureza e resistência do tecido ósseo. Caso haja uma perda significativa de cálcio, os ossos mantêm sua forma intacta, porém se tornam tão flexíveis quanto os tendões. Caso a perda seja de tecido orgânico, no caso colágeno principalmente, o osso também permanece com sua forma intacta, todavia torna-se extremamente quebradiço (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1982).

O osso desempenha diversas funções, sendo as principais a de suporte esquelético, proteção de órgão vitais, como os contidos nas caixas craniana e torácica e no canal raquidiano, locomoção, reserva de minerais, apoio aos músculos esqueléticos, além de alojar e proteger a medula óssea. É controlado, sistemicamente, por fatores hormonais e, localmente, por forças mecânicas e piezoelétricas. Devido à proporção entre seus componentes duros e moles, o osso apresenta certo grau de elasticidade, sendo mais resistente às forças de compressão do que às de tensão. Desse modo, o osso resiste mais às forças aplicadas ao longo eixo de suas fibras, culminando com uma maior incidência de fraturas, quando são aplicadas forças de tensão ou impactos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1982; TEN CATE, 1988).

Segundo Ten Cate (1988), os ossos podem ser classificados como longos ou chatos, de acordo com seu formato macroscópico. Quando vistos em cortes longitudinais ou transversais, apresentam uma estrutura interna comum, independentemente de serem chatos ou longos. Possuem uma densa camada externa de osso compacto e uma cavidade medular central. Leeson e Leeson (1980) classificam-nos em esponjosos (trabeculado) ou compactos (denso). Quando o tecido ainda apresenta vitalidade, essa cavidade encontra-se preenchida pela medula óssea. De acordo com a classificação de Leeson e Leeson (1980), que leva em consideração a densidade óssea, a principal diferença entre os dois tipos é a quantidade relativa de matéria sólida e do tamanho e quantidade de espaços em cada osso. Os ossos maduros, sejam eles compactos ou trabeculados, são constituídos por camadas ou lamelas microscópicas as quais, no osso compacto, estão densamente arranjadas. Nos ossos esponjosos, o tecido mineralizado apresenta uma disposição de trabéculas ou espículas e numerosos espaços medulares de vários tamanhos. Podem ser observados três tipos distintos de arranjos lamelares: concêntrico, intersticial e circunferencial (TEN CATE, 1988).

As lamelas concêntricas formam a massa do osso compacto, bem como sua unidade metabólica básica, o ósteon. Este, por sua vez, possui, em seu interior, o canal de *Havers*, revestido por uma camada única de células ósseas. Quando está totalmente desenvolvido, o sistema harvesiano apresenta um formato cilíndrico irregular no qual seu eixo longitudinal está distribuído em camadas ou lamelas. As fibrilas dessas lamelas estão paralelas e orientadas em direção diferente das fibrilas já existentes nas lamelas adjacentes. As lacunas das células e, conseqüentemente, as próprias células, parecem ser ligeiramente achatadas entre as lamelas e, portanto, têm o longo eixo paralelo às lamelas da matriz mineralizada. Os canalículos que contêm os prolongamentos dos osteócitos têm, na maioria, disposição radial em relação ao canal. Esse sistema de canalículos que se abre para o canal de *Havers* também serve para a passagem de substâncias entre as células do osso e os vasos sanguíneos (ROSS; ROMRELL, 1993).

Os canais harvesianos adjacentes estão interconectados pelos chamados canais de *Volkmann*, os quais, assim como os anteriores, contêm vasos sangüíneos em seu interior. Origina-se, desse modo, uma rica rede vascular através do osso, chamada de sistema harvesiano ou ósteon secundário (ROSS; ROMRELL, 1993; TEN CATE, 1988).

As lamelas intersticiais encontram-se interpostas entre as camadas concêntricas adjacentes e preenchem os espaços entre elas. Na realidade, as lamelas intersticiais são fragmentos de lamelas concêntricas preexistentes e acabam por tomar as mais variadas formas (TEN CATE, 1988). Ross e Romrell (1993) definem as lamelas intersticiais como territórios lamelares situados entre os sistemas haversianos.

÷.

As lamelas circunferenciais, por sua vez, formam o perímetro externo do osso, entretanto também podem estar presentes na região interna do osso.

Elas são remanescentes dos sistemas haversianos mais antigos ou de lamelas circunferenciais (ROSS; ROMRELL, 1993; TEN CATE, 1988).

Uma membrana de tecido conjuntivo envolve a camada externa do osso compacto, conhecida como periósteo. A porção do periósteo mais próxima da periferia do osso possui uma quantidade maior de células e um rico suprimento microvascular, enquanto que a porção mais externa é mais fibrosa. Nessa parte mais externa, originam-se as fibras de *Sharpey* que penetram na camada celular do periósteo e chegam à lamela circunferencial (TEN CATE, 1988). Essas fibras servem para fazer uma firme união entre o periósteo e o tecido ósseo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1982).

Separando, fisicamente, a medula óssea contida no interior do osso, encontra-se uma delgada lâmina de tecido conjuntivo frouxo, formada por uma única camada de células ósseas, denominada de endósteo. Além de revestir o canal medular, o endósteo também é encontrado revestindo as cavidades do osso esponjoso, os canais de *Havers* e os de *Volkmann* (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1982; LEESON; LEESON, 1980; TEN CATE, 1988).

O revestimento dessas superfícies ósseas é essencial para a manutenção da vitalidade do tecido ósseo, uma vez que áreas de reabsorção aparecem nos locais que perderam esse revestimento conjuntivo ou a camada de osteoblastos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1982).

Tanto o tecido conjuntivo do endósteo como do periósteo contêm inúmeros vasos sangüíneos, em seu interior, que se ramificam e, pelos canais de *Volkmann*, penetram na intimidade do tecido ósseo. Assim, o endósteo e o periósteo servem para nutrir o tecido ósseo, bem como de fonte de osteoblastos para o crescimento e reparação dos ossos (JUNQUEIRA. CARNEIRO, 1982).

No tecido ósseo, quatro tipos distintos de células são encontrados: as células de revestimento ósseo, ou células osteoprogenitoras, que podem permanecer em repouso ou entrar em atividade para produzir osso; os osteoblastos, responsáveis pela sua formação; os osteócitos, os quais têm a função de manutenção do tecido; e os osteoclastos, capazes de reabsorver o osso (TEN CATE, 1988; ROSS; ROMRELL, 1993).

As células osteoprogenitoras são células de repouso, ou de reserva, que podem ser estimuladas para se transformarem em osteoblastos e produzirem matriz óssea. Essas células são encontradas na superfície dos ossos em crescimento e, no adulto, durante a remodelação óssea, e compõem a população celular presente na camada mais interna do periósteo, juntamente com as células endósteas de revestimento das cavidades medulares e as células de revestimento dos canais de *Havers* e de *Volkmann* (ROSS; ROMRELL, 1993). As células osteoprogenitoras possuem, também, a capacidade de se dividirem e proliferarem. Nos ossos em crescimento, aparecem com formatos achatados e núcleos alongados ou ovóides; já nos ossos maduros, nos quais não esteja ocorrendo o processo de remodelação óssea, formam uma camada extremamente achatada (ROSS; ROMRELL, 1993).

Segundo Ross e Romrell (1993), o grau de diferenciação da célula osteoprogenitora ainda não está inteiramente esclarecido. Sua capacidade em se transformar em três tipos de células (adipócitos, fibroblastos e condroblastos) também não foi claramente esclarecida. Salienta-se a importância dessa questão devido ao fato de que, na cicatrização de feridas, ocorre a formação de novo tecido conjuntivo e de cartilagem no calo ósseo, o qual se desenvolve em torno do osso como parte do processo de reparo.

O osteoblasto, capaz de sintetizar tanto o colágeno quanto as proteínas não colágenas do osso, é uma célula uninucleada, de formato cúbico ou poligonal, encontrada em uma única camada de células em aposição ao osso em formação e é responsável pela mineralização do tecido. De acordo com Ten Cate (1988), essa célula, provavelmente, tem sua origem nas células mesenquimais multipotentes ou, então, em uma célula perivascular, e é geralmente considerada, diferenciando-se de uma precursora, o pré-osteoblasto. Os osteoblastos formam uma camada celular sobre a maior parte da superfície óssea, local este que recebe a deposição da matriz óssea sintetizada por estas células (ROSS; ROMRELL, 1993).

O processo de calcificação é iniciado pelo osteoblasto por meio da secreção de pequenas vesículas revestidas por membrana para o interior da matriz. Essas vesículas contêm, em seu interior, grande quantidade de fosfatase alcalina, além de outras enzimas, e são secretadas ativamente somente durante o período em que a célula está produzindo a matriz óssea. Essas enzimas são responsáveis pela mobilização de íons cálcio para o interior da membrana da vesícula e, depois, para o interior da própria vesícula. Por sua vez, a vesícula

cheia rompe-se e provoca um aumento na concentração local de mineral, suficiente para iniciar a mineralização (ROSS; ROMRELL, 1993).

Os osteócitos, por sua vez, são células (osteoblastos) que acabam ficando aprisionadas na matriz óssea sintetizada pelos próprios osteoblastos. O número de osteoblastos que se transformam em osteócitos varia de acordo com a velocidade de deposição da matriz óssea. Quanto mais rápida for essa deposição, maior será o número de osteócitos por unidade de volume ósseo (TEN CATE, 1988).

Após a sua diferenciação, os osteócitos mudam a sua configuração: perdem a maior parte da sua capacidade secretora e tornam-se de tamanho reduzido. Durante seu período de atividade, o osteócito, lentamente, reabsorve a matriz que o envolve, processo pelo qual culmina na formação de lacunas. Então, prolongamentos estreitos, chamados de canais ou canalículos, saem dessas lacunas e alojam os processos radiados dos osteócitos. Assim, essas células mantêm íntimo contato com as células vizinhas e com os osteoblastos, ou com as células que revestem as superfícies ósseas, o endósteo e o periósteo. Esses processos dos osteócitos mantêm contigüidade por meio de junções tipo Comunicante (Gap), o que acaba por formar um sincício funcional, chamado de complexo osteócito-osteoblasto, responsável pela manutenção da vitalidade do tecido (TEN CATE, 1988).

A capacidade de sintetizar e reabsorver a matriz óssea confere ao osteócito grande importância, pois essas células contribuem para a homeostase do cálcio sangüíneo (ROSS; ROMRELL, 1993).

A quarta célula encontrada no tecido ósseo é o osteoclasto, célula multinucleada de tamanho muito maior, quando comparada com qualquer outra célula óssea e suas precursoras. Quando ativo, a sua função é a de reabsorver o osso. O tamanho de um osteoclasto e a quantidade de núcleos que o mesmo possui depende, de certa forma, do grau de mineralização da matriz do tecido ósseo que está sendo reabsorvido. Desse modo, quando os osteoclastos encontram-se reabsorvendo um osso compacto tornam-se muito maiores do que quando reabsorvem ossos imaturos (TEN CATE, 1988).

Quando em atividade, os osteoclastos encontram-se diretamente sobre a superfície óssea, estão geralmente organizados em grupos e exatamente sobre o local em que deve ocorrer a reabsorção. Como resultado dessa atividade, forma-se, imediatamente abaixo do osteoclasto, uma depressão pouco profunda chamada de lacuna de *Howship* ou lacuna de reabsorção (ROSS; ROMRELL, 1993). Essas escavações são longas e pouco profundas e atestam a atividade e mobilidade dos osteoclastos durante o processo ativo de reabsorção (TEN CATE, 1988).

Como visto, o tecido ósseo é um tipo de tecido conjuntivo extremamente complexo e importante para o organismo humano. Desempenha papéis vitais, tanto local como sistemicamente. É um tecido vivo, em grande atividade, em constante biotransformação, e chama a atenção por sua enorme plasticidade. Seu estudo detalhado é, então, de suma importância quando da necessidade de se realizarem intervenções cirúrgicas no mesmo, como osteotomias, quer por meios tradicionais, quer através da utilização de sistemas *lasers*.

3.3 Estudo da interação do feixe Laser com o tecido ósseo

Quando se discute a interação de um feixe *laser* com um tecido biológico, deve-se levar em consideração tanto as propriedades e os parâmetros da radiação *laser* como as propriedades térmicas e ópticas dos tecidos (EDUARDO; GUTKNECHT, 2004; FEATHERSTONE et al., 1998).

Os parâmetros e as propriedades do feixe *laser*, diretamente relacionados com a interação com os tecidos biológicos, são os seguintes:

a) comprimento de onda do laser;

- b) modo de ação do laser: contínuo, interrompido, pulsado ou Q-switch;
- c) potência de pico do laser,
- d) taxa de repetição;

10

e) área focalizada do feixe laser (densidades de energia e de potência);

f) duração do pulso;

g) quantidade de energia fornecida;

h) modo de entrega: fibra óptica ou braço articulado (mais usados);

 i) modo de aplicação: com ou sem contato, focalizado ou não, em movimentos circulares ou sem deslocamento;

j) presença ou não de sistema de refrigeração;

I) tempo de exposição (EDUARDO, GUTKNECHT, 2004).

Em relação às propriedades ópticas e térmicas dos tecidos devem ser consideradas as seguintes:

a) propriedades ópticas:

- coeficiente de absorção;

- coeficiente de reflexão;

- coeficiente de espalhamento;

b) propriedades térmicas:

- condutividade térmica;

- capacidade térmica (EDUARDO; GUTKNECHT, 2004).

A luz *laser* interage com os tecidos biológicos, basicamente, de quatro formas: parte da luz é refletida; parte da luz pode ser transmitida através do tecido sem atenuação; parte da luz remanescente pode ser absorvida pelos componentes do tecido, ocasionando, no caso dos processos ressonantes, uma transferência de energia para o tecido; e, finalmente, parte da luz pode ser espalhada dentro do tecido, podendo ocasionar danos térmicos em locais distantes da região de aparente propagação da luz.

É importante salientar que, quando se fala em feixe *laser*, na realidade, para considerar a interação com o tecido biológico, leva-se em conta um único átomo ou molécula ou, ainda, um conjunto deles, mas restrito a um único elétron e um único fóton. Para que a interação seja efetiva, os fótons oriundos dos equipamentos *laser* devem poder ser absorvidos pelos elétrons dos átomos do tecido-alvo. Se isso ocorrer, ou seja, o chamado processo de absorção, diz-se que o comprimento de onda do *laser* é ressonante com o tecido biológico irradiado (TODESCAN, 2003).

Ao incidir sobre os tecidos, o feixe *laser* ou penetra nos mesmos ou é refletido (EDUARDO; GUTKNECHT, 2004). Quando essa incidência se dá sobre um tecido opaco como, por exemplo, o tecido ósseo, parte dessa luz sofre reflexão especular, ou seja, a reflexão na qual os raios refletidos possuem o mesmo ângulo de saída em relação à superfície do alvo que os raios incidentes.

A partir da penetração dos fótons no tecido, outros processos passam a ocorrer: alguns fótons isolados da luz *laser* atravessam o tecido sem produzir nenhuma reação, processo este denominado de transmissão, ou esses fótons sofrem espalhamento, caso em que mudam de direção. É possível que parte desses fótons incidentes que sofreram espalhamento voltem para a mesma direção da entrada dos raios (EDUARDO; GUTKNECHT, 2004).

Transmissão refere-se, portanto, à habilidade da energia em difundir-se por meio do tecido sem nenhum efeito. Essa habilidade, no entanto, está diretamente relacionada com o tipo de tecido e o comprimento de onda. A energia pode transmitir-se até alcançar um tecido específico, no qual as características de absorção ocorram. Só então algum efeito poderá ser observado (MELLO; MELLO, 2001).

O espalhamento da energia *laser*, no interior do tecido, é o resultado da reflexão aleatória da energia do seu ângulo original. Por exemplo, a energia luminosa, na região infravermelha, espalha-se de forma reduzida. Já a luz, na porção visível do espectro, apresenta maior espalhamento (MELLO; MELLO, 2001).

Somente os fótons não-refletidos e não-absorvidos, ou os fótons espalhados na direção de propagação, contribuem para a intensidade da luz detectada depois do tecido, ou seja, a luz transmitida. A razão entre a intensidade da luz transmitida e a incidente é chamada de transmitância.

20

4

Outro processo que acontece após a penetração dos raios na intimidade dos tecidos é a refração. Esta sempre ocorre quando a luz passa de um meio para outro. Segundo O'Brien et al. (1989), a velocidade do feixe é alterada e se a incidência do raio não for perpendicular à superfície do tecido, o mesmo é desviado.

Índice de refração é a razão entre as velocidades de propagação da luz no vácuo e no meio em questão. Então, quanto maior o índice de refração, menor será a velocidade de propagação da luz. Essa afirmação serve para qualquer substância.

É importante salientar que, nos processos de refração, a energia da luz incidente não é alterada. Quando ocorre a passagem por diferentes meios, poderá haver mudanças em sua velocidade e em seu comprimento de onda, mas nunca em sua freqüência (O'BRIEN et al., 1989).

O espalhamento pode ser de dois tipos: elástico e inelástico. No espalhamento elástico, o fóton incidente e o fóton espalhado têm a mesma

energia; já no espalhamento inelástico, parte da energia do fóton incidente é convertida durante o processo de espalhamento.

A partir da penetração dos fótons no tecido, no entanto, o processo mais relevante, para que ocorra a interação *laser*-tecido, é o fenômeno de absorção.

Quando um fóton incide sobre uma molécula, sua energia pode ser absorvida, levando a molécula ao seu estado excitado. Ela sofre, então, uma colisão inelástica (com perda de energia) com um vizinho – que pode ser um elétron, um átomo ou outra molécula – transferindo parte da sua energia e decaindo para um estado de energia mais baixo. A quantidade de energia presente na molécula excitada pelo fóton, somada à energia cinética da partícula vizinha, representa o aumento de agitação térmica dessa partícula vizinha e, conseqüentemente, o pequeno aumento de temperatura ocorrido pela absorção de energia do fóton (McKENZIE, 1990).

O efeito macroscópico de aumento de temperatura é observado devido ao grande número de moléculas que absorvem um grande número de fótons presentes num feixe *laser* e transformam essas energias em agitação térmica.

Em uma abordagem mais macroscópica, observa-se que o calor gerado está diretamente relacionado com a propagação da radiação *laser* no tecido. Assim, quando um feixe *laser* incide sobre uma amostra, seja ela biológica ou não, a parte que penetra sofre uma atenuação por absorção e por espalhamento, à medida que caminha para dentro do material.

Absorção e espalhamento são caracterizados pelos coeficientes de absorção (μ_a) e de espalhamento (μ_s) e representam, respectivamente, a taxa de perda de energia da radiação por unidade de comprimento de penetração, devido à absorção e ao espalhamento de fótons. Esses dois coeficientes são específicos para cada tecido e para cada comprimento de onda (Tabela 1) (McKENZIE, 1990).

Tabela 1:	Coeficientes de absorção (μ_a) e de espalhamento (μ_s) do tecido ósseo
	para os comprimentos de onda (λ) de 514 e 1064 nm.

Tecido	λ (nm)	, н _е (cm ⁻¹)	μ _s (cm ⁻¹)
Osso	514	1,3	190
Osso	1064	0,5	120

Considerando-se, por simplicidade, um meio absorvedor e não espalhador, nessa condição, a atenuação do feixe *laser* é descrita pela lei de Beer:

$$I(z) = I_0. e^{-\mu_a z}$$

onde I é a intensidade do feixe em função da distância de penetração Z e I_0 é a intensidade para Z=0. O inverso do coeficiente de absorção é definido como comprimento de absorção óptica.

Miserendino e Pick (1995) definem comprimento de absorção do tecido-alvo (profundidade de transmissão, comprimento de extinção do feixe *laser* ou profundidade de penetração óptica) como o inverso do coeficiente μ_a , e corresponde à profundidade de penetração para a qual 63% da luz incidente já foi absorvida pelo tecido-alvo, ou seja, o feixe de luz remanescente possui 37% da intensidade do feixe inicial.

De acordo com Mello e Mello (2001), comprimentos de onda altamente ressonantes geram altos graus de temperatura, tornando evidente a interação tecidual, resultando numa pequena penetração em profundidade.

Um outro parâmetro importante é o tempo de relaxação térmica, ou difusividade térmica, que pode ser definido como sendo o tempo necessário para que o calor se propague até o comprimento de penetração óptica. Esse parâmetro é importante quando se deseja provocar um dano térmico localizado, com um mínimo de necrose dos tecidos adjacentes (DEDERICH, 1993; SAGI et al., 1992).

Então, se o tempo de duração do pulso *laser* for menor que o tempo de relaxação térmica, o calor não se propagará até uma distância dada pelo comprimento de penetração óptica. Desse modo, o dano térmico ocorrerá somente na primeira camada em que o calor foi gerado. Caso o tempo de duração do pulso *laser* for muito maior que o tempo de relaxação térmica, o calor

propagar-se-á por múltiplos do comprimento de penetração óptica, resultando em dano térmico de um volume maior de tecido adjacente (SAGI et al., 1992).

A absorção da luz pela água é de fundamental importância para a aplicação dos *lasers* nas áreas biomédicas por ser o corpo humano, em grande parte, constituído por este elemento. O alto teor de água na composição dos tecidos é que determina o uso predominante dos *lasers*, emitindo no espectro infravermelho, quando se busca uma interação ressonante desse comprimento de onda com a molécula da água. Outros cromóforos, como a melanina, adenina, hemoglobina e proteínas, além da hidroxiapatita, no caso dos tecidos ósseos, também exercem influência significante sobre a interação *laser*-tecido.

Os elementos do tecido que exibem um alto coeficiente de absorção de um particular comprimento de onda, ou por uma região do espectro eletromagnético, são chamados de cromóforos. Desse modo, os cromóforos exercem papel fundamental sobre a interação da radiação com o tecido.

Mello e Mello (2001) afirmam que a absorção depende da composição do tecido, da pigmentação e do conteúdo de água do mesmo.

Os efeitos do feixe *laser* são devidos, essencialmente, a essa energia transferida dos fótons incidentes ao tecido, durante o processo de absorção. É de fundamental importância a característica do tecido quanto à sua capacidade de dispersão da luz, pois é ela que determina os locais onde se processa a absorção (EDUARDO; GUTKNECHT, 2004).

Essa interação da energia do *laser* com o tecido é determinada por três fatores principais: quantidade de energia depositada pelo *laser* no tecido, distribuição dessa energia no espaço, ou seja, o volume de absorção, e por seu tempo de permanência em contato com o tecido. Portanto, é de se esperar que os tecidos altamente absorventes apresentem volumes de absorção pequenos, pois o feixe não penetra em profundidade (EDUARDO; GUTKNECHT, 2004).

As ligações entre os átomos, ou entre as moléculas dos elementos constituintes dos tecidos, formam um arranjo que caracteriza o chamado estado de energia de ligação desses constituintes, em uma determinada temperatura. Essa energia cinética dos átomos, ou das moléculas, associada à temperatura, é denominada de energia térmica, e corresponde à vibração dessas moléculas naquele momento (QUINTO Jr., 2001).

i

Nos tecidos, a energia absorvida se transforma em outras formas não ópticas de energia que podem afetá-los por vários mecanismos de interação (MULLER et al., 1990). Segundo Eduardo e Gutknecht (2004), há três grupos de interações que ocorrem nos tecidos, sendo divididas de acordo com a transformação da energia absorvida:

1°) efeitos fotoquímicos;

2°) efeitos fototérmicos;

3°) processos não-lineares que se transformam nos dois primeiros.

Os processos fotoquímicos podem ser de diversos tipos, como a terapia fotodinâmica, a fotoindução, a fotoativação e a biomodulação. Tais processos são o resultado da baixa absorção de energia pelo tecido, o que possibilita a ativação de processos bioquímicos no interior da célula (EDUARDO; GUTKNECH, 2004).

Está comprovado que, nos processos fotoquímicos, o aumento da temperatura nunca é superior a 1°C; não há choque térmico, assim como nenhuma resposta térmica é observada (MELLO; MELLO, 2001).

O efeito fototérmico consiste na absorção da luz *laser* pelo tecido e sua transformação em energia térmica (EDUARDO; GUTKNECH, 2004). Ou seja, a luz é fortemente absorvida e rapidamente transformada em calor (FRIED et al., 1996). Este acréscimo de temperatura, na forma de calor, induzirá um aumento ainda maior da víbração atômica ou molecular, ampliando o espaço interatômico e a energia total do tecido, causando o fenômeno de expansão térmica (DEDERICH, 1993).

A absorção do *laser* pelo tecido cria vários gradientes de temperatura, razão pela qual a relação entre a densidade de energia e a profundidade de penetração deve ser levada em consideração para o entendimento da relação entre a potência do *laser* e a temperatura tecidual (MELLO; MELLO, 2001).

Como visto, a elevação da temperatura corresponde às características de absorção do tecido (MELLO; MELLO, 2001). Após ser transformada em calor, a energia do *laser* se difunde pelo tecido de acordo com suas propriedades térmicas (EDUARDO; GUTKNECHT, 2004).

Condutividade térmica é definida como a perda de calor para as estruturas não expostas do tecido (DEDERICH, 1993).

As propriedades de condução térmica estão em dependência do conteúdo de água e da circulação sangüínea local do tecido. Mello e Mello (2001) afirmam que o fluxo de sangue atua como uma espécie de "bacia" de calor que drena a energia térmica para outros locais.

Considerando-se a área em que o calor se propagou e o aumento de temperatura gerado, alguns processos podem ocorrer:

- a) fototermólise: são os efeitos termodinâmicos observados quando o aquecimento ocorre em um espaço muito reduzido;
- b) foto-hiperemia: quando o aquecimento fica entre 37 e 44°C, as lesões geradas nos tecidos (alteração das proteínas, retração do tecido) ainda são reversíveis; já quando a temperatura fica entre 45 e 60°C, ocorre a formação de edema, fusão de tecidos e desnaturação de enzimas;
- c) fotocoagulação: quando o aumento da temperatura supera os 60°C, mas não ultrapassa os 100°C, ocorre coagulação de proteínas e necrose tecidual;
- d) fotoevaporação: quando a temperatura do tecido fica entre 100 e 300°C, ocorre um rápido ressecamento e evaporação da água contida no interior do tecido; quando a temperatura supera os 300°C, pirólise, carbonização e evaporação de partes do tecido são observadas (EDUARDO; GUTKNECHT, 2004; MELLO; MELLO, 2001).

Como esses efeitos são de natureza térmica, tais processos podem ocorrer em camadas ou em áreas que não foram diretamente atingidas pela luz *laser* devido à penetração da frente de calor pela sua propagação no meio.

Segundo Dederich (1993), calor latente de transformação é o valor da energia necessária para que ocorra a transformação ou passagem de estado da matéria (sólido, líquido ou gasoso).

Quando o calor latente de transformação atinge um limiar crítico, vários efeitos térmicos podem ser observados no tecido.

.

Parvoti et al. (1987) citam vários fatores responsáveis pela quantidade de dano térmico gerado no tecido os quais podem variar desde um leve eritema até a queimadura do tecido. São eles: a) sensibilidade térmica individual de cada tecido;

b) quantidade de tecido afetado;

c) comprimento de onda da luz incidente;

d) energia do feixe laser;

e) densidade de potência absorvida e dissipada no tecido;

f) tempo de exposição do tecido à irradiação.

Portanto, o ideal seria conseguir fornecer uma quantidade mínima de energia capaz de produzir o resultado esperado (PARVOTI et al., 1987).

Como existem diversos componentes na estrutura do tecido ósseo (capítulo 3.2), e os mesmos sofrem alterações estruturais e químicas em diferentes temperaturas, sua fusão ocorre numa faixa de temperatura, e não em apenas um ponto de fusão.

Quando se avalia a termodinâmica do fluxo do calor, leva-se em consideração que o tecido, ao redor do tecido diretamente exposto à radiação *laser*, está mais frio, de forma que o fluxo de calor ocorrerá da região irradiada para a circunvizinha. É esse o motivo por que diversos aparelhos fazem o uso de sistemas de refrigeração para esfriar o tecido que está sendo exposto ao *laser* (TODESCAN, 2003).

Os tecidos biológicos apresentam tempo de relaxação térmica menor que 1 milissegundo (ms). Conseqüentemente, os melhores *lasers* para serem usados nos campos da Medicina e da Odontologia são os de Δt_p menor que 1 ms (TODESCAN, 2003).

Caso a largura temporal do pulso seja maior que esse valor, o calor gerado por um pulso não conseguirá ser dissipado até a chegada do pulso seguinte. Como conseqüência, o calor no tecido irá se acumulando. Um aquecimento excessivo é, então, gerado, e danos severos aos tecidos adjacentes poderão ser observados (TODESCAN, 2003).

Featherstone e Nelson (1987), analisando a decomposição térmica do mineral da hidroxiapatita do esmalte dental, hidroxiapatita esta carbonatada e com o desdobramento da água e dióxido de carbono, verificaram que a mesma, após sofrer o processo de fusão e ressolidificação (passagem do estado sólido para o líquido e volta para o estado sólido) pela irradiação *laser* com pulsos longos de alta intensidade e baixas dosagens, apresentou uma maior dureza, ou seja,

tornou-se mais resistente à desmineralização. Entretanto, um significativo dano térmico era gerado.

Para minimizar os efeitos térmicos no tecido, é importante, portanto, um entendimento criterioso a respeito das diferentes formas de interação (processos não-lineares) dos *lasers* de alta intensidade com os tecidos.

Os processos não-lineares são gerados pela irradiação de altas densidades de potência com pulsos *laser* de curta duração. Chama-se ablação à interação *laser*-tecido na qual parte do tecido irradiado é removida. Essa remoção pode ser realizada por diversos mecanismos.

Fotoablação é definida como um processo na qual ocorre a absorção da luz *laser* incidente, sua rápida conversão em calor e uma conseqüente vaporização do tecido. Devido a um grande aumento da pressão interna do meio, o tecido sofre uma expansão após a vaporização. Esse processo somente ocorre quando a temperatura superficial do tecido atinge valores iguais ou superiores ao do ponto de fusão.

Por ser um processo térmico, depende da absorção da radiação *laser* pelo tecido. A água é o principal cromóforo para esse fim, seja pela sua concentração nos tecidos, pela sua absorção intensa no infravermelho ou, ainda, pela sua localização sob camadas do tecido. Nesse caso, pode-se chamar esse processo de ablação explosiva de tecido mediada pela água.

20

Altas pressões (centenas de atmosferas) são geradas pelo rápido aquecimento de camadas de águas confinadas abaixo da superfície do tecido, o que culmina com o rompimento do material por microexplosões. Essa temperatura pode estar bem abaixo do ponto de fusão dos tecidos duros.

A ablação se inicia quando a intensidade crítica para a mudança de fase é abruptamente atingida. O aquecimento que resulta na remoção do material não fica limitado ao diâmetro do feixe (KIM et al., 2001). A parte vaporizada, normalmente, é eliminada da região afetada sem deixar praticamente nenhum resíduo; já a parte fundida é expelida pelo vapor em expansão ou pela atuação de um forte jato de gás do processo (TODESCAN, 2003).

Esse efeito colateral térmico acaba por afetar o conteúdo orgânico do tecido remanescente adjacente, culminando com modificações da estrutura original do tecido. O espalhamento do calor, ou transmissão, afeta uma ampla

zona ao redor da cavidade de ablação, e essa área é denominada, segundo Todescan (2003), de Zona Afetada pelo Calor (*Heat Affected Zone –* HAZ).

Todescan (2003) afirma que quanto maior a P_{pico} e menor a Δt_p do raio *laser*, menor será a quantidade de tecido no estado líquido; conseqüentemente, maior será a quantidade de tecido na forma de vapor e, portanto, melhor a qualidade do tecido remanescente.

Existem dois tipos de fotoablação: ablação térmica e ablação a frio.

A ablação térmica ocorre com baixas densidades de potência. Nesse caso, a frente de ablação não consegue ultrapassar a frente de calor, permitindo que a periferia do volume de absorção tenha tempo suficiente para transmitir o calor aos tecidos adjacentes (EDUARDO, GUTKNECHT, 2004).

Na ablação a frio, a densidade de potência é muito alta, fazendo com que a eliminação do material ablacionado ocorra muito rápida, levando consigo a frente de calor em vias de expansão. Na periferia desse volume de absorção em que a densidade de potência é inferior ao limiar necessário para a fotoablação, o tecido é aquecido, porém é imediatamente arrancado em virtude da explosão mecânica, o que acaba por não permitir a transmissão do calor aos tecidos que se situam fora do volume de absorção. Observa-se, então, que a frente de ablação penetra mais rápido no tecido que a frente de calor, ao contrário do que ocorre na ablação térmica.

A partir de 1975, com o surgimento do *laser* de Er:YAG, foi possível diminuir bastante os danos térmicos aos tecidos adjacentes, por ter este *laser* um comprimento de onda altamente ressonante com os tecidos biológicos e uma Δt_p de μ s (RAMOS, 2002).

Entretanto, foi necessária para *lasers* de pulsos curtos, como o Er:YAG, assim como o Nd:YAG e o Ho:YAG, a introdução de agentes refrigeradores com o intuito de manter a temperatura tecidual em níveis aceitáveis. O sistema utilizado é o *spray* de ar e água que acaba por modificar tanto as propriedades do *laser* como as do tecido e, conseqüentemente, a interação entre ambos. Não se pode, no entanto, desprezar a dependência da água para a taxa de ablação durante a interação do *laser* com o tecido ósseo (NEEV, 1994).

Diminuindo Δt_p para valores menores que 1 µs, ou seja, para ns, foi observado que a taxa de ablação, bem como a sua eficiência, aumentavam, enquanto que a energia do pulso necessária e os danos colaterais diminuíam. Foi observado, também, que a HAZ ficava limitada ao local irradiado (WALSH et al., 1988).

Mesmo com toda essa evolução, uma pequena quantidade de material fundido ainda podia ser observada sobre a superfície do tecido irradiado. No regime de ns, a P_{pico} gerada ficava em torno de 10⁸ W. A interação *laser*-tecido dependia das propriedades termodinâmicas dos componentes do tecido irradiado e a eficiência de ablação em altas dosagens ainda era limitada pela formação de plasma (WALSH et al., 1988).

A maior vantagem de se reduzir a ∆t_p é o fato de que o lîmiar da energia para ocorrer a ablação se torna menor, o que culmina com a redução dos efeitos colaterais térmicos e mecânicos (NIEMZ et al., 1993).

É sabido que, mesmo com a aplicação de altas taxas de repetição e com o uso de *spray* de ar e água, os USPL de ps não podem cortar o tecido com a mesma eficiência e rapidez dos sistemas de alta rotação. Isso é um considerável desestímulo para a continuação de novas pesquisas sobre o assunto. Entretanto, com a definição de parâmetros ideais, foi observada ausência total de danos, o que estimulou, novamente, os estudiosos a dar continuidade às pesquisas (WHITE et al., 1994).

Quando a Δt_p é reduzida para níveis inferiores a 10 ps, um outro regime de interação *laser*-matéria começa a ocorrer: ablação mediada ou induzida por plasma. O plasma de alta temperatura é o quarto estado da matéria, sendo uma mistura de íons e elétrons livres (LOESEL et al., 1996; NIEMZ, 1991; STERN et al., 1989).

Nesse tipo de interação, ocorre a sublimação do tecido, ou seja, a transição direta do estado sólido para o gasoso. Nesse processo, o corte é sem aquecimento do tecido adjacente, portanto sem fusão dos materiais inorgânicos e biológicos. Assim, a quantidade de matéria líquida é praticamente inexistente, permitindo uma ablação eficiente e uma HAZ desprezível (BURGAKOVA, 2001; NOLTE et al., 1997).

Todescan (2003) afirma que a energia *laser* é depositada na amostra em um período tão curto que não há tempo suficiente para que ocorra qualquer transformação estrutural, nem mesmo a desnaturação protéica. Desse modo, toda a estrutura, bem como todas as propriedades do material irradiado, são preservadas.

Essa ablação não depende mais da ressonância do *laser* com o tecido, e as características específicas de absorção do tecido não são mais de vital importância. Portanto, é uma interação que ocorre de forma muito semelhante em todos os tipos de materiais (NEEV, 1996a).

Alguns tipos de USPL conseguem entregar potências de pico extremamente altas, chegando a 10 GW. Para a formação de plasma, a intensidade da radiação pode ultrapassar os 100 TW/cm². Para se ter uma noção de quão grande é essa intensidade, nenhum material existente é capaz de suportar essas forças (SEKA et al., 1996).

É crescente, portanto, o interesse para aplicações cirúrgicas desse sistema *laser*, exatamente devido à sua precisão e capacidade de ablação altamente efetiva e, principalmente, devido ao dano térmico colateral mínimo (KIM et al., 1998; NEEV et al., 1996a; ORAEVSKY et al., 1996; RODE et al., 2002).

Quando uma alta densidade de fótons do feixe *laser* é depositada sobre o tecido, a luz é fortemente absorvida, e a energia se concentra, quase que inteiramente, em uma finíssima camada superficial. Desse modo, a densidade de energia óptica é muito maior que a energia de ligação das moléculas do tecido, ou seja, a energia dos elétrons supera a separação entre as bandas. Durante o tempo de interação do pulso, há primeiro a fotoindução e, em seguida, os elétrons ganham energia maior que a quantidade necessária para se desprender da matéria. Esse processo é denominado de absorção ou ionização multifotônica. Nesse tipo de absorção de fótons no regime de pulsos ultracurtos, a maior parte da energia depositada não vai para a parte da ligação quebrada, mas para a parte acelerada e ejetada (STRASSL et al., 2002).

Após os elétrons serem arrancados da matéria, os íons se repelem, provocando a repulsa coulombiana explosiva (NEEV et al., 1996a; ORAEVSKY et al., 1996).

Mesmo nas situações em que é pequeno o número de elétrons livres produzidos pela absorção, o feixe ainda é capaz de fornecer a semente inicial

:

para a avalanche de elétrons. Desse modo, o limiar de ablação é independente, ou seja, não é sensível à absorção linear e aos defeitos do material (RUBENCHIK et al., 1996).

O ponto fundamental, na interação tecidual dos *lasers* que operam no regime de pulsos ultracurtos, é que a largura temporal do pulso *laser* é tão curta que o calor liberado da condução dos fótons e depositado pelo *laser* no tecido, não tem tempo para se propagar para além do ponto de incidência. Portanto, não existe transmissão do calor, nem tempo de relaxação térmica e nem transporte de calor significante durante o pulso, e a absorção e a ablação ocorrem com uma condução térmica insignificante (NEEV et al., 1991; Neev et al., 1996a).

StrassI et al. (2002) definem a eficiência de ablação como sendo a relação entre a profundidade de ablação e a fluência, utilizando μm/(J/cm²).

Quando se alcança uma ablação *laser* eficiente, a mesma será válida para, praticamente, qualquer material, e os parâmetros, provavelmente, serão muito parecidos para quase todos os materiais (NEEV et al., 1996a).

Todescan (2003), utilizando o mesmo USPL T³ de Ti:Al₂O₃ empregado neste trabalho, analisando a interação de sua radiação com o esmalte dental bovino, encontrou uma fluência de limiar de ablação, para um regime temporal de 60 fs, de ~0,81 J/cm² no seu primeiro experimento, e de ~0,57 J/cm² no segundo experimento.

As maiores vantagens dos USPLs no método de ablação mediada por plasma, com pulsos inferiores a 10 ps, são:

- 1ª) ablação eficiente dada pela pequena entrega de energia laser por volume de tecido ablacionado, resultando numa diminuição da densidade de energia necessária para ablacionar o material (NEEV et al., 1996a);
- 2ª) mais material ablacionado por depósito de energia laser,
- 3ª) por deixar muito menos resíduos, é denominada de ablação limpa;
- 4ª) dano mecânico colateral mínimo, de acordo com a eficiente ablação e com a pequena largura temporal do pulso, não sendo suficiente para o aparecimento de fraturas no tecido duro (NEEV et al., 1996a);
- 5^a) perda da transmissão térmica, ou seja, dano térmico colateral mínimo; (NEEV et al., 1996a; STRASSL et al., 2002);

- 6^a) o limiar e a taxa de ablação são apenas levemente dependentes do tipo e condição do tecido-alvo (NEEV et al., 1996a);
- 7^a) extrema precisão na profundidade de ablação, pois apenas uma pequena fração de tecido é ablacionada por pulso, sendo que o número de pulsos ainda pode ser controlado por mecanismos de *biofeedback*;
- 8^a) baixo nível de ruído acústico durante a irradiação (NEEV et al., 1996a);
- 9^a) ablação eficiente de quase todos os tipos de tecido (ORAEVSKY et al., 1996);
- 10^a) altas taxas de ablação com uma rápida freqüência (acima de 1 kHz) de pulsos *laser* (NEEV et al., 1996b);
- 11^a) efeito térmico cumulativo desprezível;
- 12^a) controle espacial preciso;
- 13^a) dispensa refrigeração com *spray* de ar e água (STRASSL et al., 2002); e
- 14^a) benefício de um tratamento com uma melhor relação custo/benefício (NEEV et al., 1996a).

Neev et al. (1996a) afirmam que o fato principal da interação desse tipo de *laser* é que uma grande fração das energias cinética e térmica depositadas é levada embora juntamente com o tecido ablacionado, o que reduz, significativamente, o calor nas áreas adjacentes. Assim, todos os problemas relacionados com danos térmicos não estão mais presentes, ou seja, nenhuma HAZ é observada. Não há zona de fusão, não há microfraturas consideráveis, não há ondas de choque destruidoras, a camada de ressolidificação é insignificante e o estresse causador de danos aos tecidos circundantes é desprezível.

3.4 Estudo da técnica de Tomografia por Coerência Óptica – Optical Coherence Tomography (OCT)

Com o surgimento do *laser*, na década iniciada em 1960, novas tecnologias baseadas em princípios ópticos passaram a facilitar a análise de amostras de tecidos vivos. Como exemplo mais flagrante há o microscópio óptico

bastante utilizado nas áreas biomédicas. Poucos instrumentos, no entanto, tiram vantagem da propriedade de coerência da luz.

Ainda assim, os instrumentos que utilizam a luz *laser*, luz altamente coerente, têm a finalidade de iluminação ou de geração de calor. Provavelmente, uma das razões pela qual a tomografia por coerência óptica tenha chamado a atenção dos cientistas é que apresenta o potencial de se tornar a primeira técnica de diagnóstico por imagem que faz uso da propriedade de coerência temporal da luz (Figura 7) (SCHMITT, 1999).



Figura 7: Sistema de tomografia por coerência óptica.

A OCT é uma nova técnica de diagnóstico que produz imagens de um corte transversal, com alta resolução espacial, de microestruturas internas de um tecido vivo (FUJIMOTO et al., 1991; SCHMITT, 1999).

A capacidade da técnica OCT para realizar imagens microscópicas de estruturas de tecidos, explorando a curta coerência temporal das fontes de grande largura de banda espectral, vai além do alcance dos microscópios ópticos confocais tradicionais, pois têm atingido profundidades de até 2 cm, em tecidos transparentes, como por exemplo, o olho humano (FUJIMOTO et al., 1991). Na

pele e em outros tecidos altamente espalhadores, a OCT permite construir imagens de pequenos vasos sangüíneos e outras estruturas numa faixa de 1 a 2 mm abaixo da superfície (SCHMITT, 1999).

Essas imagens microscópicas de estruturas de tecidos são, na realidade, mapas tomográficos apresentados em esquemas de cores falsas para facilitar sua interpretação. Para essas imagens, as cores claras, por convenção, correspondem a áreas de alta refletividade, enquanto que as escuras representam áreas de baixa refletividade (FUJIMOTO et al., 1991).

Atualmente, as técnicas de ultra-sonografia utilizam freqüências de até 100 MHz, podem gerar imagens de dezenas de centímetros de profundidade na maioria dos tecidos biológicos e apresentam uma resolução longitudinal de até 15 μm. Entretanto, é difícil atingir uma resolução lateral muito maior, pois a mesma depende da focalização das ondas acústicas e está limitada ao comprimento da onda.

Uma vantagem significativa que a técnica OCT apresenta sobre o ultrasom de alta freqüência é que ela utiliza, normalmente, comprimentos de onda da ordem de 800 nm, possibilitando uma maior resolução lateral, a qual é determinada pelo diâmetro do feixe focalizado. A resolução longitudinal depende do comprimento de coerência e não do comprimento de onda propriamente dito.

Entretanto, para que a técnica de OCT se torne um método de diagnóstico por imagem, alguns aspectos necessitam de aprimoramento e maior compreensão, como, por exemplo:

- a) questões relacionadas à geração e interferência de campos ópticos parcialmente coerentes e sua propagação nos tecidos biológicos;
- b) questões relacionadas à construção de interferômetros de varredura rápidos para que se consigam obter imagens em tempo real;
- c) métodos para a melhoria do contraste das imagens por meio de processamento de sinais (SCHMITT, 1999).

Na maioria das aplicações em tomografia por coerência óptica, a variação espacial de secção de choque de espalhamento é a primeira fonte de contraste para a construção das imagens. Os campos elétricos que interferem para formar o sinal de correlação medido na coerência óptica são grandezas vetoriais, e o sinal medido no interferômetro carrega informações sobre as

1

polarizações relativas entre o braço da amostra e o braço de referência para diferentes posições sob a superfície da amostra (SCHMITT, 1999). A Figura 8, apresentada a seguir, é um exemplo simplificado do sistema OCT.



Figura 8: Sistema simplificado de tomografia por coerência óptica.

Nos sistemas de OCT, a luz é dirigida até um divisor de feixe formando dois outros com, aproximadamente, metade da intensidade cada um, sendo um deles conduzido até um espelho de referência, e o outro, até a amostra. A radiação retrorrefletida pelo espelho e a retroespalhada pela amostra são recombinadas, formando os padrões de interferência no detector. Como a fonte luminosa utilizada é de baixa coerência temporal, a interferência ocorre no detector somente quando a diferença entre o comprimento óptico do braço da amostra e do braço de referência é menor que o comprimento de coerência da fonte luminosa (FUJIMOTO et al., 1991; SCHMITT, 1999).

A varredura longitudinal da amostra é realizada variando-se o comprimento do braço de referência com o movimento do espelho de fundo do interferômetro, e registrando o sinal de interferência no detector.

A resolução longitudinal do sistema depende do comprimento de coerência da fonte luminosa e, para um perfil espectral de feixe Gaussiano, pode ser representado por:

$$lc = \frac{2 ln 2\lambda^2}{\pi \Delta \lambda}$$

onde *lc* é o comprimento de coerência, λ é comprimento de onda central da fonte luminosa e $\Delta\lambda$ é a largura de banda à meia altura (SCHMITT, 1999).

Já a resolução lateral é dada pelo diâmetro do feixe no foco da lente, assim como no microscópio óptico convencional (FUJIMOTO et al., 1991).

Então, no sistema OCT o campo elétrico, proveniente da fonte óptica, é dividido pelo divisor de feixe em dois componentes: um campo elétrico no braço de referência (E_r) e um campo elétrico no braço da amostra (E_s). O campo elétrico do braço de referência é refletido pelo sistema de varredura, enquanto que o campo elétrico proveniente do braço da amostra é espalhado pelo objeto em estudo. Após, as duas componentes do campo se recombinam no divisor de feixe, e o campo elétrico resultante é a soma desses dois campos.

As imagens são, então, construídas pelo registro do sinal da OCT gerado pela varredura do espelho de referência na direção longitudinal da amostra em diferentes posições laterais. Cada posição lateral na amostra define uma linha em uma das dimensões da imagem construída (tipicamente o eixo x) e na outra dimensão que representa a direção longitudinal (eixo z). Cada *pixel* (pontos do plano xz) representa uma média do sinal de interferência proveniente da amostra dentro do comprimento de coerência. Para a construção de imagens em três dimensões, desloca-se a amostra na outra direção (eixo y), e um ponto (x,y,z) é obtido, sendo chamado de *voxel*. Essa técnica permite o levantamento de perfis de relevo, como também a observação das propriedades óticas em meios espalhadores.

A partir da digitalização dos dados, a imagem de OCT é, usualmente, representada por um gráfico de intensidades que utiliza uma escala de cinza na qual a cor branca representa um sinal de grande valor de espalhamento, e a cor preta um baixo valor de espalhamento. Pode-se, também, utilizar um mapa de cores falsas (azul, verde, amarelo, vermelho, branco) no qual o maior espalhamento é representado em branco, e o menor em azul. Essa utilização de imagens em cores falsas aumenta o contraste da imagem. Ao contrário das técnicas de tomografia computadorizada e ressonância magnética, a tomografia por coerência óptica não requer grande computação gráfica para a construção das imagens (FUJIMOTO et al., 1991).

A fonte óptica para sistema OCT deve ser escolhida de acordo com as suas propriedades de comprimento de onda, largura de banda, potência e estabilidade, bem como a sua portabilidade e facilidade de manuseio.

As imagens de OCT são limitadas pela absorção e pelo espalhamento do tecido-alvo, além da sua dispersão, e essas duas fontes de atenuação são diretamente dependentes do comprimento de onda. Portanto, seria interessante utilizar um comprimento de onda próximo da região do vermelho, pois se sabe que, para esses comprimentos de onda, as absorções dos constituintes dos tecidos, como a água e o sangue, são pequenas (SCHMITT, 1999).

Deve-se considerar, também, que os *lasers* apresentam a propriedade da coerência espacial, podendo ser focalizados em pequenas áreas e atingir grandes intensidades. Assim, essa vantagem compensa a atenuação no meio material, permitindo que a técnica atinja maiores profundidades.

Logo, utilizando-se um *laser* operando em regime de travamento de modos com pulsos na ordem de dezenas de femtossegundos que apresenta uma resolução longitudinal entre 10 e 20 μ m, é possível conseguir resoluções de até 2 μ m. Para tal, pode-se utilizar a superluminescência de um cristal de Ti:Al₂O₃ bombeado por um *laser* com 532 nm de comprimento de onda (FUJIMOTO et al., 1991; SCHMITT, 1999).

Parâmetros utilizados no experimento

Antes do início da varredura da amostra, foi medida a potência média na saída da fonte óptica e verificou-se 230 mW e 1,15 mW na entrada do sistema de medida. Foram também aferidas as potências no braço da amostra (212 μ W) e no braço de referência (690 μ W).

Varreu-se a amostra número 3, percorrendo 2350 μ m no eixo x e 300 μ m no eixo z, com passos de 20 μ m no eixo x e 10 μ m no eixo z. Isso origina um total de 10000 pontos, sendo feita uma média de 16 medidas por ponto, no eixo z. A velocidade de deslocamento foi de 164,47 μ m/ms.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Equipamentos

- a) USPL T³ de Ti:Al₂O₃ (Projeto Temático FAPESP T³ do Centro de Lasers e Aplicações (CLA) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN)), para irradiação das amostras;
 - b) mesa de translação, com resolução micrométrica controlada por computador, para movimentação das amostras (Figura 10);
 - c) osciloscópio Tektronix DPO 3032B, para medição da amplitude dos pulsos *laser*, em função do tempo;
 - d) perfilômetro de feixe, Spiricon M²-200, para registrar o fator de interferência sobre sua lei de propagação, ou seja, para avaliar a qualidade espacial do feixe *laser* de saída;
 - e) microscópio eletrônico de varredura (Philips LX 300, Eindhover, Holland, do Centro de Ciência e Tecnologia dos Materiais – CCTN – do IPEN), para observação da micromorfologia das superfícies irradiadas;
 - f) micromotor cirúrgico elétrico (Gnatus® GN-20); e
 - g) contra-ângulo (Gnatus[®] GN-30, 1:1), para a montagem da serra circular;
 - h) micromotor (Dabi Atlante® N270); e
 - i) contra-ângulo (Dabi Atlante) para montagem dos discos de polimento.

4.2 Métodos

4.2.1 Obtenção das amostras

Após a aprovação pelo comitê de ética, foi utilizado um coelho sadio, branco, macho, da raça New Zealand, com 3,8 kg de massa, para a obtenção das amostras.

Para a realização da eutanásia, primeiramente, o animal foi anestesiado com o dobro da dose anestésica (overdose), com a administração de Ketamina 2,5mg/kg com Acepran 0,1 mg/kg, totalizando 1ml/kg, via intramuscular. Em seguida, o animal foi mantido em uma câmara, hermeticamente fechada, com CO₂ a 70% e O₂ a 30%. A ação do CO₂ é rápida e tem ação letal por provocar depressão no sistema nervoso central. O animal foi mantido no interior da câmara por mais três minutos, depois de verificada a interrupção dos movimentos da respiração, para confirmação de sua morte (DE LUCA, 1996).

Após a constatação de sua morte, o animal foi submetido ao procedimento cirúrgico para remoção dos blocos ósseos.

Inicialmente, foi realizada a tricotomia da região a ser operada (tíbia esquerda e direita), utilizando-se, para tanto, uma tesoura de ponta romba. Após a tricotomia, a região passou por um processo de desinfecção com solução de álcool iodado, tentando-se, assim, manter o campo cirúrgico com a menor contaminação possível.

A intervenção foi realizada sobre uma mesa metálica, previamente desinfetada e coberta por compressas cirúrgicas estéreis, onde o animal foi posicionado em decúbito lateral, de maneira que a área operada estivesse voltada para o cirurgião, a fim de facilitar o acesso cirúrgico.

Com uma lâmina de bisturi número 5, foi realizada uma incisão linear, seguindo a tíbia do animal na região do ângulo mesial da mesma e percorrendo, aproximadamente, 5 cm no sentido longitudinal. O retalho realizado incisionava a derme, a epiderme, passando pelo plano muscular e incisionando o periósteo. Continuando a intervenção, deslocaram-se, lateralmente, os planos incisionados, utilizando um destaca periósteo e um afastador para mantê-lo em posição. Desse modo, conseguiu-se ter acesso direto ao osso do animal.

Usando um contra-ângulo (Gnatus[®] GN-30, 1:1), montado em um micromotor cirúrgico elétrico (Gnatus[®] GN-20), na velocidade de 900 rotações por

minuto, e sob constante irrigação de soro fisiológico, a tíbia foi seccionada em suas extremidades com o uso de uma serra circular (Figura 9).



Figura 9: Osteotomia com serra circular da tíbia do coelho para obtenção das amostras.

O mesmo procedimento foi realizado na outra perna do coelho. Esses ossos foram mantidos em soro fisiológico para o transporte até o local onde foram preparados.

4.2.2 Preparo das amostras

Logo após a obtenção das amostras, elas foram levadas até o laboratório, para que pudessem ser preparadas.

Primeiramente, usando um contra-ângulo (Dabi Atlante[®]), montado sobre um micromotor (Dabi Atlante[®] N270), o osso foi dividido em segmentos com 1 cm de comprimento com uma serra circular. A medula óssea foi removida com o auxílio de uma pinça hemostática autoclavada e, logo após, o canal medular foi limpo com gaze umedecida em soro fisiológico.
Como o osso é convexo, foi feito um leve desgaste em uma de suas superfícies e, em seguida, o polimento dessa face. Este procedimento visa aprimorar a interação do feixe *laser* com a amostra, possibilitando alcançar mais facilmente um ângulo de 90° entre ambos. Deste modo, a reflexão da radiação será diminuída ao máximo. Para tal, foram usados os discos para polimento Sof-Lex[®] XT Pop-On[™] (3M[®]), em três granulações: grossa (cor vermelha), média (cor laranja) e fina (cor amarela), nessa seqüência. Com isso, tornou-se a superfície mais plana e lisa, tentando minimizar ao máximo a reflexão do feixe *laser* incidente.

Foram, dessa forma, obtidas e preparadas seis amostras, todas planificadas e polidas, com ~1 cm de comprimento. As amostras foram numeradas de 1 a 6.

Após, foram mantidas em soro fisiológico e guardadas na geladeira a 4ºC. Esse cuidado visou a evitar o ressecamento das amostras com a perda da umidade e, dessa forma, impedir o aparecimento de fraturas ou trincas nas mesmas.

4.2.3 Sistema USPL T³ de Ti:Al₂O₃ utilizado

O *laser* é denominado T³ (*Table Top Terawatt*) por estar apoiado sobre uma mesa e produzir pulsos ultracurtos, sendo, na realidade, gerado por um sistema de *lasers*. O Titânio (Ti) é um dopante do cristal de safira (Al₂O₃), e ambos constituem o meio ativo do *laser*. Ti:Al₂O₃.

O sistema é formado por um oscilador principal que gera um trem de pulsos de alta freqüência (78 MHz), com curta duração temporal (50 fs) e pequena energia por pulso (nJ), o qual está integrado a um amplificador, utilizando a técnica CPA (já descrita no capítulo 3.1.2). O oscilador principal, dito semente, é da Coherent, e é, na realidade, formado pelos osciladores Verdi e Mira-Seed-R, sendo que o Verdi bombeia o Mira-Seed-R.

O Verdi é um *laser* de emissão contínua cujo meio ativo é o Nd:YVO₄. Este *laser*, por sua vez, é bombeado por outro, um *laser* de diodo. O *laser* de Nd:YVO₄ precisa ser dobrado para emitir um feixe no comprimento de onda da luz verde, já que o oscilador Mira-Seed-R necessita, obrigatoriamente, ser bombeado por luz verde, por ser esta a principal banda de absorção do *laser* de Ti:safira. Como resultado, tem-se uma emissão do segundo harmônico, em 532 nm.

O Mira-Seed-R é um oscilador de pulsos ultracurtos de Ti:Al₂O₃ que opera em regime temporal KLM, com TR_p de 78 MHz, E_p inferior a 5 nJ e pode atingir uma Δt_p inferior a 60 fs, quando centrado ao redor de 830 nm de comprimento de onda.

Sua emissão em 830 nm apresenta pouca absorção pelos tecidos biológicos, ou seja, grande profundidade de penetração, característica presente nos comprimentos de onda situados na faixa do infravermelho próximo.

O feixe *laser* é, então, injetado no interior do sistema CPA, e tem sua taxa de repetição reduzida por um *slicer* a 1 kHz.

O alargador temporal, que possui apenas uma grade de difração (*single grating pulse stretcher*), é responsável por alargar o pulso de 60 fs para 30 ps e o faz em quatro passos pela grade. Isso possibilita a E_p ser distribuída e gera uma diminuição da potência pico do feixe.

Já o amplificador de energia é do tipo multipasso de Ti:Al₂O₃ (Odin), com oito passos, e é bombeado por outro *laser*, um Nd:YLF dobrado (527 nm), o qual, por sua vez, é bombeado por lâmpada flash. Assim, a E_p, que era de ~1 nJ, é amplificada um milhão de vezes e passa para ~1 mJ. Os pulsos, neste local do sistema, apresentam Δt_p de 30 ps, TR_p de 1000 Hz, E_p de ~1 mJ e P_{pico} na ordem de GW.

Após a amplificação, um compressor temporal de quatro passos que possui duas grades de difração do amplificador Odin, comprime o feixe de 30 ps para 60 fs. Os pulsos, neste local, apresentam, portanto, uma Δt_p de 60 fs, TR_p de 1000 Hz e E_p de ~0,7 mJ.

Para a focalização do feixe *laser* de saída, foi utilizada uma lente focalizadora de 38 mm de diâmetro. A distância da lente focalizadora à cintura do feixe *laser* foi de 20 cm. Como o feixe não era perfeito, sua lei de propagação era afetada com um fator $M^2 = 2,0$, o que pode ser considerada uma boa qualidade espacial.

4.2.4 Preparo da mesa de translação

Foi utilizada uma mesa de translação com resolução micrométrica (10 µm) computadorizada x-z transversal (Figura 10).



Figura 10: Mesa de translação computadorizada utilizada.

A amostra foi posicionada e movimentada nessas duas direções no momento da irradiação. Para executar o movimento desejado no experimento, a mesa foi controlada por um *software* inserido em um sistema computadorizado.

4.2.5 Irradiação das amostras

Para a realização das irradiações, o feixe *laser* foi focalizado, e a amostra não foi refrigerada durante o procedimento (Figura 11 e 12).



Figura 11: Amostra posicionada sobre a mesa de translação.



Figura 12: Irradiação da amostra visualizada com auxílio de um marcador.

Durante as irradiações, foram seguidas todas as normas de segurança necessárias, ressaltando-se a utilização de óculos de proteção de densidade óptica 7 para o comprimento de onda do *laser* de 830 nm, tanto para o operador como para todas as pessoas que se encontravam no interior do laboratório de operação do *laser*.

O deslocamento da mesa de translação foi programado para que fosse possível estudar as características do feixe nas diversas distâncias focais. A incidência da radiação iniciava em um ponto onde ainda não estava ocorrendo ablação. A mesa começava o movimento programado, entrando na zona de ablação, passando pelo foco e continuava até sair da mesma.

Para as amostras 1, 2, 3 e 4, a mesa de translação foi programada para deslocar 60 mm longitudinalmente para frente (eixo z), a uma velocidade de 6 mm/s, e 10 mm transversalmente no eixo x, a 1 mm/s.

Para a amostra 5, foram feitos dois deslocamentos. O primeiro idêntico ao realizado para as amostras anteriores, e o segundo 30 mm no eixo z, a uma velocidade de 6 mm/s e 10 mm no eixo x, a 1 mm/s.

Para a amostra 6, o deslocamento foi idêntico ao segundo deslocamento da amostra 5, entretanto utilizou-se uma modulação temporal (*chopper*) para controlar o número de pulsos incidentes na amostra.

A Tabela 2 resume os deslocamentos:

Amostras	Deslocamento eixo z	Velocidade eixo z	Deslocamento eixo x	Velocidade eixo x		
Amostra 1	60mm	6mm/s	10mm	1mm/s		
Amostra 2	60mm	6mm/s	10mm	1mm/s		
Amostra 3	60mm	6mm/s	10mm	1mm/s		
Amostra 4	60mm	6mm/s	10mm	1mm/s		
Amostra 5 – a	60mm	6mm/s	10mm	1mm/s		
Amostra 5 – b	30mm	6mm/s	10mm	1mm/s		
Amostra 6 – chopper	30mm	6mm/s	10mm	1mm/s		

Tabela 2:	Deslocamentos e velocidades de deslocamento das amostras nos
	eixos x e z.

O movimento seguindo o eixo z fazia com que variasse, seqüencialmente, a distância focal da amostra à lente focalizadora. Já o eixo x, o qual deslocava a amostra lateralmente, fazia com que os pulsos *laser* não fossem sobrepostos, mas marcados, seqüencialmente, para que se pudesse avaliar o comportamento do feixe durante a ablação.

Optou-se pelas distâncias no eixo z de 30 e 60 mm, pois se sabia que essa era uma distância relativamente grande, e que seria capaz de iniciar a irradiação em um ponto onde ainda não estava ocorrendo ablação, passar por toda a zona de ablação e continuar até sair dela.

Após a irradiação, as amostras foram levadas para serem analisadas pelas técnicas de MEV e OCT,

Em MEV, como a técnica necessita desidratação total da amostra, procedeu-se da seguinte maneira:

- 1°) os blocos ósseos foram mantidos em glutaraldeído 2,5% por 2 horas;
- 2°) foram feitas três lavagens de 5 minutos cada com tampão fosfato
 0,1M;
- 3°) para a desidratação propriamente dita foi seguida a seguinte seqüência de lavagens:
 - a) duas lavagens de 5 minutos cada com álcool 30%;
 - b) duas lavagens de 5 minutos cada com álcool 50%;
 - c) duas lavagens de 5 minutos cada com álcool 70%;
 - d) duas lavagens de 5 minutos cada com álcool 90%;
 - e) duas lavagens de 5 minutos cada com álcool 96%;
 - f) quatro lavagens de 5 minutos cada com álcool absoluto;
- 4º) para a secagem, as amostras foram mantidas em HMDS por 20 minutos e, após retirar o excesso de HMDS, por mais uma hora até a sua completa secagem.

As amostras foram, então, armazenadas em potes *eppendorf*, individuais e numerados, e acondicionadas em um pote hermeticamente fechado contendo sílica gel.

5 RESULTADOS

No início das irradiações, e de acordo com a lente focalizadora escolhida (38 mm), a distância da mesma à cintura do feixe *laser* [f] foi de 20 cm, e o fator da lei de propagação $M^2 = 2,0$.

O autocorrelador é usado para medir a duração do pulso. Em algumas situações, por diversos motivos, como por exemplo, instabilidade na saída do *laser*, flutuações de potência por períodos longos, alinhamento e limpeza dos elementos ópticos e degradação da fonte bombeadora, os pulsos podem apresentar algumas assimetrias.

De acordo com o traço de autocorrelação (Gráfico 1), a largura temporal aferida foi de 51,39 \pm 1,57fs.





As aferições das E_p de cada amostra estão descritas na Tabela 3, bem como a P_{pico} já calculada, lembrando que $P[W] = \frac{E[J]}{\Delta t[s]}$

Amostras	E _{pulso} (μJ)	P (GW)	
Amostra 1	173 (6)	3,37 (0,12)	
Amostra 2	154 (6)	3,00 (0,12)	
Amostra 3	159 (7)	3,09 (0,14)	
Amostra 4	157 (6)	3,05 (0,12)	
Amostra 5 – a	152 (6)	2,96 (0,12)	
Amostra 5 – b	148 (6)	2,88 (0,12)	
Amostra 6	148 (6)	2,88 (0,12)	

Tabela 3: E_{pulso} (µJ) aferida e potência (GW) já calculada para as amostras.

Como se tratava de um feixe de distribuição Gaussiana, esperava-se que tivesse um comportamento simétrico, antes e depois da cintura do feixe, e, portanto, os desenhos das cavidades deveriam ser os mesmos. Observou-se a figura em MEV, identificando-se (figura 13):

- a) ponto de limiar de ablação [ZL];
- b) distância Z_L-Z_L' como comprimento de ablação;
- c) cintura de ablação (posição [0]);
- d) $2\omega_0$ como o diâmetro do feixe na cintura do feixe;
- e) 2p_{min} como o diâmetro da cavidade de ablação na cintura do feixe;
- f) cavidade de diâmetro máximo (posição [M]) com $2\omega_m$ como o diâmetro do feixe no maior diâmetro da cavidade de ablação;
- g) 2pmáx como o maior diâmetro da cavidade de ablação;
- h) limiar de ablação [Z_L] com 2ω_L como o diâmetro do feixe na menor cavidade de ablação;
- i) 2p_L como o diâmetro da menor cavidade de ablação (Figura 13).



Figura 13: Região de ablação em forma de gravata borboleta.

Além disso, percebeu-se que a cavidade apresentava uma variação de profundidade, mostrando ser mais rasa na região do limiar de ablação e mais profunda na região da cintura do feixe *laser*. Essa figura foi, primeiramente, descrita por Todescan (2003) e será por nós denominada de "região de ablação em forma de 'gravata borboleta'".

O Gráfico 2 mostra a relação da área do feixe *laser* [A] (μm²) em relação à posição da amostra [Z] (μm). Observa-se que quanto mais próximo à posição 2ρ_{min}, menor é a área do feixe, sendo simétrico o lado oposto.



Gráfico 2: Área do feixe *laser* [A] (μm²) em relação à posição da amostra [Z] (μm), evidenciando que quanto mais próximo à posição 2p_{min}, menor é a área do feixe.

O mesmo pode ser observado no Gráfico 3 que estabelece a relação entre a cintura do feixe [ω] (μ m) e a posição na amostra [Z] (μ m). Observa-se que quanto mais próximo à zona central da amostra (posição [0]), menor é a cintura do feixe, sendo simétrico o lado oposto.



Gráfico 3: Cintura do feixe [ω] (μm) em relação à posição na amostra [Z] (μm), evidenciando que quanto mais próximo à zona central da amostra (posição [0]), menor é a cintura do feixe.

Também se observa essa relação no gráfico que relaciona a potência [P] (10^{14} W/cm^2) em função da posição na amostra [Z] (µm). Quanto mais próximo da zona $2\rho_{min}$, maior é a potência, sendo simétrico o lado oposto (Gráfico 4):



Gráfico 4: Potência [P] (10¹⁴ W/cm²) em função da posição na Amostra [Z] (μm), evidenciando que quanto mais próximo da zona 2p_{min}, maior é a potência.

5.1 Intensidade de limiar de ablação

Para o cálculo da intensidade de limiar de ablação (Ith):

$$I_{de} = \frac{P_{i_1}}{e_{i_1} \pi \left(\rho_{max}\right)^2} \quad \text{ou} \quad I_{ik} = \frac{0.117 P_0}{\left(\rho_{max}\right)^2},$$

onde P_o é a potência do pulso, e é a base neperiana de valor 2,71828, π = 3,1415 e $\rho_{máx}$ é o maior raio medido na cavidade de ablação (SAMAD; VIEIRA, 2006).

Optou-se por realizar os cálculos em função da Amostra 3, pois a mesma foi a que apresentou as melhores imagens em MEV. Usando o *software* ImageJ 1.34s®, específico para aferir essas medidas, encontraram-se os valores de $\rho_{máx}$ (62,5µm) e do comprimento de ablação (2,68mm) (Figura 14). ρ



Figura 14: Micrografia eletrônica de varredura demonstrando as medidas do comprimento de ablação e da $\rho_{máx}$ (aumento original de 30x).

Portanto, a intensidade de limiar de ablação calculada para o regime temporal de 51,4 fs e potência de 3,09 GW foi de **9,26 TW/cm²**.

5.2 Fluência de limiar de ablação

Para o cálculo da fluência de limiar de ablação (F_L):

$$F_L = l_{th} \cdot \Delta t_p$$

Portanto, a fluência de limiar de ablação calculada para o regime

temporal de 51,4 fs e potência de 3,09 GW foi de 0,54 J/cm².

5.3 Profundidade de ablação em função da intensidade

A partir das imagens em OCT (Figura 15), conseguiu-se criar uma imagem em perfil de relevo em três dimensões correspondente ao volume de material ablacionado, ou seja, o negativo da amostra (Figura 16).



Figura 15: Imagem reconstruída e tomada por tomografia por coerência óptica (OCT) da amostra 3: cortes frontal, sagital, axial e imagem em três dimensões.



Figura 16: Imagem em perfil de relevo em três dimensões do volume do material ablacionado da amostra 3, reconstruída a partir das medidas por tomografia por coerência óptica.

A relação entre a profundidade de ablação e a intensidade pode ser representada pelo Gráfico 5 $[z\rho^2 (1000 \ \mu^3) e P (10^{14} \ W/cm^2) x posição da amostra (\mum)].$ A linha azul representa o volume de ablação relativo, e a linha vermelha o perfil da intensidade em função da distância Z de varredura.



Gráfico 5: Relação entre a profundidade de ablação e a intensidade. A linha azul representa o volume de ablação relativo e a linha vermelha o perfil da intensidade em função da distância Z de varredura. Evidencia-se que a região de maior volume de ablação relativo corresponde a, aproximadamente, 40 TW/cm² de intensidade.

Observa-se, no gráfico, a zona de maior intensidade correspondente à posição central da cavidade tipo traço formada, ou seja, a zona 2p_{min}. Nesse local, o volume de ablação relativo é o menor verificado.

Verifica-se, também, um menor volume de material ablacionado na segunda metade do gráfico. Teoricamente, a cavidade deveria ser simétrica, com igual volume de material ablacionado em ambos os lados. Essa diferença, provavelmente, reside no fato de ocorrer a formação de plasma no ar nessa região, o que culmina com uma interferência na interação com a amostra, ablacionando menos material.

No gráfico 5, a linha correspondente ao volume de material ablacionado apresenta dois picos: um correspondente à posição em torno de 500 μm após o início da ablação na amostra, e o outro à posição em torno de 850 μm. Fazendo-se uma média desses dois picos e relacionando-a com a intensidade,

observa-se que a região de maior volume de ablação relativo corresponde a, aproximadamente, 40 TW/cm² de intensidade, ou seja, cerca de quatro vezes a intensidade de limiar de ablação.

5.4 Análise micromorfológica das superfícies irradiadas

Observando as amostras irradiadas, em aumentos de 400X (Figura 17) e 1000X (Figura 18), as imagens em MEV obtidas mostram que as bordas das cavidades têm um desenho muito agudo. Os cantos aparecem extremamente vivos e absolutamente nenhuma HAZ pode ser observada.



Figura 17: Micrografia eletrônica de varredura da região 2p_{máx}, evidenciando a nitidez das bordas da cavidade, cantos extremamente vivos e ausência de HAZ (aumento original de 400X).



Figura 18: Micrografia eletrônica de varredura da região $2\rho_{max}$, evidenciando um desenho agudo da cavidade, cantos vivos e ausência de HAZ (aumento original de 1000X).

Na imagem em 2000X (Figura 19), nota-se, também, que a estrutura do tecido ósseo presente é muito parecida com a do tecido ósseo íntegro. Isso ocorre devido à ausência de transmissão do calor aos tecidos circunvizinhos.



Figura 19: Micrografia eletrônica de varredura da região 2p_{máx}, mostrando que a estrutura do tecido ósseo presente é muito parecida com a estrutura do tecido ósseo íntegro (aumento original de 2000X).

Comparando as imagens mostradas nas Figuras 17, 18 e 19 (região $2\rho_{máx}$ ou região do maior diâmetro da cavidade) com as Figuras 20, 21 e 22 (região $2\rho_{min}$ ou região do menor diâmetro da cavidade, onde a intensidade é maior), tanto nos aumentos de 400X, 1000X e 2000X, observa-se que as características de cantos vivos e precisão das bordas são ainda mais nítidas na região $2\rho_{min}$.

¢



Figura 20: Micrografia eletrônica de varredura da região $2\rho_{min}$, evidenciando uma maior nitidez das bordas da cavidade e cantos ainda mais vivos, quando comparada com a região $2\rho_{máx}$, observada na Figura 17 (aumento original de 400X).



Figura 21: Micrografia eletrônica de varredura da região $2\rho_{min}$, evidenciando uma maior nitidez das bordas da cavidade e cantos ainda mais vivos, quando comparada com a região $2\rho_{max}$, observada na Figura 18 (aumento original de 1000X).



Figura 22: Micrografia eletrônica de varredura da região 2ρ_{min}, evidenciando uma maior nitidez das bordas da cavidade e cantos ainda mais vivos, quando comparada com a região 2ρ_{máx}, observada na Figura 19 (aumento original de 2000X).

Quando a incidência era produzida no mesmo local, ou seja, sem o deslocamento da mesa de translação, uma cavidade arredondada, do tipo furo, foi produzida.

Na Figura 23, em aumento de 400X, percebe-se uma cavidade redonda, com cantos em *shape edge* e ausência de HAZ. No fundo da cavidade, pode-se, também, observar uma zona mais profunda, correspondente ao local de maior intensidade da radiação *laser*, para o feixe de perfil gaussiano.

Nitidamente, as trincas observadas nesta figura são artefatos de técnica.



Figura 23: Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo, evidenciando uma cavidade redonda, com cantos vivos e ausência de HAZ. No fundo da cavidade, pode-se, também, observar uma zona mais profunda, correspondente ao local de maior intensidade da radiação *laser*. As trincas são artefatos de técnica (aumento original de 400X).

Na Figura 24, o aumento é de 1000X e observa-se, com maior detalhe, o fundo da cavidade.



Figura 24: Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo, demonstrando, com mais detalhes, o fundo da cavidade, local de maior intensidade da radiação *laser* (aumento original de 1000X).

Nas Figuras 25 e 26, é possível visualizar, em aumento de 2000X, as bordas da cavidade tipo furo.



Figura 25: Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo, demonstrando, com mais detalhes, a borda da cavidade (aumento original de 2000X).



Figura 26: Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo, demonstrando, com mais detalhes, a borda da cavidade (aumento original de 2000X).

Na amostra 6 (Figura 27), onde uma modulação temporal do feixe foi utilizada, produziram-se cavidades do tipo furo ao longo do deslocamento da amostra. Desse modo, é possível comparar os dois tipos de cavidades formadas (gravata borboleta ou traço – furo).

Em todas as cavidades tipo furo, não foi observada nenhuma HAZ.



Figura 27: Micrografia eletrônica de varredura das cavidades do tipo furo produzidas ao longo da cavidade tipo traço. Desse modo, é possível comparar os dois tipos de cavidades formadas (aumento original de 15X).

Na Figura 28, em aumento de 400X, observa-se a cavidade tipo furo formada na região correspondente ao início da formação da cavidade tipo traço, ou seja, no local onde inicia o processo de ablação do material (ponto Z_L). Nesse ponto, a cavidade é redonda, não apresenta os cantos vivos e é nitidamente rasa. Utilizando um *software* específico para tal (Image J[®]), mediu-se o diâmetro da cavidade e chegou-se ao valor aproximado de 53 µm.



Figura 28: Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo produzida no ponto Z_L. Nesse ponto, a cavidade é redonda, não apresenta os cantos vivos, é nitidamente rasa e apresenta 53 μm de diâmetro (aumento original de 400X).

À medida que as cavidades tipo furo são produzidas em direção à região $2\rho_{min}$ (Figuras 29, 30 e 31), aumenta a profundidade das mesmas, e os cantos tornam-se mais vivos. As Figuras 29 e 30 apresentam as cavidades formadas próximas à região $2\rho_{max}$, e são semelhantes entre si. Seus diâmetros são de, aproximadamente, 110 µm. A cavidade produzida na região correspondente ao $2\rho_{min}$ (Figura 31) apresenta um diâmetro em torno de 64 µm e

é a que possui maior nitidez dos bordos e maior profundidade, devido à região ser o local onde há a maior intensidade da radiação *laser.*



Figura 29: Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo produzida próxima à região 2ρ_{máx}. Cavidade mais profunda, cantos tornam-se mais vivos e diâmetro maior (110 μm), quando comparada com a cavidade da Figura 28 (aumento original de 400X).



Figura 30: Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo produzida próxima à região 2p_{máx}. Cavidade muito semelhante à cavidade presente na Figura 29 (aumento original de 400X).



Figura 31: Micrografia eletrônica de varredura da cavidade tipo furo produzida na região correspondente ao 2p_{min}. Apresenta maior nitidez dos bordos, maior profundidade e cantos mais vivos, quando comparada com as cavidades presentes nas Figuras 28, 29 e 30. Seu diâmetro é de 64 μm (aumento original de 400X).

6 DISCUSSÃO

A radiação *laser* absorvida pela camada mais externa do tecido irradiado, tanto no sistema linear como no sistema não linear, aumenta o aquecimento e provoca o derretimento do material (NEEV et al., 1996a). Entretanto, os mecanismos de absorção dessa radiação são diferentes. Gamaly (2001) relata que a intensidade para a interação de pulsos longos fica em torno de 10⁸ a 10⁹ W/cm² e com duração de ns. Já a intensidade para a interação de pulsos ultracurtos ultrapassa 10¹³ W/cm² e com duração temporal de fs.

A interação da radiação de pulsos longos com os tecidos duros é dominada pelo processo de absorção da luz. Portanto, a taxa de ablação, nesse regime temporal, depende das características intrínsecas do tecido em questão. No regime de pulsos longos, o volume de aquecimento e a energia necessários para a ablação são maiores. Devido ao fato de a energia térmica dos pulsos longos penetrar mais profundamente nos tecidos, um dano térmico direto (estresse termomecânico) é gerado. Esses danos geram trincas e até fraturas no material, danos esses inaceitáveis para a maioria das aplicações médico-odontológicas (NEEV et al., 1996a).

Ao estudar a ablação térmica do *laser* nos tecidos biológicos, os resultados apresentados na literatura atual mostram que, quando a Δt_p do *laser* diminuía, o mesmo ocorria com os danos colaterais aos tecidos circunvizinhos.

Como já descrito, para ocorrer o processo de ablação, é necessário que o tecido seja irradiado com altas intensidades de energia. Quando a Δt_p é de ms, severos danos térmicos são gerados nesses tecidos. Mesmo com a tentativa de usar refrigeração com *spray* de ar e/ou água e usar TR_p mais altas, os *lasers* ainda não podiam cortar os tecidos duros com a mesma eficiência que os instrumentos rotatórios convencionais (KIM et al., 2001; LIZARELLI, 2000; NEEV et al., 1991; NEEV et al., 1996a, 1996b; WHITE et al., 1994).

Vários autores demonstraram que a quantidade de material fundido e vaporizado pode ser controlada pela dinâmica do processo, em que a P_{pico} e a Δt_p

do *laser* e a condutividade térmica do tecido são os principais fatores envolvidos. Ou seja, quanto menor a P_{pico} e maior a Δt_p , maior é a quantidade de tecido na forma líquida e menor a quantidade de tecido na forma de vapor, o que culmina com o comprometimento da qualidade do tecido remanescente.

2

Desse modo, a maioria dos *lasers* existentes que interage com o tecido ósseo tem Δt_p de µs, causando menores mudanças na morfologia, na composição do tecido e na HAZ, quando comparados com os *lasers* de Δt_p de ms.

Os *lasers*, operando com Δt_p de ns, produzem cavidades que ainda apresentam certa quantidade de material residual sobre a superfície tratada. Entretanto, tais efeitos colaterais são claramente minimizados em relação aos *lasers* produzindo pulsos mais longos (NIEMZ, 1995).

Neev et al. (1996a) encontraram limiar de ablação de 20 J/cm² para o esmalte dental, no regime temporal de ns. Os autores evidenciaram a característica de fusão localizada sob a superfície ablacionada.

As cavidades feitas com *lasers*, operando em Δt_p de 30 ps, apresentaram forma e qualidade muito superiores e uma significativa redução dos efeitos colaterais térmicos e mecânicos no tecido remanescente, quando comparados aos sistemas *lasers* de Δt_p mais longas (ns) (MINDERMANN et al., 1993; NIEMZ, 1994; STERN et al., 1989).

USPLs com Δt_p , na ordem de ps ou fs e TR_p altas, proporcionaram uma série de novas oportunidades para a tecnologia de entrega destes *lasers*. Segundo Gamali et al. (1999), três fatos importantes contribuem para tal:

- 1°) o problema de contaminação da pluma do *laser* pode ser totalmente resolvido dado o baixo número de átomos evaporados por pulso *laser*. Soluciona-se, assim, um dos grandes problemas da ablação *laser* com TR_p convencionais, ou seja, a formação de partículas na superfície do tecido;
- 2º) na variação de ns para fs, ou mesmo para ps, ocorre um aumento significativo da taxa de evaporação, dada a intensidade ser ótima para o dado tecido;
- 3°) altas TR_p levam a um fluxo quase contínuo de átomos evaporados na pluma do *laser* e, portanto, a um aumento na temperatura

superficial do substrato, o que leva à formação de recristalizações cúbicas, as quais podem ser controladas.

Na ablação utilizando-se o USPL de Δt_p de fs, o material ablacionado não passa pelo processo de fusão, pois a sublimação ocorre em um intervalo de tempo menor que o tempo de formação da fase líquida. A energia de um pulso é depositada no tecido em uma escala de tempo menor que a necessária para qualquer transformação estrutural no mesmo (NOLTE et al., 1997).

:

Pela análise de exames microscópicos, nenhum dano térmico foi observado, incluindo trincas, fraturas, carbonização, deslocação, etc., quando da irradiáção de materiais com *laser* em regime de fs (NEEV et al., 1991), o que foi confirmado pelos resultados por nós obtidos.

Praticamente toda a energia cinética e térmica depositada no tecido irradiado é levada embora, juntamente com o tecido ablacionado, o que culmina com uma redução significativa do calor nas áreas adjacentes. Portanto, não há ondas de choque, microfraturas ou zona de fusão (TODESCAN, 2003).

Todescan (2003), analisando, *in vitro*, a interação da radiação do USPL T^3 de Ti:Al₂O₃ com o esmalte dental bovino, determinou, experimentalmente, o limiar de ablação no regime de 60 fs e chegou ao resultado de ~0,5 J/cm².

Neev et al. (1996a), realizando experimento semelhante, chegaram ao valor de limiar de ablação de ~0,7 J/cm², irradiando as amostras em regime temporal de 350 fs.

Rode et al. (2002), em seus cálculos de ablação eletrostática, obtiveram valores de ~0,95 J/cm², utilizando regime temporal de 150 fs.

Neste trabalho, na experiência realizada, ficou claro que o processo de ablação é extremamente sensível ao valor da fluência. Isso quer dizer que, com pequeníssimas variações da fluência, pode-se estar fora da zona de ablação, ou seja, abaixo de seu limiar, o que culmina com a não ablação do material.

Quando a amostra é deslocada, tanto no sentido longitudinal (eixo z) quanto no sentido transversal (eixo x), a região de ablação tem a forma de gravata borboleta, como descrito por Samad e Vieira (2006). Desse modo, a medição dessa região possibilitou determinar com precisão a fluência de limiar de ablação.

Optou-se, portanto, neste trabalho, pelas aferições realizadas, determinar a fluência de limiar de ablação, chegando-se ao resultado de ~0,54 J/cm², no regime temporal de 50 fs.

Neev et al. (1996a) também irradiaram tecido ósseo e encontraram o valor de 1 J/cm² para o limiar de ablação, utilizando USPL em 350 fs. Neste mesmo estudo, os autores determinaram, também, o limiar de ablação para a dentina como ~0,5 J/cm².

Como visto no capítulo 3.3, esses valores deveriam valer, aproximadamente, para todo tipo de material ou tecido biológico. Os valores obtidos neste trabalho podem confirmar isso, devido à proximidade entre os valores encontrados por Neev et al. (1996a), Rode et al. (2002) e Todescan (2003) na irradiação do esmalte dental e, por este trabalho, na irradiação do tecido ósseo.

Pode-se, portanto, observar (Tabela 4) que a ablação dos materiais ou tecidos biológicos, quando irradiados com *lasers* emitindo pulsos no regime de fs, é muito semelhante para todos os materiais, como preconizado por Neev et al. (1996a).

Autor	Material	∆t _p	Limiar de ablação
Poli (2006)	Osso de coelhos	51 fs	0,54 J/cm ²
Todescan (2003)	Esmalte dental bovino	60 fs	0,5 J/cm ²
Rode (2002)	Ablação eletrostática	150 fs	0,95 J/cm ²
Neev (1996a)	Esmalte dental	350 fs	0,95 J/cm ²
Neev (1996a)	Dentina	350 fs	0,5 J/cm ²

Tabela 4: Limiares de ablação em diferentes materiais.

Segundo Bychenkov et al. (1999), a taxa de ablação por nós verificada é na ordem de quatro vezes maior que os regimes temporais de ns e 100 vezes maior que nos regimes de ps.

Verificou-se, também, que a taxa de ablação por pulso, nos *lasers* que operam com regimes com larguras temporais mais longas, é maior do que nos *lasers* que operam em regimes de fs. Entretanto, a eficiência de ablação em

tecidos duros, por unidade de energia depositada, é maior nos USPL (ARMSTRONG; NEEV, 2002).

O valor da intensidade de limiar de ablação verificada neste trabalho foi de **9,26 TW/cm²**. Ao analisar-se a relação entre a profundidade de ablação e a intensidade, verificou-se que a zona de maior volume de ablação relativo corresponde a, aproximadamente, 40 TW/cm² de intensidade. Esse valor corresponde à cerca de quatro vezes o valor do limiar.

Desse modo, para se conseguir uma maior eficiência do sistema, atingindo o maior volume de material ablacionado, deve-se ajustar o *laser* para uma intensidade com, aproximadamente, quatro vezes o valor do seu limiar de ablação. A intensidade de trabalho corresponde, então, a 40 TW/cm².

Segundo Neev et al. (1996a), a taxa de ablação menor que 1 µm/pulso é considerada relativamente alta. Os sistemas de alta rotação removem de 0,5 a 1 mm³/s, dependendo do tipo de intensidade cortante utilizado. Portanto, 1 mm/s de remoção com USPLs são resultados comparáveis com os parâmetros da alta rotação.

Todescan (2003), em seu estudo, chegou a valores de taxa de ablação de 0,4 μm/pulso, com uma fluência de ~0,7 J/cm², utilizando o mesmo sistema *laser* utilizado neste trabalho. Tal resultado demonstra que a taxa de ablação do *laser* de Ti:safira pode ser comparada com a taxa de ablação dos sistemas de alta rotação.

A MEV mostrou que, no regime de ~51 fs, os cortes possuem cantos vivos e bordas agudas. Todescan (2003), ao irradiar o esmalte dental bovino no regime de 30 ps, observou, em MEV, cortes com cantos arredondados. Essa comparação deixa clara a superioridade dos *lasers* no regime temporal de 60 fs sobre os *lasers* no regime temporal de 30 ps. Nos regimes temporais, onde a interação não é térmica, o não aquecimento leva a uma maior precisão dos cortes.

Nenhuma HAZ pôde ser observada em MEV, e a estrutura do tecido ósseo remanescente é muito parecida com a estrutura do tecido ósseo íntegro. Isso ocorre devido à ausência de transmissão de calor para os tecidos adjacentes, decorrente de dois fatores: o material orgânico não evapora e, portanto, fissuras decorrentes de danos térmicos e mecânicos, como torção e compressão, não são observadas, e o estado de liquefação também não é observado.

Observando as cavidades tipo furo produzidas no tecido, em MEV, percebe-se que, à medida que as cavidades são produzidas em direção à região $2\rho_{min}$, aumenta a profundidade das mesmas, e os cantos tornam-se mais vivos.

A comparação, por meio de medições das cavidades tipo furo e traço, ao longo do comprimento de ablação, mostrou a relação do feixe *laser* com o tamanho da cavidade no tecido. Isso possibilita o controle de corte de cavidades entre ~50 e 150 μ m de diâmetro. A cavidade vai depender do comportamento do feixe, o qual é determinado pela região de ablação em gravata borboleta que está interagindo com o tecido.

Desse modo, dependendo do ponto de trabalho no eixo Z, no comprimento de ablação, cavidades com características espaciais diferentes podem ser produzidas.

103

7 CONCLUSÕES

Conseguiu-se ablacionar, com eficiência, o tecido ósseo de coelhos no regime temporal de ~51 femtossegundos, com a região de ablação em forma de gravata borboleta. Essa técnica permitiu uma análise da variação da interação do *laser* com o tecido nos diferentes pontos no eixo Z.

Pela técnica de OCT, foi possível criar uma imagem tridimensional do material ablacionado, o que possibilitou analisar a profundidade de ablação em função da intensidade.

Determinou-se a intensidade de limiar de ablação como 9,26 TW/cm², sendo que a região de maior volume de ablação relativo corresponde a, aproximadamente, 40 TW/cm² de intensidade, ou seja, cerca de quatro vezes a intensidade de limiar de ablação.

Portanto, para se conseguir o melhor rendimento possível do sistema, o mesmo deve ser ajustado à intensidade de 40 TW/cm², sendo esta, então, a intensidade de trabalho.

Determinou-se, também, a fluência de limiar de ablação como 0,54 J/cm². Esta é, pelo menos, uma ordem de magnitude menor que o encontrado nos *lasers* de Er:YAG, o que demonstra, claramente, a maior eficiência deste regime temporal.

Demonstrou-se, também, que, com esse tipo de interação *laser*-tecido, as alterações térmicas são desprezíveis, não alterando, significativamente, as propriedades micromorfológicas do tecido irradiado.
BIBLIOGRAFIA

ALBERT, O.; WANG, H.; LIU, D.; CHANG, Z.; MOUROU, G. Generation of relativistic intensity pulses at a Kilohertz repetition rate. *Opt. Lett.*, v. 25, n. 15, p. 1125-27, 2000.

ARMSTRONG, W. B.; NEEV, J. Ultrashort pulse *laser* ossicular ablation and stapedotomy in cadaveric bone: *Lasers Surg. Med.*, n. 30, p.216-20, 2002.

BACKUS, S.; DURFEE III, C. G.; MURNANE, M. M.; KAPTEYN, H. C. *Review of Scientific Instruments*, n. 26, p. 1207, 1998.

BASS, M. Handbook of Optics. Opt. Soc. Am. 2nd. McGraw-Hill, Inc., 1995. vol. II.

BISWAL, S.; NEES, J.; NISHIMURA, A.; TAKUMA, H.; MOUROU, G. Ytterbium-Doped Glass Regenerative Chirped-Pulse Amplifier. *Optics Communications*, n. 160, p. 92-97, 1999.

BLOEMBERGEN, N. From nanosecond to femtosecond science. *Rev. Mod. Phys.*, v. 71, n. 2, p. 283-7, 1999.

BOULNOIS, J. L. Photophysical processes in recent medical *laser* developments. *Lasers Med. Sci.*, n. 1, p. 47-66, 1986.

BURGAKOVA, N. M. Formation under short pulse *laser* ablation of solids. *Phys. Rev. E.*, n. 63, p. 311-15, 2001.

BYCHENKOV, V. Y.; TIKHONCHUK, V. T.; TOLOKONNIKOV, S. V. *JETP* 88: 1137-42, 1999.

CECCHINI, S. C. M. *Estudo in vitro das aplicações do laser de Hólmio: YLF em esmalte e dentina, visando a realização de cirurgia de acesso endodôntico e preparo cavitário.* 1995. Dissertação. (Mestrado Profissionalizante em *Laser* em Odontologia) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

CHESS, J. T. Laser in Dentistry. CA. Dent. Assoc. J., v. 19, n.11, p. 19-23, 1991.

CUOS: Center of Ultra fast Optical Science. University of Michigan. Disponível em: http://www.eecs.umich.edu/USL/frameHome.html. Acesso em: 17 out. 2003.

DE LUCA, R. R. Manual para técnicos em bioterismo. Winner Graph: São Paulo, 1996.

DEDERICH, D. N. Laser/tissue interaction: what happens to laser light when it strikes tissue? J. Am. Dent. Assoc., v. 124, n. 2, p. 57-61, 1993.

DEMARIA, A. J.; STETSER, D. A.; HEINAU, H. Self mode-locking of *lasers* with saturable absorbers. *Appl. Phys. Lett.*, v. 8, n.7, p. 174, 1966.

EDUARDO, C. P.; GUTKNECHT, N. *A Odontologia e o Laser*. Berlin: Quintessence, 2004. p. 25-43.

FEATHERSTONE, J. D. B.; BARRETT-VESPONE, N. A.; FRIED, D.; KANTOROWITZ, Z.; SEKA, W. CO₂ *laser* inhibition of artificial caries-like lesion progression in dental enamel. *J. Dent. Res.*, v. 77, n.6, p. 1397-403, 1998.

FEATHERSTONE, J. D. B.; NELSON, D. G. A. *Laser* effects on dental hard tissues. *Adv. Dent. Res.*, v.1, n.1, p. 21-26, Oct. 1987.

FREIRE Jr., O.; CARVALHO NETO, R. A. O Universo dos Quanta: uma breve história da física moderna. São Paulo: FTD, 1997.

FRIED, D.; SEKA, W.; GLENA, R. E.; FEATHERSTONE, J. D. B. The thermal response of dental hard tissues to (9-11 μ m) CO₂ *laser* irradiation. *Opt. Eng.*, v. 35, n.7, p. 1976-84, 1996.

FUJIMOTO, J. G.; HUANG, D.; SWANSON, E. A.; LIN, P. C.; SCHUMAN, J. S.; STINSON, W. G.; CHANG, W.; HEE, M. R.; FLOTTE, M.; GREGORY, K.; PULIAFITO: Optical Coherence Tomography. *Science.*, v. 5035, n. 254, p. 1178-81, 1991.

GAMALY, E. G.; RODE, A. V.; TIKHONCHUK, V. T.; LUTHER-DAVIES, B.: Ablation of solids by femtosecond *lasers*: ablation mechanism and ablation thresholds for metals and dielectrics. Submitted to *Phys. Rev.* a 23, 2001.

HARGROVE, L. E.; FORK, R. L.; POLLACK, M. A. Locking of He-Ne *laser* modes induced synchronous intracavity modulation. *Appl. Philys. Lett.*, v. 5, n.1, p. 4, 1964.

HELLWARTH, R. W. Edited by Singer JR. Adv. Quant. Elec., n. 334, 1961.

HILBORN, R. C. Einstein coefficients, cross sections, f values, dipole moments, and all that. *Am. J. Phys.*, n. 50, 1982.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. p. 145-170.

KABO, J. M.; MARTIN, D. E.; SEVERNS, A. E. Determination of mechanical stiffness of bone by pQCT measurements: correlation with non-destructive mechanical four-point bending test data. *J. Biomechanics.*, n. 37, p. 1289-93, 2004.

KANE, D. J. Real-Time Measurement of Ultrashort *Laser* Pulses Using Principal Component Generalized Projections. *IEEE J. Sel. Top. Quantum Elec.*, n. 4, p. 278-84, 1998.

KIM, B. M.; FEIT, M. D.; RUBENCHIK, A. M.; GOLD, D. M.; STUART, B. C.; DASILVA, L. B. Ultrashort pulse *laser* ablation of biological tissue. *SPIE-BIOS*, 1998. p. 24-30.

KIM, B. M.; FEIT, M. D.; RUBENCHIK, A. M.; JOSLIN, E. J.; CELLIERS, P. M.; EICHLER, J.; DA SILVA, L. B. Influence of pulse duration on ultra short *laser* pulse ablation of biological tissue. *J. Biomed. Opt.*, n. 6, p. 332-338, 2001.

KUTSCH, U. K. Lasers in Dentistry: comparing wavelengths. J. Am. Dent. Assoc., v. 124, n.2, p. 49-54, 1993.

LEESON, T. S.; LEESON, C. R. *Atlas de histologia*. Philadelphia: Interamericana, 1980. p. 49-64.

LI MA, H.; HSIUNG CHEN, T.; CHIEH HUNG, S. Development of a new method in promoting fracture healing: multiple cryopreserved bone marrow injections using a rabbit model; *Arch. Orthop. Trauma Surg.*, n.124, p. 448-54, 2004.

LIZARELLI, R. F. Z. *Lasers* de Nd:YAG nos regimes de nano e picossegundos em esmalte e em dentina: análises morfológica e química. Dissertação (Mestrado em Ciências e Engenharia de Materiais). 2000. Universidade de São Paulo, São Paulo.

LOESEL, F. H.; NIEMZ, M. H.; BILLE, J. B.; JUHASZ, T. *Laser* induced optical breakdown on hard and soft tissues and its dependence on pulse duration: experiment and model. *IEEE J. Quantum Elec.*, n.32, p. 1717-22, 1996.

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

MARION II, J. E.; KIM, B. M. Medical applications of ultra-short pulse *lasers*, in commercial and biomedical applications of ultra fast *lasers*. In: MURRAY, K.; NEEV, J. **SPIE Proc.**, n. 3910, p. 4250,1999.

MATSUMOTO, K. *Lasers* in endodontics. *Dent. Clin. of North America*, v.44, n.4, p. 889-906, 2000.

McKENZIE, A. L. Physics of Thermal Processes in Laser-Tissue Interaction. **Phys.** Med. Biol., v. 35, n.9, p. 1175-209, 1990.

MELLO, J. B.; MELLO, G. P. S. *Laser* em Odontologia. São Paulo: Santos, p. 11-38, 2001.

MINDERMANN, A.; NIEMZ, M. H.; EISENMANN, L.; LOESEL, F. H.; BILLE, J. F.: Comparison of three different *lasers* systems for application in Dentistry. *SPIE*, n. 2080, p. 68-76, 1993.

MISERENDINO, L.; PICK, R. Current status of *lasers* in dentistry III. *Dent. J.*, n. 56, p. 254-257, 1987.

. Laser in Dentistry. Califórnia: Quintessence, 1995. p. 169.

. Lasers in Dentistry. Califórnia: Quintessence Books, 1999.

•

MOCKER, H. W.; COLLINS, J. Mode completition and self-locking effects in a Q-Switched ruby *laser. Appl. Phys. Lett.*, v. 7, n.10, p. 270, 1965.

MOULTON, P. F. L. Spectroscopic and *laser* characteristics of Ti:Al₂O₃; *J. Opt. Soc. Am. B.*, v. 3, n.1, p. 125-133, 1986.

MULLER, G.; SCHOLZ, C.; ERTL, T. Biophysics of *laser* tissue ablation in bone and dental treatment. *Innovative Teach. Biol. Med.*, n. 11, p. 1-22, 1990.

NEEV, J. Ablation characteristics of nanosecond pulsed Nd:YAG *laser* on dentin. *J. Dent. Res.*, n. 73, p. 34-41, 1994.

NEEV, J.; LIAW, L. K. L.; RANEY, D. V.; FUJISHIGE, J. Y.; HO, P. T.; BERNS, M. W: Selectivity and efficiency in the ablation of hard dental tissue with ArF pulsed excimer *Lasers*. *Lasers Surg. Med.*, n. 11, p. 499-510, 1991.

NEEV, J.; SILVA, L. B. da; FEIT, M. D.; PERRY, M. D.; RUBENCHIK, A. M.; STUART, B. C. Ultrashort pulse *lasers* for hard tissues. *IEEE J. Quantum Elec.*, n. 2, p. 790-9, 1996a.

_____. Ultrashort pulse *lasers* system for hard dental tissues procedures; **SPIE Proc.**, n. 2672, p. 210-21, 1996b.

NEEV, J.; LIAW L. K. L.; RANEY, D. V.; FUJISHIGE, J. Y.; HO, P. T.; BERNS, M. W. Selectivity and efficiency in the ablation of hard dental tissue with ArF pulsed excimer *lasers*. *Lasers Surg. Med.*, n. 11, p. 499-510, 1991.

NIEMZ, M. H. *Laser-Tissue Interactions:* Fundamentals and Applications. Springer-Verlag: Berlin, 1966.

_____. Investigation and spectral analysis of the plasma-induced ablation mechanism of dental hydroxyapatite. *Appl. Phys.*, n. B 58, p.273-81, 1994.

_____. Cavity preparation with the Nd:YLF picosecond laser. J. Dent. Res., v. 74, n.5, p. 1194-99, 1995.

NIEMZ, M. H.; EISENMANN, L.; PIOCH, T. Vergleich von dries *laser* sytermen zur Abtragung von Zahnschmeiz. *Schweiz Monostich Zahnmed.*, n. 103, p. 1252, 1993.

NIEMZ, M. H.; KLANCNIK, E. G.; BILLE, J. F. Plasma-mediated ablation of corneal tissue at 1053 nm using a Nd:YLF oscilar/regenerative amplifier *laser*, *Lasers Surg. Med.*, n. 11, p.426-31, 1991.

NOLTE, S.; MOMMA, C.; JACOBS, H.; TUNNERMANN, A.; CHICHKOV, B. N.; WELLEGEHAUSEN, B. Ablation of metals by ultra short *laser* pulses. *J. Opt. Soc. Am.*, v. 14, n.10, p. 2716, 1997.

O'BRIEN, W. J.; GROH, C. L.; BOENKE, K. M. Optical, thermal and electrical properties. In: *Dental materials and their selection*. 2. ed. Quintessence, p. 36-61, 1989.

ORAEVSKY, A. A.; DA SILVA, L. B.; RUBENCHIK, A. M.; FEIT, M. D.; GLINSKY, M. E.; PERRY, M. D.; MAMMINI, B. M.; SMALL, W.; STUART, B. C. Plasma mediated ablation of biological tissue with nanosecond to femtosecond *laser* pulses: experiment and model. *IEEE Quantum Elec.*, n. 32, p. 1717-22, 1996.

OSCHAK, M. R.; WOHL, G. R.; HANLEY, D. A.; BRAY, R. C.; ZERNICKE, R. F. Antiresorptive therapy conserves some periarticular bone and ligament mechanical properties after anterior cruciate ligament disruption in the rabbit knee. *J. Orthop. Resear.*, n. 22, p. 942-8, 2004.

PARVOTI, F.; IZATT, J. A.; COTHREN, R. M.; KITTRELL, C.; THOMAS, J. E.; STRIKWERDA, S.; KRAMER, J. R.; FELD, M. S. A model for thermal ablation of biological tissue using *laser* radiation. *Laser Surg. Med.*, n. 7, p. 141-54, 1987.

PELINO, J. E. P. Análise morfológica e espectrofotométrica do esmalte e dentina irradiados com laser de Nd:YAG: estudo in vitro. 2002. Tese (Doutorado em Dentística) – FOUSP, São Paulo.

PERRY, M. D.; STRICKLAND, D.; DITMIRE, T.; PATTERSON, F. G. Cr:LiSrAlF₆ regenerative amplifier. *Opt. Lett.*, v. 17, n. 8, p. 604, 1992.

PERRY, M. D; MOUROU, G. Terawatt to petawatt subpicosecond *lasers*; *Science.*, n. 64, p. 917-24, 1993.

QUINTO Jr., J. Estudo in vitro do esmalte dental irradiado com laser de diodo de alta potência em 960 nm: análise morfológica da superfície dental pósirradiada e análise do comportamento térmico na câmara pulpar devido à aplicação laser. 2001. Dissertação (Mestrado Profissionalizante) – IPEN-FOUSP Lasers em Odontologia, São Paulo.

RAMOS, A. C. B. Estudo in vitro das alterações morfológicas da dentina humana irradiada com laser de Er:YAG e sua relação com dois diferentes sistemas dentinários. 2002. Dissertação (Doutorado em Dentística) – FOUSP São Paulo.

RENSON, C. E. Lasers in Dentistry. *Dent. Update.*, v. 16, n.9, p. 371-2, 1989.

ROCHA, D. M. Avaliação clínica e morfológica da ação do laser de Er:YAG frente à hipersensibilidade dentinária cervical. 2001. Dissertação (Mestrado Profissionalizante) – IPEN-FOUSP Lasers em Odontologia, São Paulo.

RODE, A. V.; GAMALY, E. G.; LUTHER-DAVIES, B. Subpicosecond *laser* ablation of dental enamel. *J. App. Phys.*, v. 92, n.4, p. 2153-58, 2002.

ROSS, M. H.; ROMRELL, L. J. *Histologia: texto e atlas*. 2. ed. São Paulo: Panamericana, 1993. p. 141-180.

RUBENCHIK, A. M.; DA SILVA, L. B.; FEIT, M. D.; LANE, S. M.; LONDON, R. A.; PERRY, M. D.; STUART, B. C.; NEEV, J. Dental tissue processing with ultra-short pulse *laser*. In: HARVEY, A.; WIGDOR, D. D. S.; JOHN, D.; FEATHERSTONE, J. M.; WHITE, D. D. S.; NEEV, J. Lasers in Dentistry II. *SPIE Proc.*, n. 2672, p. 222-30, 1996.

SAGI, A.; SHITZER, A.; KATZIR, A.; AKSELROD, S. Heating of Biological Tissue by Laser Irradiation: Theoretical Model. *Opt. Eng.*, v.31, n. 7, p. 1417-24, 1992.

SAMAD, R. E. *Amplificação de Pulsos de Femtossegundos para Potências de Terawatt.* 2006. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

SAMAD, R. E.; VIEIRA Jr., N. D: Geometrical Method for Determining the Surfaces Damage Threshold for Femtosecond Laser Pulses. *Laser Physics*, v.16, n. 2, p. 336-39, 2006.

SCHMITT, J. M. Optical Coherence Tomography (OCT): A Review. *IEEE Quantum Elec.*, v.5, n. 4, p. 1205-15, 1999.

SEKA, W; FEATHERSTONE, J. D. B.; FRIED, D.; VISURI, S. R., WALSH, J. T. *Laser* ablation of dental hard tissue: from explosive ablation to plasma mediated ablation. *SPIE Proc.*, n. 2672, p. 144-58, 1996.

 $5 \le 1$

SHANK, C. V.; IPPEN, E. P. Subpicosecond kilowatt pulses from a mode locked cw dye *lase*. *Apll. Phys. Lett.*, n. 24, p. 373, 1974.

SLOTTE, C.; LUNDGREN, D.; SENNERBY, L.; LUNDGREN, A. K. Surgical intervention in enchondral and membranous bone: intraindividual comparisons in the rabbit. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.*, n. 5, p.4, p. 263-8, 2003.

SOUSA, G. R. *Reparação de lesões perirradiculares tratadas ou não com laser de baixa intensidade (904nm): estudo radiográfico em humanos.* 2001. Dissertação (Mestrado Profissionalizante) – IPEN-FOUSP *Lasers* em Odontologia.

SPENCE, D. E.; KEAN, P. N.; SIBBETT, W. 60 fs pulses generation from a self-mode-locked Ti:sapphire *laser*. *Opt. Lett.*, n.16, p. 42, 1991.

STENPORT, V. F.; OLSSON, B.; MORBERG, P.; TÖRNELL, J.; JOHANSSON, C. B. Systemically administered human growth hormone improves initial implant stability: an experimental study in the rabbit. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.*, v. 3, n.3, p. 135-41, 2001.

STERN, D.; SCHOENLEIN, R. W.; PULIAFITO, C. A.; DOBI, E. T.; BIRGRUBER, R.; FUJIMOTO, J. G. Corneal ablation by nanosecond, picosecond and femtosecond *lasers* at 532 and 625 nm. *Arch. Ophtalmol.*, n. 107, p. 587-92, 1989.

STRASSL, M.; KASENBACHER, A.; WINTNER, E. Ultrashort *laser* pulses in Dentistry. **Review**, v.2, n. 4, p. 213-22, 2002.

STRICKLAND, P.; MOUROU, G. Compression of amplified chirped optical pulses. *Opt. Commun.*, n. 56, p. 219, 1985.

TAMURA, T.; FUKASE, Y.; GOKE, E.; YAMADA, Y.; SATO, S.; NISHIYAMA, M.; ITO, K. Three-dimensional evaluation for augmented bone using guided bone regeneration. *J. Periodont Res.*, n. 40, p. 269-76, 2005.

TEN CATE, A. R. *Histologia bucal*: desenvolvimento, estrutura e função. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. p. 95-112.

TODESCAN, C. D. R. *Aplicação de pulsos ultracurtos em esmalte dental bovino.* 2003. Dissertação (Mestrado Profissionalizante) – IPEN-FOUSP *Lasers* em Odontologia, São Paulo.

TREBINO, R.; KANE, D. J. Using phase retrieval to measure the intensity and phase of ultra short pulses, frequency resolved optical gating. *J. Opt. Soc. Am.*, n. 10, p. 1101-11, 1993.

1

100

VIEIRA Jr., N. D. Implementação de um sistema laser de terawatt e suas aplicações. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Projeto Temático T3. IPEN-CNEN/SP, Projeto FAPESP, 2000.

VIEIRA Jr., N. D. et al. *Lasers em ciências da vida*: desenvolvimento, pesquisa e uso clínico. Projeto Temático do IPEN para PRONEX, 1998.

WALSH, J. T.; FLOTTE, J. T.; ANDERSON, R. R.; DEUTSCH, T. F. Pulsed CO₂ *laser* tissue ablation. *Laser Surg. Med.*, n. 9, p. 327-37, 1988.

WHITE, J. M.; GOODIS, H. E.; HENNINGS, D.; HO, W.; HIPONA, C. T. Dentin ablation rate using Nd:YAG and Er:YAG *lasers.* J. Dent. Res., v. 1733, n. 73, p. 318, 1994.

ZHOU, J. P.; TAFT, G.; HUANG, C. P.; MURNANE, M. M.; KAPTYN, H. C. Pulse evolution in a broad-bandwidth Ti:sapphire *laser.* **Opt. Lett.**, v. 19, n.15, p. 1149, 1994.