U.PORTO

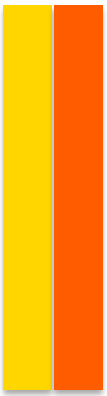
CICLO DE ESTUDOS
MESTRADO EM CIRURGIA ORAL

INCISÃO DE TECIDOS MOLES COM LASER DÍODO (980NM) CONTÍNUO E PULSADO; ESTUDO HISTOLÓGICO DE MODELO *EX-VIVO*

Autor

ANDRÉ ROXO XAVIER DE SÁ

2023



Índice

1 Índice de figuras……2

2 Índice de tabelas……3

3 Siglas, símbolos e abreviaturas ……4

4 Introdução ……5

3 Breve história do LASER ……7

4 LASER ……10

Estrutura do átomo ……10

Interação do Laser com os tecidos biológicos ……12

Biópsias orais e LASER ……14

5 LASER díodo ……16

6 Objetivo do estudo ……19

7 Materiais e métodos ……20

Materiais e métodos - Pesquisa bibliográfica ……20

Materiais e métodos - Estudo experimental ……21

8 Resultados ……37

9 Análise Estatística ……40

10 Discussão ……43

11 Conclusão ……45

12 Bibliografia ……47

13 Anexos ……51

Output SPSS ……51

Índice de Figuras

Figura 1 - Albert Einstein 7

Figura 2 - Charles H. Townes 7

Figura 3 - Theodore Maiman 8

Figura 4 - Joseph E. Geusic.....8

Figura 5 - Kumar Patel.....8

Figura 6 - Modelo de átomo 10

Figura 7 - Emissão em fase 11

Figura 8 - Estrutura básica de um LASER.....11

Figura 9 - Interação do LASER com os tecidos biológicos 12

Figura 10 - Penetração tecidular com diferentes λ de LASER 13

Figura 11 - - Características da absorção do feixe de LASER pelos principais componentes dos tecidos.....13

Figura 12 - - Emissão em modo contínuo (CW) e pulsado (PW) 16

Figura 13 - Coeficiente de absorção dos cromóforos tecidulares em relação ao λ do LASER.....17

Figura 14 - Anatomia da face de suíno em dissecação superficial 21

Figura 15 - LASER díodo Lasotronix Smart M PRO®.....22

Figura 16 - Características técnicas do LASER díodo Lasotronix Smart M PRO® 23

Figura 17 - Placa em acrílico utilizada nas incisões.....23

Figura 18 - Placa em acrílico utilizada nas incisões.....24

Figura 19 - Placa em acrílico utilizada nas incisões.....24

Figura 20 - Placa de acrílico posicionada corretamente antes das incisões com LASER díodo (980nm).....24

Figura 21 - Paquímetro digital Fixpoint 77001®.....25

Figura 22 - Óculos de proteção para LASER Díodo.....25

Figura 23 - Imagem das peças de lábio após a incisão com LASER díodo 980nm.....26

Figura 24 - Formol a 10% tamponado utilizado no estudo, e frascos para colocação das amostras.....27

Figura 25 - Formol a 10% tamponado utilizado no estudo, e frascos para colocação das amostras 27

Figura 26 - Micrótomo Leica RM 2155®, Leica®, Portugal 31

Figura 27 - Banho Maria (FALC®; Itália) 32

Figura 28 - Placa aquecimento (OTS 403040®).....32

Figura 29 - Micrótomo Leica RM 2155®, Leica®, Portugal ……**34**

Figura 30 - Corte com o respetivo esquema de medição ……**35**

Figura 31 - Incisão de controle efetuada com bisturi de lâmina fria……**37**

Figura 32 - Exemplos de incisões das amostras I, II, III, IV……**37**

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Orientação sobre execução de biópsia incisional vs biópsia excisional……**14**

Tabela 2 - Parâmetros do LASER díodo usados em cada peça, e sua relação com as marcas na placa de acrílico**….25**

Tabela 3 - Tabela de medição em µm de tecido carbonizado. Lâminas I CW 10W; II PW 5W; III PW 10W; IV……**36**

Tabela 4 - Tempo que demorou cada incisão em minutos nas diferentes posições da placa de acrílico, e respetiva energia em J transmitida ao tecido……**38**

Siglas, símbolos e abreviaturas

Nd:YAG-Neodímio: Ítrio, Alumínio e Granada

nm- Nanómetros

E- Energia

CD- Disco Compacto

DVD- Disco Digital Versátil

λ- Comprimento de onda

˚- Grau

®- Marca registada

µm- Micrómetro

CW- Emissão em modo contínuo

PW- Emissão em modo pulsado

W- Watt

J- Joule

ms- Milissegundos

mm- Milímetros

˚C- Graus Celsius

X- Vezes

VS- Versus

$\bar{X}$- Média

LASER- *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*

Introdução

A utilização do LASER em Medicina iniciou-se um ano apenas após a sua invenção por Theodore Maiman em 1960.[1]

Em 1961 o Dr. Charles J. Campbell usou um LASER de rubi, com sucesso, na remoção de um tumor na retina. Em 1963 o Dr. Leon Goldman usou um LASER de rubi no tratamento de pigmentação cutânea. [2]

Em 1970, o aparecimento da fibra ótica, permitiu utilizar o LASER de forma mais à distância e com a possibilidade de atingir áreas endocavitárias. A dimensão reduzida e a maleabilidade da fibra ótica, possibilitou inserir o LASER no canal do endoscópio, passando este a poder ser usado em gastrenterologia no tratamento de hemorragias gastrointestinais, e mais tarde em 1976 em urologia. [3]

Em 1981 foi fundada a *American Society for Laser Medicine and Surgery* e a *Société Francophone des Lasers Médicau*.

Atualmente o LASER usa-se em todas as áreas da Medicina Dentária, desde a estética à oclusão, sendo a área da cirurgia oral aquela em que é mais frequentemente utilizado. [4]

Diferentes tipos de LASER, como o díodo, Nd:YAG e CO2, têm sido utilizados na cavidade oral no tratamento de lesões pré-malignas, neoplasias benignas, processos proliferativos, alterações linfohemangiomatosas e em alguns casos de neoplasias malignas. [5] [6] [7]

Os LASER também podem ser utilizados, entre outros, no tratamento de úlceras, herpes, sensibilidade dentária e parestesias; provocando ação analgésica, anti-inflamatória e biomodeladora. [8] [9]

Ao falarmos em cirurgia oral de tecidos moles com recurso a LASER, surge imediatamente a comparação com o bisturi convencional de lâmina fria. [10] [11]

Comparativamente à lâmina de bisturi convencional, a utilização do LASER permite um corte com ausência total ou um mínimo de sangramento, através da ação térmica que provoca no colagénio das paredes vasculares e da sua ação direta sobre a hemoglobina, permitindo uma muito melhor visibilidade do campo operatório durante o procedimento. A hemostase provocada pelo LASER, vai reduzir o edema, a inflamação e a dor pós-operatória, comparativamente ao bisturi convencional. [12] [13] Adicionalmente, o LASER promove a assepsia no local da sua ação e reduz ou elimina a necessidade de sutura. [14]

Por outro lado, durante a interação do LASER com os tecidos, há absorção de energia por parte destes (efeito fototérmico). [15] Este efeito, quando pretendemos executar uma incisão, leva à vaporização e carbonização do tecido intervencionado. [16] Dependendo das configurações utilizadas (potência, modo de emissão e duração da ação), os efeitos sobre os bordos da incisão podem variar em profundidade e alterar as características celulares. Estas potenciais alterações

tecidulares influenciam a abordagem cirúrgica e margens de segurança quando pretendemos executar uma biópsia, por exemplo, e influenciam o potencial de cicatrização dos tecidos moles da cavidade oral. [17]

São estas alterações térmicas, provocadas pelo uso de LASER díodo (980nm) nas incisões em tecidos moles da cavidade oral, que este estudo *ex-vivo* pretende avaliar *in vitro*; comparando com microscópio ótico se as alterações térmicas provocadas após incisão com LASER díodo (980nm), serão diferentes para diferentes potências e modos de corte (contínuo e pulsado).

Breve história do LASER

Em 1917, Albert Einstein (1879-1955) foi o primeiro a descrever a possibilidade de poder ser criado um LASER. Baseado na teoria quântica, Einstein descreveu que um fotão poderia estimular a emissão de fotões idênticos através de átomos excitados. Foi esta observação de Einstein a base do conceito de emissão estimulada, que mais tarde nos anos 1960 iria servir como base para a criação do LASER. [18]

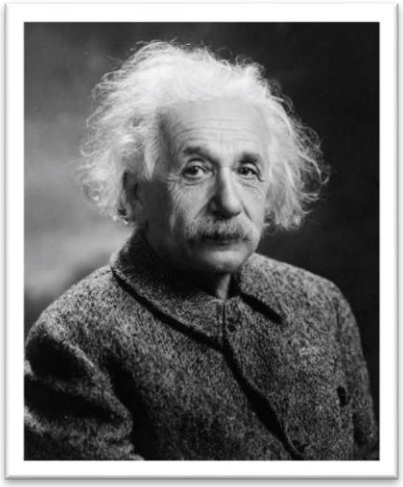


Figura 1- Albert Einstein. [19]

Em 1951 Charles Hard Townes (1915-2015) sugere que a emissão estimulada na frequência de micro-ondas, poderia oscilar dentro de uma cavidade ressonante, produzindo depois uma saída coerente. [2]

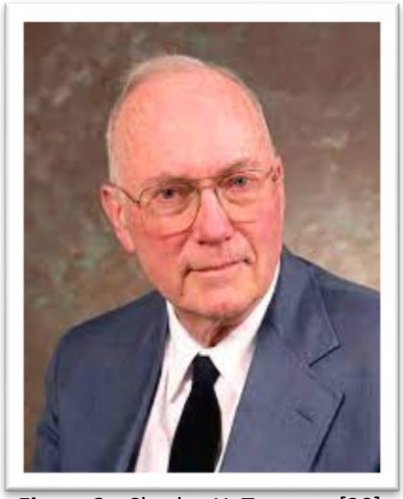


Figura 2 - Charles H. Townes. [20]

Em 1960 Theodore Maiman (1927-2007) apresenta o LASER de rubí construído nos laboratórios Hughes Research Califórnia. [2]

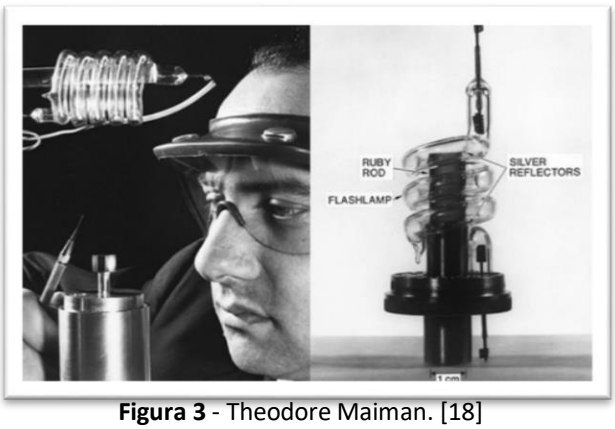


Figura 3 - Theodore Maiman. [18]

Em 1961 Joseph E. Geusic (1931-2014) inventou um LASER gerado a partir de cristais de ítrio-alumínio tratados com neodímio; Laser Nd:YAG. [2]



Figura 4 - Joseph E. Geusic.[21]

Em 1964 Kumar Patel desenvolve o LASER de CO2 nos Laboratórios Bell. [2]

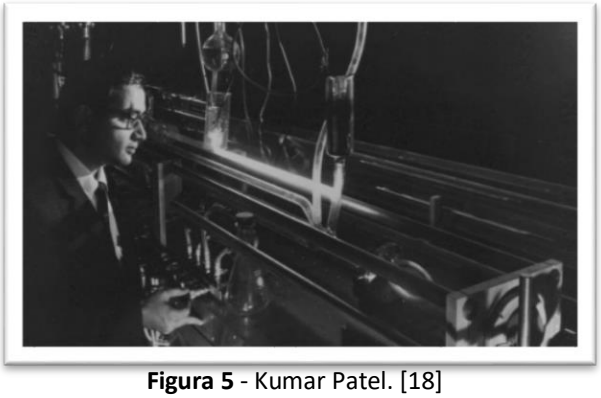


Figura 5 - Kumar Patel. [18]

Em 1985 foi publicado o primeiro documento onde se fala de um LASER ótico modificado para aplicação em cirurgia periodontal por Meyers et al. [22]

Laser

Os átomos são formados por protões, neutrões e eletrões, sendo que os eletrões ficam localizados na eletrosfera ao redor do núcleo.

Estrutura do Átomo

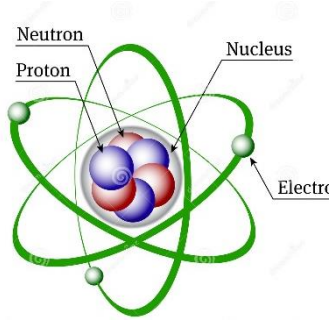


Figura 6 - Modelo de átomo [23].

Cada eletrão ocupa um nível de energia específico na eletrosfera. Quando, no estado fundamental, a energia do eletrão é igual a zero (E_0), se o átomo receber energia de alguma fonte, isso fará com que ele passe para um nível de maior energia (E_x), chamado estado excitado. Porém, se perder energia, o eletrão tenderá a migrar para um nível de menor energia, emitindo fotões.

Existem três processos pelos quais um eletrão pode passar de um nível de energia para outro:

1. **Absorção**: quando um eletrão em seu estado fundamental de energia é submetido a uma radiação eletromagnética e absorve fotões, passando para um estado excitado.

2. **Emissão espontânea**: ocorre quando o átomo está no seu estado excitado de energia e não é submetido a nenhuma energia. Passado algum tempo, o eletrão passa para o estado fundamental espontaneamente, emitindo um fotão.

3. **Emissão estimulada**: ocorre quando o eletrão está num estado excitado e é submetido à radiação eletromagnética, ou seja, fotão. Um fotão de energia estimula o átomo ao passar para o estado fundamental emitindo outro fotão.

Laser é a sigla inglesa para ***L**ight **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation*, ou seja, amplificação de luz por emissão estimulada de radiação.

É um dispositivo que produz radiação eletromagnética com características muito especiais: ela é monocromática (possui comprimento de onda muito bem definido), coerente (todos os fotões que compõem o feixe emitido estão em "fase" (termo físico) e colimada (propaga-se como um feixe de ondas praticamente paralelas).

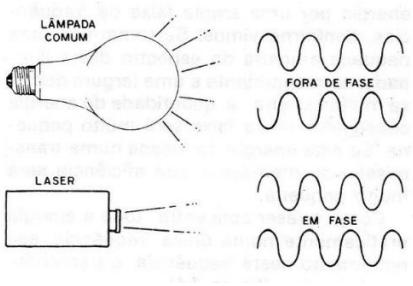


Figura 7 - Emissão em fase. [24]

O laser, quando recebe energia suficiente, excita uma quantidade de eletrões de um material para um nível de energia superior, até que haja mais eletrões excitados do que no estado fundamental.

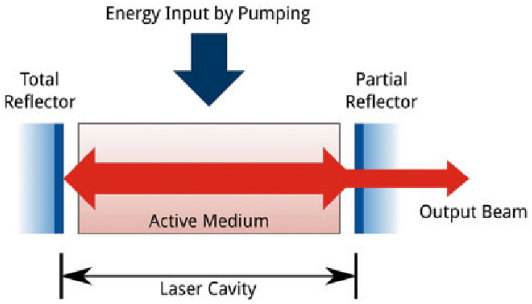


Figura 8 - Estrutura básica de um LASER.[25]

Quando isso ocorre, esses eletrões são estimulados a emitir seus fotões, iniciando assim um efeito em cascata: o fotão emitido estimula o seguinte a emitir outro fotão e assim sucessivamente. Isso vai amplificando a emissão de feixes de luz com comprimento de onda bem definido.

Atualmente, os lasers têm diversas aplicações. Os LASER são utilizados em pesquisas de fusão nuclear, na astronomia para medir grandes distâncias e também em aplicações militares. São também utilizados na leitura de código de barras, leitura de CDs e DVDs, em medicina, no corte de tecidos, entre outros.

Interação do Laser com os tecidos biológicos

Quando o feixe de um LASER atinge um tecido, pode ser refletido, transmitido, dispersado, ou absorvido. [26]

Ao incidir num tecido, parte do feixe de um LASER é refletido e direcionado para outras direções. Essa reflexão do feixe pode provocar danos em tecidos adjacentes aos que queremos atingir, e também limita a quantidade de energia do LASER que consegue penetrar no tecido que queremos atingir. [26]

A transmissão do feixe de LASER ocorre quando a energia do feixe se propaga dentro do tecido.

A dispersão do feixe de LASER acontece quando a sua energia passa de molécula em molécula dentro do tecido. É afetada pelo grau de absorção, sendo que uma maior absorção resulta em menor dispersão. A dispersão da energia do feixe de LASER no interior do tecido, faz também dissipar pelo tecido o efeito térmico do LASER.

A absorção do feixe de LASER pelo tecido ocorre após a sua dissipação, e é esta capacidade de absorção do tecido que permite sofrer os efeitos térmicos do LASER. [27]

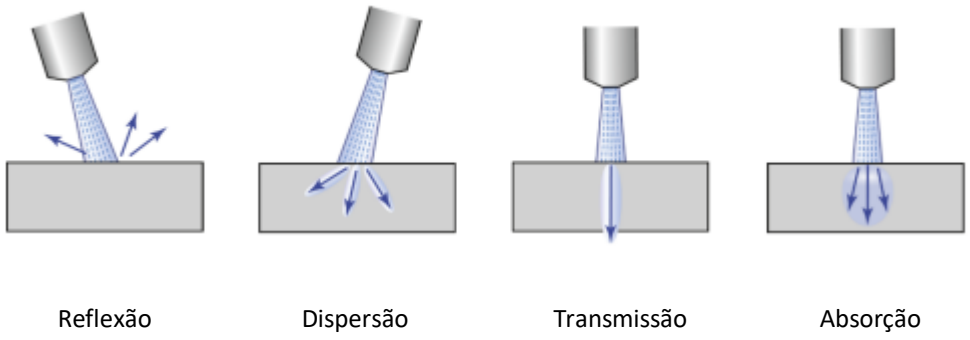


Figura 9 - Interação do LASER com os tecidos biológicos.[28]

A interação de um LASER com um tecido biológico, depende do tipo de LASER (comprimento de onda λ) e da composição do tecido com que o laser está a interagir.[28]

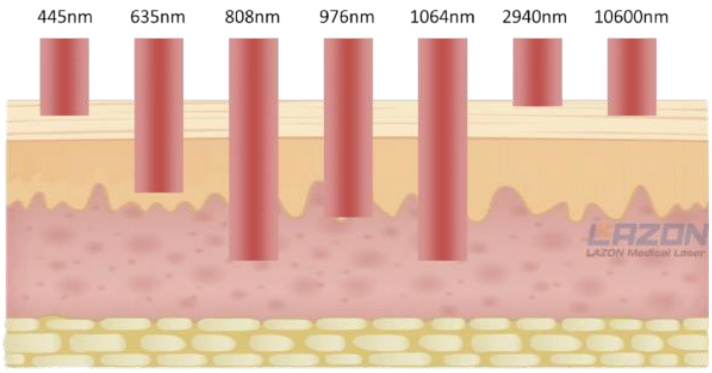


Figura 10 - Penetração tecidular com diferentes λ de LASER. [29]

Nos comprimentos de onda acima de 1200nm e abaixo dos 200nm a água é o elemento que melhor propaga a emissão do feixe de laser. Quanto mais rico em água for o tecido, melhor se propagará nele o feixe do laser que funcione entre os 200-12000nm.[26]

Por outro lado, se o tecido a intervir for o osso ou o dente, terá mais eficiência um laser com funcionamento entre os 2780-1060nm.[26]

A hemoglobina absorve melhor comprimentos de onda situados entre os 400-600nm.[26]

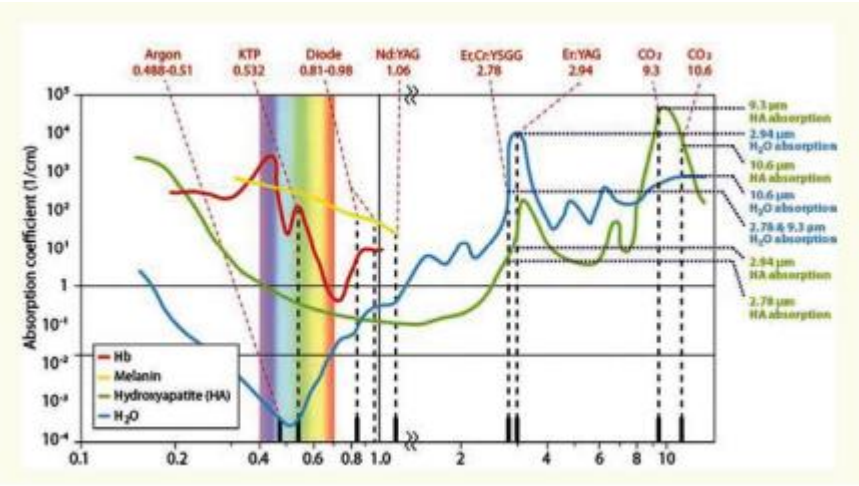


Figura 11 - Características da absorção do feixe de LASER pelos principais componentes dos tecidos. [4]

Biópsias orais e LASER

Biópsia consiste na remoção de tecido de um organismo vivo, para exame microscópico e diagnóstico. [30]

O motivo mais frequente para se realizar uma biópsia, é o de permitir um diagnóstico definitivo, sobre um tecido que se apresenta com alterações que poderão ser benignas, pré-malignas ou malignas.

Segundo as orientações da "American Academy of Oral and Maxillofacial Pathology", todo o tecido com alterações da região oral e maxilofacial deve ser removido e analisado por um anatomopatologista; sendo exceção um dente extraído com aspeto clínico normal, polpa dentária com aspeto clínico normal removida num tratamento endodôntico, tecidos clinicamente normais que possam surgir ou tecido em excesso resultante de procedimentos de enxerto. [31]

As biópsias orais efetuadas com recurso a bisturi, por punção, raspagem, LASER, bisturi elétrico e aspiração, são as mais frequentemente utilizadas na cavidade oral. [30] [32]

Numa biópsia de tipo incisional, vamos remover apenas parte da lesão juntamente com tecido saudável adjacente; enquanto que numa biópsia do tipo excisional, toda a lesão será removida.

A biópsia excisional deve ser efetuada apenas quando existe certeza quase absoluta, de que estamos perante uma lesão benigna. [32] [33]

Diagnóstico clínico	Tipo de biópsia
Úlcera crónica Carcinoma de células escamosas	Incisional de margem da úlcera
Leucoplasia Eritroplasia	Incisional ou punch da área com pior aspeto, sendo preferível retirar várias amostras
Líquen plano	Incisional numa área representativa
Lesões bulhosas	Incisional ou punch de uma zona não afetada próxima da bolha
Mucocelo	Excisional
Fibroma Granuloma piogénico Epúlide	Excisional
Tumor de glândula salivar minor	Palato- Incisional Lábio- Excisional

Tabela 1 - Orientação sobre execução de biópsia incisional vs biópsia excisional. [33]

O uso de bisturi convencional em biópsias orais, permite ao cirurgião obter uma amostra de tecido sem provocar alterações estruturais com as margens bem definidas. Esta abordagem mais "convencional" necessita sempre de anestesia local e sutura.

As biópsias com recurso a LASER necessitam de anestesia local, no entanto as margens da peça obtida, podem ser comprometidas pelos efeitos térmicos provocados nos tecidos pelo LASER, algo ultrapassável quando o cirurgião tem experiência com manuseamento do LASER. [30]

A utilização do LASER em biópsias orais vai exigir incisões com margem ligeiramente superior á necessária com bisturi de lâmina fria, devido a compensar a carbonização provocada pelo corte com LASER [13, 30, 34]; no entanto, o corte com LASER permite hemóstase adequada, uma excelente visualização do campo operatório, redução do trauma mecânico, redução da dor e edema pós-operatório, redução drástica de tecido cicatricial e redução do número de instrumentos necessários para efetuar a biópsia. [6, 35]

A biópsia com LASER não necessita de sutura, diminuindo o tempo operatório e o risco de infeção. A ação do LASER provoca desnaturação das proteínas do tecido e do plasma, o que resulta numa barreira superficial na ferida cirúrgica, proporcionando uma proteção adicional contra a fricção e bactérias. [35]

LASER díodo

Inventado por Robert Noel Hall (1919-2016) e por Nick Holonyak Jr. (1928-2022), o LASER de díodo é o LASER mais utilizado pela indústria atual.[36]

Este laser está na base da transmissão de dados nas fibras óticas, leitura de CDs, DVDs, ponteiros LASER, scanners, impressoras a LASER e leitores de disco blu-ray, mas também é amplamente utilizado na área da estética e na área médica.[36]

É um LASER de semicondutor com alumínio, gálio e arsénico, que funciona em uma sequência de 3 fazes principais:[36]

1- **Absorção de energia** o que provoca a excitação de eletrões.

2- **Emissão espontânea** onde os eletrões passam de um nível de energia elevado para um nível inferior, e a diferença energética desses níveis de energia é convertida em fotões ou energia eletromagnética.

3- **Emissão estimulada** onde há uma libertação dos fotões produzindo um feixe de luz monocromático.

Em Medicina Dentária, os LASER díodo utilizados têm um comprimento de onda entre os 800-980nm, perto do espetro dos raios infravermelhos [35]. Podem emitir o seu feixe em modo contínuo (CW) ou pulsado (PW).

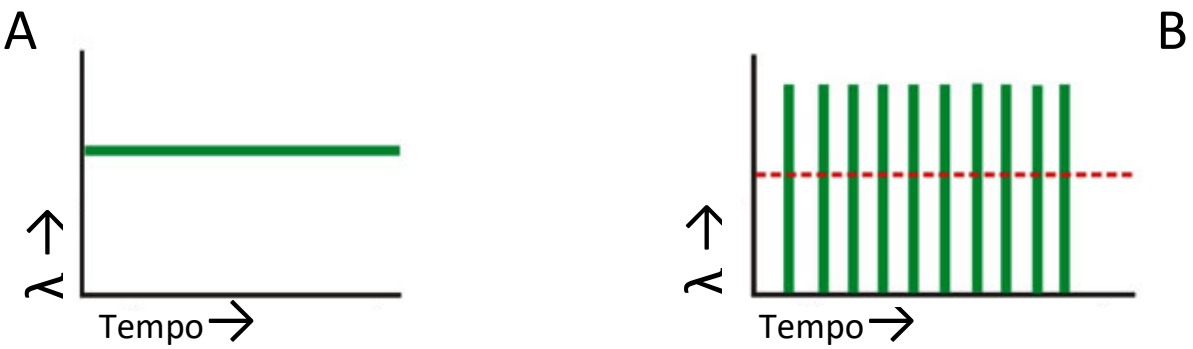


Figura 12 - Emissão em modo contínuo (CW) Fig. A, e pulsado (PW) Fig. B.[37]

O LASER díodo 800-980nm tem alta absorção por parte de tecidos com hemoglobina, melanina e colagénio; e pouca absorção pelos tecidos dentários duros e pelo osso [35] [38]. Essa característica pertite utilizar o LASER díodo (800-980nm) em tecidos moles da cavidade oral, sem lesar iatrogénicamente dentes ou osso.

Outra vantagem do LASER díodo (800-980nm) reside no facto de ser um aparelho compacto, fácil de transportar e operar, com custo relativamente baixo. [38]

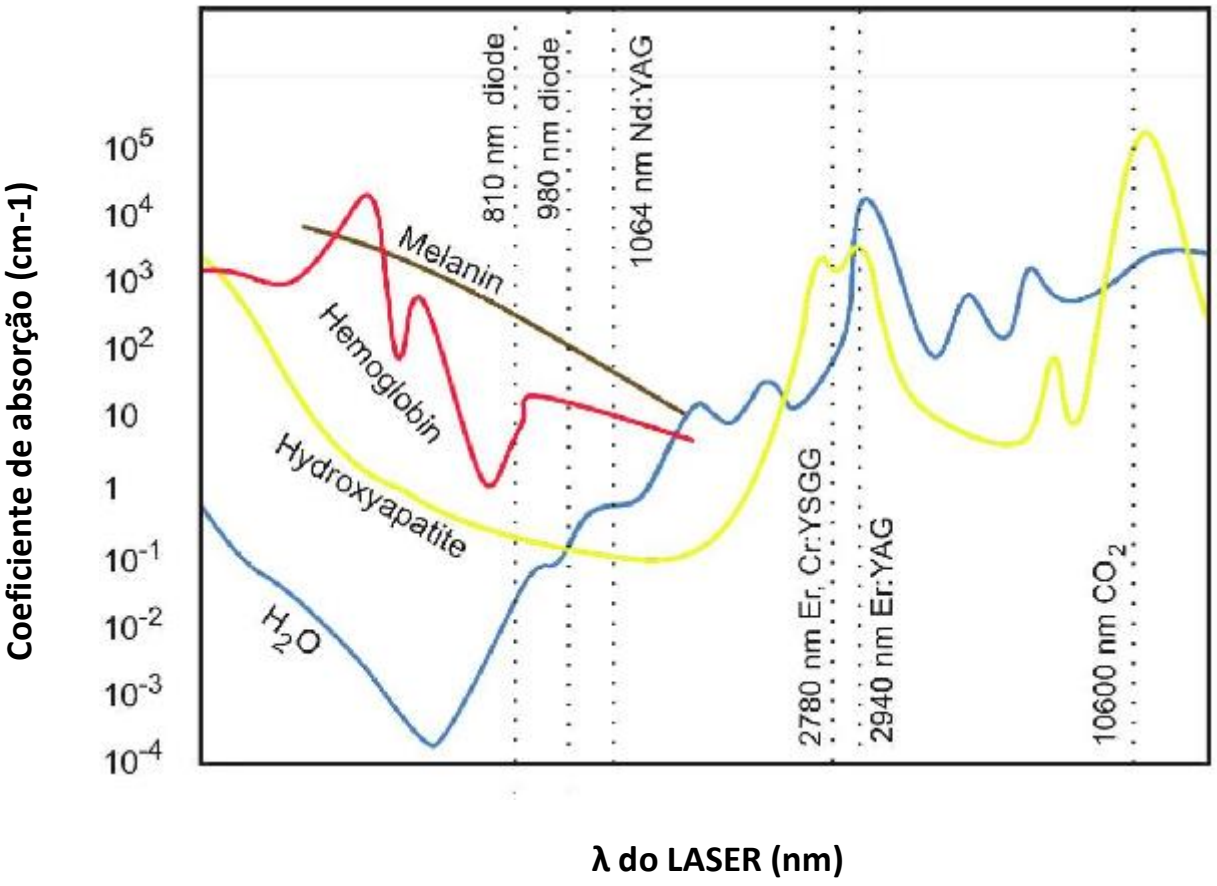


Figura 13 - Coeficiente de absorção dos cromóforos tecidulares em relação ao λ do LASER. [39]

São muitas as áreas da Medicina Dentária onde se pode utilizar o LASER de díodo; por exemplo: [40-45]

- **Cirurgia Oral**: Frenectomias; Olectomias; Biópsias
- **Periodontologia**: Gengivectomias; Periimplantites; Bolsas periodontais.
- **Estética Dentária**: Branqueamento; Remoção de pigmentos gengivais.
- **Endodontia:** Desinfeção de canais.
- **Medicina Oral:** Úlceras orais; Herpes labial, Leucoplasias.

Objetivo do estudo

Selecionar a parametrização do LASER díodo (980nm), que menor dano térmico causa ao realizar uma incisão em lábio de porco.

Materiais e métodos - Pesquisa bibliográfica

Para a realização deste estudo foi feita uma revisão da literatura tendo por base os conceitos da questão de partida e dos objetivos propostos. Para tal foram realizados dois tipos de pesquisas nas plataformas eletrónicas *PubMed*, *Sciello* e *Lilacs* uma que podemos designar de "primária" e uma "complementar".

Na pesquisa primária seguiram-se os seguintes critérios: todos os tipos de publicações, em língua portuguesa, inglesa ou espanhola, desde o ano de 2012 até 2022 inclusivé, com a última pesquisa realizada a 25 de Abril de 2022, utilizando-se os seguintes termos *MeSH* ou "termos descritores":

• *PubMed* - Dental LASER; Dental diode LASER; Dental diode LASER thermal effects; Dental diode LASER biopses; Dental diode LASER 980nm.

• *Scielo* - LASER oral; LASER dentário; LASER díodo.

• *Lilacs* - LASER (AND) díodo (AND) dental.

A pesquisa complementar, sem limites temporais, e com a última pesquisa também efetuada ano dia 25 de Abril de 2022, foi realizada na plataforma *Pubmed* com base na bibliografia de alguns artigos selecionados na pesquisa primária, e também sobre a história do LASER e do LASER aplicado à Medicina.

Dos artigos obtidos através das pesquisas eletrónicas, e após exclusão dos artigos duplicados, foram encontrados 185 artigos. Destes, 8 foram excluídos por abstract não disponível, 27 foram excluídos com base no título e 27 com base no resumo. Foram ainda incluídos 31 artigos com relevância para o tema, provenientes da análise das referências bibliográficas dos artigos obtidos e 2 livros na área do LASER. No final obtiveram-se 156 referências bibliográficas.

Materiais e métodos – Estudo experimental

Após a pesquisa bibliográfica ficou definido o modelo experimental aplicado neste estudo *ex-vivo*.

Obtiveram-se os lábios inferiores de 12 porcos *(Sus scrofa domesticus).*

Cada lábio inferior foi dividido em 2 partes iguais, através de corte sagital; tendo por isso sido utilizadas 24 peças de lábio.

Os lábios foram destacados da mandíbula juntamente com porção dos músculos depressor do lábio inferior, músculo cutâneo da face, músculo mentoniano e pele.

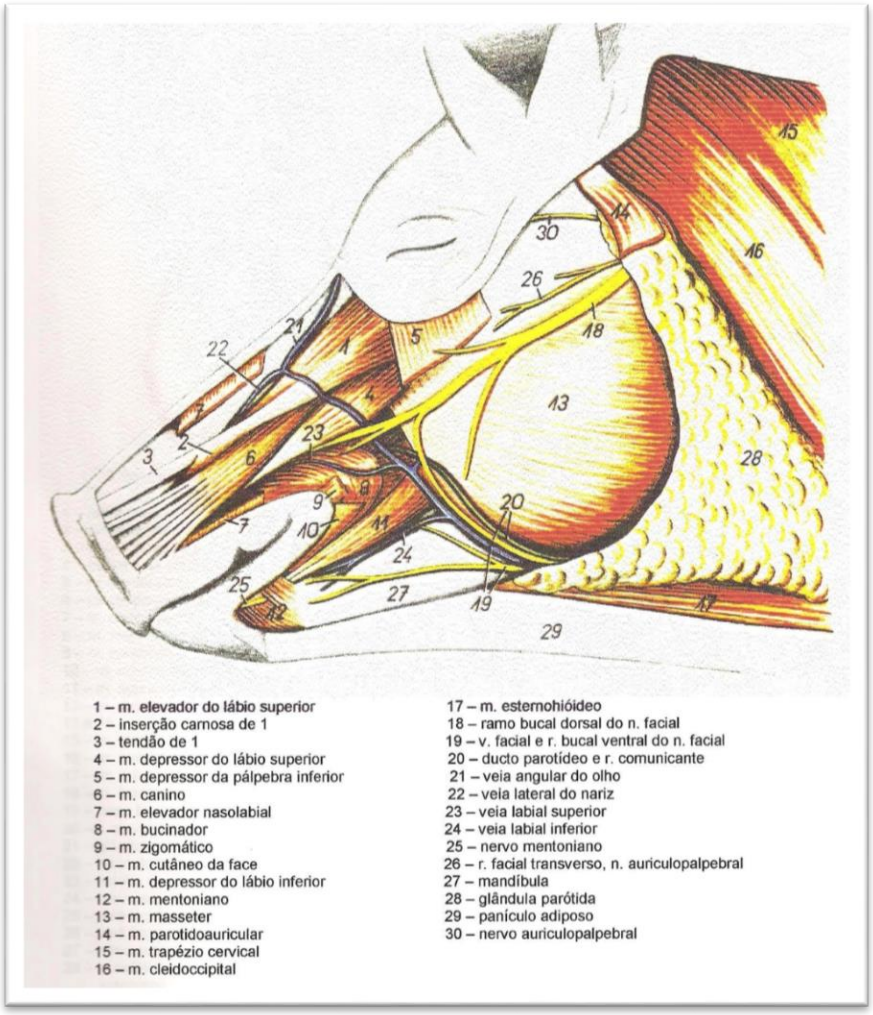


Figura 14 - Anatomia da face de suíno em dissecação superficial [46].

As amostras estiveram armazenadas e foram transportadas para o local do estudo em contentor refrigerado (2-4˚C) e com 100% de humidade, a fim de minimizar a degradação tecidular. [47]

Antes da incisão com o LASER, as amostras foram retiradas do contentor de refrigeração, para que se pudessem encontrar á temperatura ambiente.

Em cada peça, foram efetuadas 4 incisões lineares com LASER díodo, com comprimento de onda de 980nm fibra ótica de 320µm de diâmetro. 2 incisões em modo contínuo (CW) com potências de 5W (irradiância de 1562.5W/cm^2) e 10W (irradiância de 3125W/cm^2), e 2 incisões em modo pulsado (PW) com potências de 5W (fluência de 1562.5 J/cm^2) e 10W (fluência de 3125 J/cm^2) com pulso e pausa de 100ms e frequência de 5Hz.

O LASER díodo utilizado foi o Lasotronix Smart M PRO®, Polónia.



Figura 15 - LASER díodo Lasotronix Smart M PRO®.[48]

1	Model	Smart M Diode Laser
2	Laser type	Diode, Semiconductor
3	Wavelength	1940nm
4	MAX Power	6 Watts
5	Aiming Beam	635nm /1.4mW Max or 515nm/2.5mW Max
6	Operating Mode	Continuous or Modulated
7	Pulse Time	500ms-10ms
8	Beam delivery	Fiber Optic with SMA 905 Connector
9	Optical fiber	Core diameter 400pm up to 800pm, NA=0.22-0.48
10	Beam Emission Initiation	Footswitch
11	Controller	Microprocessor
12	Display	7" TFT with touch panel
13	Cooling System	Internal, air and thermoelectric cooling
14	Power Supply of the Laser	DC 24V/8.33A from the Separate AC adapter
15	Power Supply of AC Adapter	100-240 VAC: 50-60 Hz; 4.0A
16	Laser Dimensions	27cm × 24.5cm × 9cm
17	Laser weight	2.5kg
18	Weight of laser with cases	approx. 7.5 kg
19	Laser Safety Class	IV
20	Class of Medical Device	IIB
21	Electric Safety Class	I type B

Figura 16 - Características técnicas do LASER díodo Lasotronix Smart M PRO®[48].

O LASER foi devidamente calibrado conforme as indicações do fabricante, por técnico habilitado.

As incisões foram padronizadas através do emprego de uma placa em acrílico transparente, que ao ser colocada sobre o lábio de porco, serviu como guia para o corte com LASER.

As incisões ficaram com 1,5mm de distância entre elas e sempre colocando a ponta da fibra ótica perpendicularmente á peça de lábio de porco.

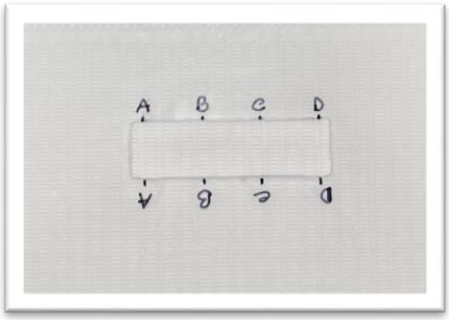
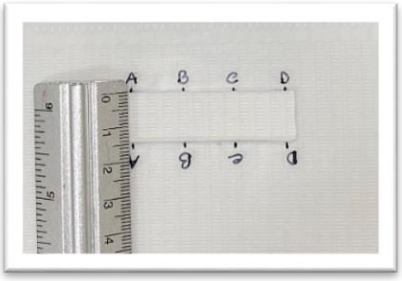
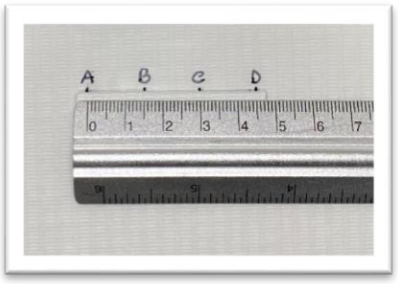


Figura 17 – Placa em acrílico utilizada nas incisões.





Figuras 18 e 19 - Placa em acrílico utilizada nas incisões.

A placa de acrílico foi colocada sempre na mesma localização em relação ao lábio, estando a marca **A** junto á comissura labial e a marca **D** junto à porção mais medial do lábio.

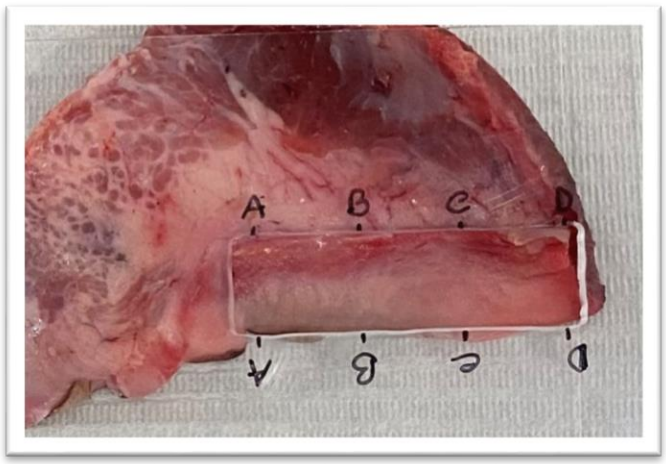


Figura 20 - Placa de acrílico posicionada corretamente antes das incisões com LASER díodo (980nm).

No primeiro lábio a incisão feita na marca **A** da placa de acrílico foi efetuada com modo CW a 10W, a incisão na marca **B** da placa de acrílico foi efetuada com CW a 5W, a incisão na marca **C** da placa de acrílico foi efetuada com PW a 5W e na marca **D** da placa de acrílico a incisão foi efetuada com PW a 10W.

Para não haver correlação entre o local da incisão e os parâmetros do LASER definidos, seguiu-se o esquema de rotação entre os parâmetros do LASER e a zona do lábio de porco onde foi efetuada a incisão:

		Marca na placa de acrílico			
		A	**B**	**C**	**D**
Peças anatómicas	1,5,9	CW 10W	CW 5W	PW 5W	PW 10W
	2,6,10	CW 5W	PW 5W	PW 10W	CW 10W
	3,7,11	PW 5W	PW 10W	CW 10W	CW 5W
	4,8,12	PW 10W	CW 10W	CW 5W	PW 5W

Tabela 2 – Parâmetros do LASER díodo usados em cada peça, e sua relação com as marcas na placa de acrílico.

As incisões efetuaram-se com 15mm de comprimento e 5mm de profundidade.

O comprimento ficou definido pela placa de acrílico e a profundidade pelo comprimento da ponta da fibra ótica do LASER, que foi ajustada para 5mm de comprimento com a medição por paquímetro digital e com a marcação de um "stop" de endodontia, antes de ser utilizada em cada peça anatómica. O mesmo paquímetro (Fixpoint 77001®) avaliou a profundidade das incisões.



Figura 21 - Paquímetro digital Fixpoint 77001®.

A ponta fibra ótica foi limpa antes de cada incisão e sempre que, apresentava visualmente sinais de presença de tecido aderido. Desprezou-se o desgaste da fibra na mesma incisão.

Durante todo o procedimento com o LASER a sala onde decorreu a experiência esteve fechada de maneira a não ser possível a entrada de terceiros, e todos os elementos presentes usaram proteção ocular certificada.



Figura 22 -Óculos de proteção para LASER Díodo

Imediatamente após as incisões com LASER, cada peça de lábio foi fotografada e seccionada de maneira a poder ser destacada cada uma das 4 incisões com uma margem de 7,5mm.

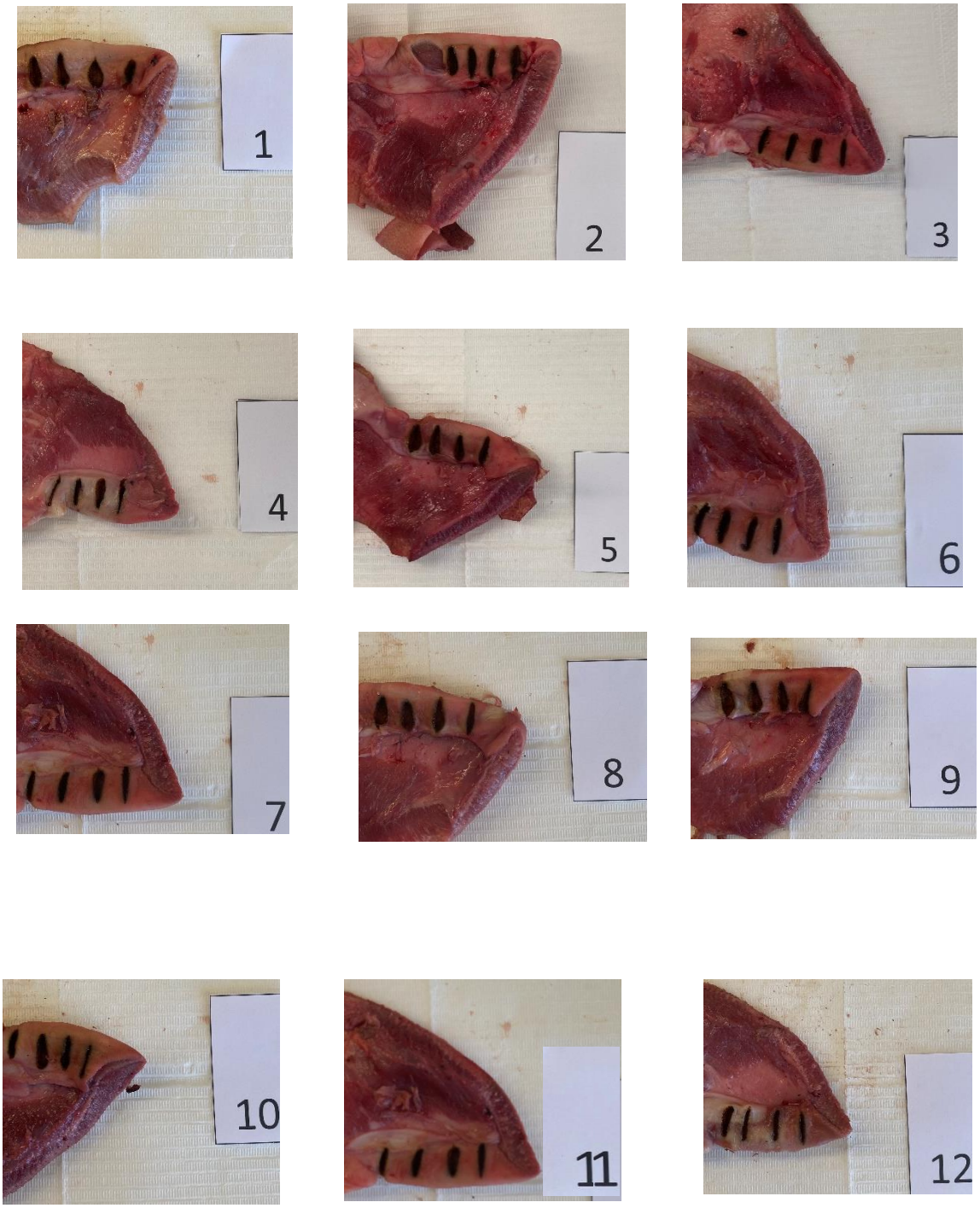


Figura 23 - Imagem das peças de lábio após a incisão com LASER díodo 980nm.

As peças foram colocadas em frasco com solução de formol a 10% tamponado (marca ANAPAT® Lote 1822T), previamente etiquetado.

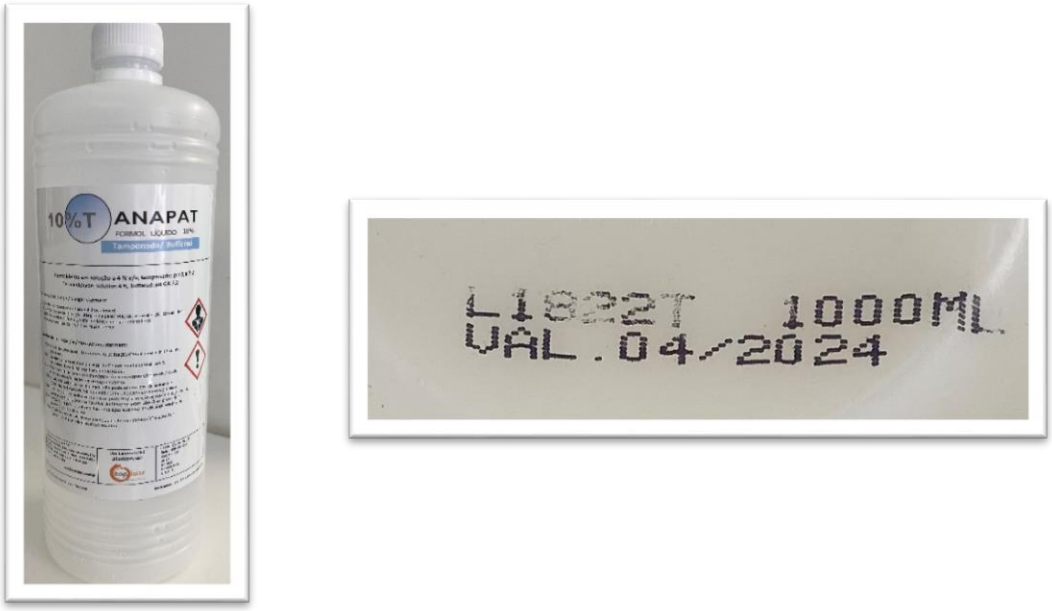


Figura 24- Formol a 10% tamponado utilizado no estudo, e frascos para colocação das amostras.

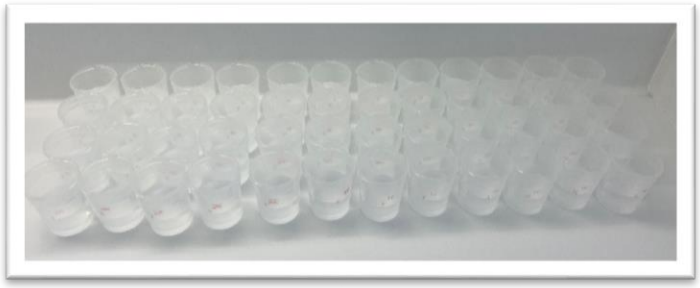


Figura 25 - Formol a 10% tamponado utilizado no estudo, e frascos para colocação das amostras.

Registaram-se os tempos de corte e a respetiva energia absorvida pelo tecido em cada incisão.

Obtiveram-se um total de 48 peças para análise histológica, que foram fotografadas antes de serem divididas por 48 frascos, determinados por sorteio através da aplicação móvel "Sorteio de números e nomes".

12 frascos com referência **I** (de **I**1 a **I**12), para CW 10W.

12 frascos com referência **II** (de **II**1 a **II**12) para PW 5W.

12 frascos com referência **III** (de **III**1 a **III**12) para PW 10W.

12 frascos com referência **IV** (de **IV**1 a **IV**12) para CW 5W;

As peças foram enviadas para o laboratório de histologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, onde foram incluídas em blocos de parafina.

Prepararam-se as lâminas, utilizando como metodologia a técnica calcificada.

Equipamento:

- Placa de Frio – TES 99410 Medite, Alemanha;
- Placa de Aquecimento – OTS 403040;
- Estufa - Trade Raypa – Drying Oven.
- Incubadora – Gallenkamp – Economy Incubator with fan, size 1. Garal, Maia, Portugal;
- Câmara de Fluxo Laminar – Pbinternacional Comfort.
- Hatt Super Chemo Work Station Pbinternacional;
- Banho-maria – FALC; Itália;
- Micrótomo – Leica RM 2155, Leica, Portugal;
- Dispensador de Parafina – TES 99200 Medite, Alemanha;
- Caixas para Arquivo de Lâminas – Kartell, Spa, Itália.

Consumíveis necessários:

- Formol a 10% neutralizado e estabilizado com metanol, Panreac, Espanha;
- Etanol absoluto – AGA, Portugal;
- Xilol – Xileno, mistura de isómeros, Panreac, Espanha;
- Meio para montagem – DPX, FLUKA, Alemanha;
- Parafina – Paraplast Regular, Sigma Aldrich, USA;
- Lâminas de vidro para microscópio – Menzel, Glaser de canto fosco 90º, Alemanha;
- Lamelas – Menzel, Glaser Ø22mm – Alemanha;
- Lâminas de microtomia – S35 Feather, Japão;
- Cassetes histológicas para inclusão – Kartell Spa, Itália;

Metodologia:

a) Fixação

Formol a 10% – Formaldeído solução 10% tamponado; Anapat; Portugal

b) Lavagem

A lavagem foi feita com água corrente ou com uma solução tampão usada como veículo do fixador, como por exemplo cacodilato de sódio ou fosfato.

O tempo necessário para uma boa lavagem depende do tamanho e da espessura da amostra, podendo variar entre 15 minutos e 30 minutos.

c) Desidratação

Protocolo de desidratação:

- Submete-se o material biológico a séries ascendentes de álcool por um período mínimo de 48 horas em cada passo

1º Passo - Álcool a 60%

2º Passo - Álcool a 80%

3º Passo - Álcool a 90%

4º Passo - Álcool a 96%

5º Passo - Álcool a 100%

d) Diafanização

Feita de forma direta com Xilol a 100% e agitação mecânica continua por um período que poderá variar entre as 24 e as 48 horas, com mudas entre os respetivos tempos.

e) Impregnação

Neste procedimento há a impregnação das amostras no meio de inclusão (parafina) de maneira a permitir a obtenção de cortes finos (por microtomia).

A impregnação é feita com a parafina em estado líquido. Consegue-se colocando a parafina numa estufa a uma temperatura variável entre os 56ºC e os 58ºC (temperatura ideal), por um período que pode variar entre as 24 e as 48 horas.

f) Inclusão

Um procedimento básico de inclusão deve conter os seguintes passos:

1º Passo – Colocar a amostra num molde ou barra de Leuckart;

2º Passo – Preencher o molde ou barra com parafina líquida (fundida);

3º Passo – Esperar que a parafina solidifique;

4º Passo – Retirar a barra do molde obtendo-se, desse modo, o bloco com a amostra.

5º Passo – Aquece-se a parafina até esta ficar em estado líquido ou utilizamos um dispensador de parafina (TES 99200 Medite, Alemanha, representada por Reagente 5 Química e Eletrónica Lda.). Verte-se um pouco de parafina líquida a preencher o fundo da forma metálica comercial e coloca-se o material biológico, com o auxílio de uma pinça, no fundo da mesma, orientado paralelamente aos lados da forma. De seguida, preenche-se a totalidade da forma com parafina líquida;

Coloca-se a cassete plástica comercial à superfície da forma de modo a que quando se solidifica a parafina esta mantem-se colada à superfície do bloco de parafina que contem a amostra.

Leva-se ao frio (frigorífico) ou placa de frio (TES 99410 Medite, Alemanha;) até solidificar e desenforma-se. Com o auxílio de um bisturi procede-se aos retoques finais do bloco de parafina.

g) Microtomia

A obtenção de cortes é feita em aparelhos específicos, micrótomos que nos permitem obter cortes para observação em microscópio ótico. Os micrótomos permitem obter cortes finos entre 5 a 20 μm. Executaram-se cortes na ordem dos 5 μm.

O micrótomo da (fig.13) é constituído por uma manivela que possibilita o avanço ou o recuo do braço que suporta a cassete com a amostra, verificando-se movimentos verticais e avanços constantes, obrigando a amostra a passar por uma navalha de aço que executa os cortes. Origina-se assim uma sequência de cortes (ténia) que serão depois observados em microscópio ótico.



Figura 26 - Micrótomo Leica RM 2155®, Leica®, Portugal

Protocolo de Microtomia:

Desbastou-se o bloco de parafina contendo a amostra até se verificar o aparecimento desta à superfície do bloco. A partir daqui fazem-se cortes consecutivos com 5 a 10 cortes (sequência da ténia) e dispõem-se num tabuleiro contendo uma solução de álcool a 30%, segundo uma determinada ordem. Repete-se este passo até terminarmos toda a mostra. Ficando assim dispostas várias sequências de várias ténias no tabuleiro com uma espessura de aproximadamente 5 μm. Sem perder a orientação das mesmas vamos separando as amostras uma a uma e colocamo-las em banho-maria (FALC; Itália), segundo uma determinada orientação. Passamos de seguida a amostra para as lâminas. Repete-se o processo até á recolha final da última amostra referente ao último corte.

As lâminas são colocadas numa placa aquecimento (OTS 403040) com a finalidade de permitir uma boa adesão das amostras às lâminas (previamente embebidas em cola).

São colocadas em estufa a 40ºC até se proceder á sua coloração. Deve-se respeitar um período mínimo em estufa de pelo menos 24 horas.



Figura 27 - Banho Maria (FALC®; Itália)



Figura 28 - Placa aquecimento (OTS 403040®)

h) Coloração

A coloração em microscopia ótica é feita com substâncias químicas designadas por corantes. A maioria dos corantes citológicos são soluções de substâncias orgânicas aromáticas, que podem ser naturais de origem animal (carmim), naturais de origem vegetal (hematoxilina) ou artificiais (fucsina ácida).

i) Coloração com hematoxilina – eosina

Desparafinar (em certos casos pode ser direto, à chama)

1º Passo - Xilol I – 10/15 minutos

2º Passo - Xilol II – 10 minutos

Inicia-se o processo de hidratação:

3º Passo - Álcool I a 100% - 10 minutos

4º Passo - Álcool II a 96% - 10 minutos

5º Passo - Álcool I a 70% - 10 minutos

6º Passo - Água destilada - Passagem

7º Passo - Água corrente – 10 minutos

8º Passo - Água destilada – passagem/escorrer bem

Termina a hidratação (aplica-se corante)

9º Passo - Hematoxilina – 20 minutos

10º Passo - Água destilada – Passagem 2 vezes

11º Passo - Água corrente – 10 minutos

12º Passo - Água destilada – passagem/escorrer bem

13º Passo - Eosina – 5 minutos

Inicia-se o processo de desidratação

14º Passo - Álcool a 96% - esguicho

15º Passo - Álcool a 96% - mergulhar por segundos

16º Passo - Álcool I a 96% - mergulhar

17º Passo - Álcool II a 100% - 1 minuto e escorrer

18º Passo - Álcool I a 100% - 2 minutos e escorrer

19º Passo - Xilol II – 5 minutos

20º Passo - Xilol limpo – 10 a 15 minutos

Colocação imediata do meio de montagem, (DPX, FLUKA). Vai à estufa a 40ºC por um período de 24 a 48 horas, podendo ser observadas em microscópio ótico, após este período de secagem.

De cada bloco de parafina selecionaram-se 3 cortes de 5 µm, 1 corte do 1/3 inicial, 1 do 1/3 médio e 1 do 1/3 final, os quais foram corados com solução de hematoxilina (partes basófilas) e eosina (partes acidófilas ou eosinófilas).



Figura 29 - Micrótomo Leica® RM 2155, Leica®, Portugal.

No total, obtiveram-se 147 preparações histológicas para avaliação, sendo destas 144 relativas ás incisões com LASER, e 3 de controlo com uma incisão efetuada por bisturi de lâmina fria número 15.

As preparações histológicas foram fotografadas com uma máquina fotográfica digital Nikon® DXm 1200C, e avaliadas com uma lupa Nikon® SMZ 1500.

Mediram-se, pelo mesmo operador experimentado, as extensões de tecido carbonizado pelo LASER de díodo nas preparações histológicas, utilizando o programa informático ImageJ®.

A ordem de medição das lâminas, foi determinada por sorteio, utilizando a aplicação móvel "Sorteio de números e nomes".

Cada corte foi medido em µm no seu 1/3 inicial, 1/3 médio e 1/3 final; estando os resultados obtidos registados na tabela 4.

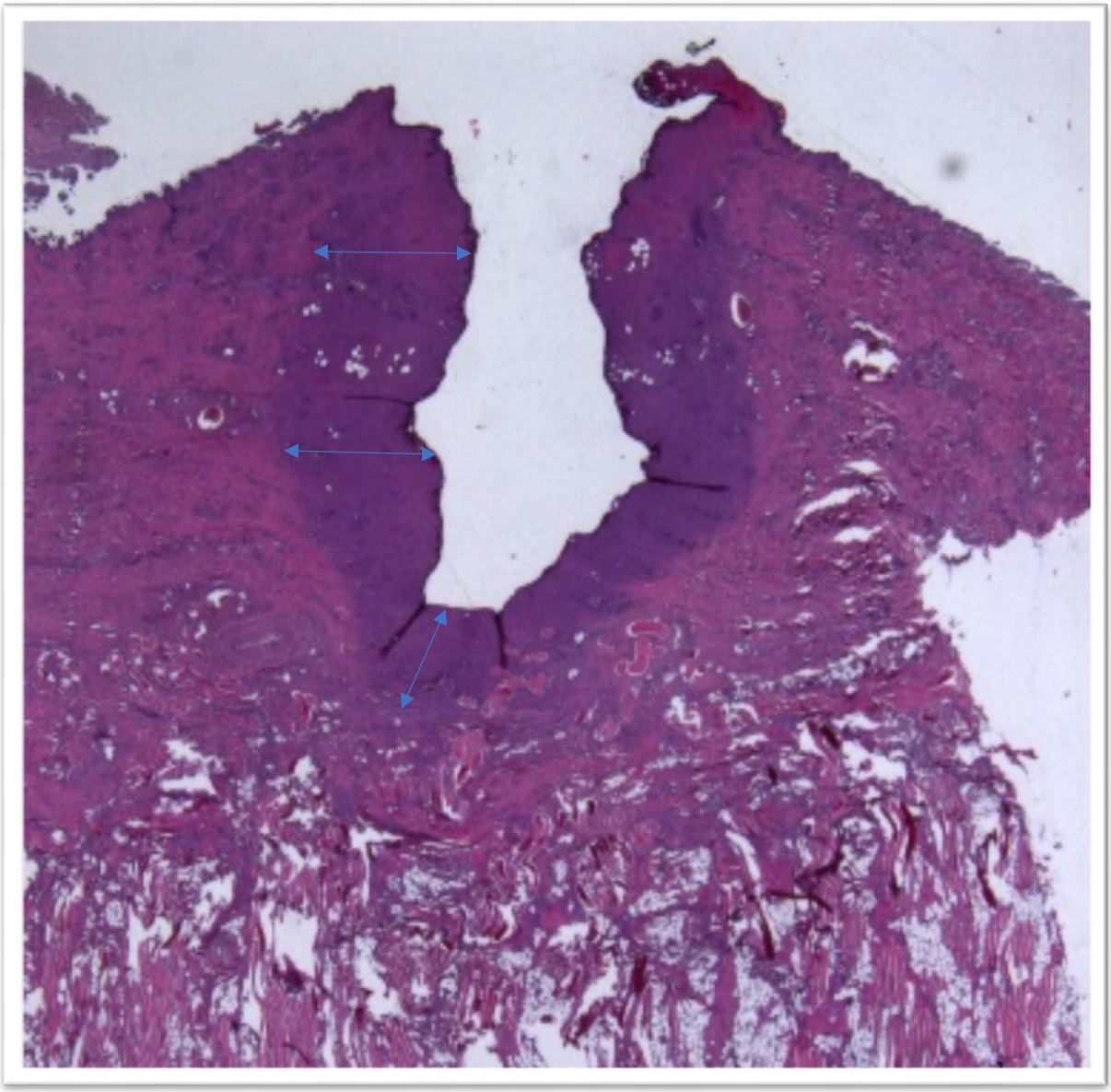


Figura 30 - Corte com o respetivo esquema de medição.

Resultados

Amostra	Carbonização 1/3 inicial (µm)	Carbonização 1/3 médio (µm)	Carbonização 1/3 final (µm)
I 1	1094	1187	1200
I 2	1982	2845	1850
I 3	1007	1524	1856
I 4	1502	1735	1752
I 5	2180	2000	2420
I 6	Excluída	1016	1752
I 7	1432	1749	1730
I 8	1430	2278	1626
I 9	1673	2380	2642
I 10	1446	2638	2715
I 11	1199	1346	2239
I 12	1525	1796	2162
II 1	812	1092	832
II 2	758	1460	1188
II 3	623	637	596
II 4	509	702	754
II 5	667	642	973
II 6	652	816	990
II 7	445	563	502
II 8	Excluída	608	713
II 9	570	684	578
II 10	608	598	481
II 11	370	560	800
II 12	575	696	518
III 1	852	1916	1585
III 2	985	1775	1467
III 3	643	1359	843
III 4	Excluída	1404	1425
III 5	Excluída	1530	1832
III 6	Excluída	1272	1003
III 7	1158	1098	1177
III 8	1049	947	1032
III 9	1261	1772	2156
III 10	Excluída	1630	1893
III 11	1141	1117	1165
III 12	855	1206	1363
IV 1	960	1117	1143
IV 2	671	1050	703
IV 3	922	1119	1311
IV 4	612	825	797
IV 5	1331	1415	1076
IV 6	913	1157	1495
IV 7	727	1211	1372
IV 8	1567	1807	1718
IV 9	Excluída	1644	1487
IV 10	557	1561	1110
IV 11	792	1734	1603
IV 12	1266	1697	1741

Tabela 3 - Tabela de medição em µm de tecido carbonizado. Lâminas I CW 10W; II PW 5W; III PW 10W; IV

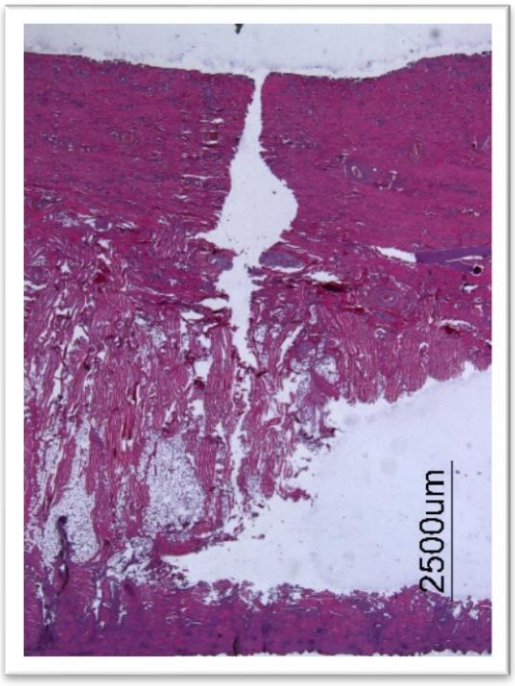


Figura 31 - Incisão de controle efetuada com bisturi de lâmina fria.

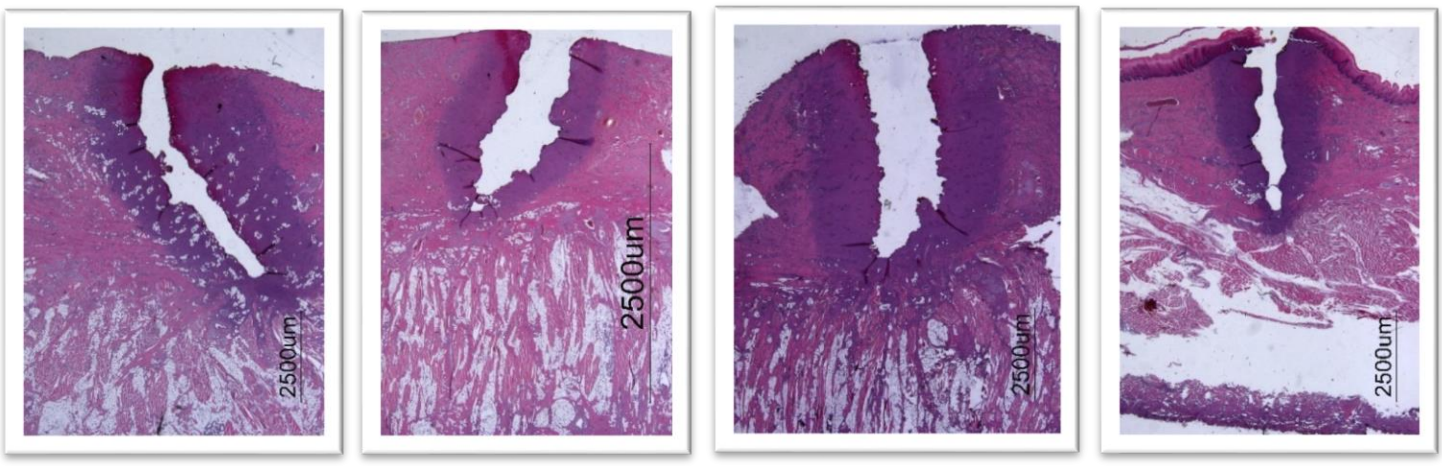


Figura 32 - Exemplos de incisões das amostras I, II, III, IV.

Peça	Tempo	Energia	Tempo	Energia	Tempo	Energia	Tempo	Energia
	A	A	B	B	C	C	D	D
1	0:42	420	0:59	295	2:03	307	1:14	420
2	1:28	440	2:24	360	1:17	385	1:05	650
3	1:43	257	0:55	275	0:36	360	0:52	260
4	0:49	245	0:42	420	0:52	260	1:31	227
5	0:55	260	1:07	335	1:53	290	1:13	365
6	1:18	390	2:14	335	0:56	280	0:38	380
7	1:22	205	1:03	315	0:41	410	0:58	290
8	1:15	325	0.52	520	1:13	365	2:02	305
9	0:57	570	1:04	320	1:57	292	1:14	370
10	1:01	305	1:40	250	1:11	355	0:35	350
11	1:17	192	1:04	320	0:53	530	1:01	305
12	0:50	250	0:32	320	0:58	290	1:50	275

Tabela 4 - Tempo que demorou cada incisão em minutos nas diferentes posições da placa de acrílico, e respetiva energia em J transmitida ao tecido.

Análise Estatística

A análise estatística envolveu medidas de estatística descritiva (médias e respetivos desvios-padrão) e estatística inferencial. Nesta, utilizou-se o teste t de Student para amostras independentes e a Anova One-Way. A normalidade de distribuição foi analisada com o teste de Shapiro-Wilk, e a homogeneidade de variâncias com o teste de Levene. O nível de significância para rejeitar a hipótese nula foi fixado em $\alpha \leq .05$.

A análise estatística foi efetuada com o software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 28.0 para Windows.

Quando comparamos os valores de carbonização obtidos pela utilização do modo contínuo e modo pulsado, encontramos as seguintes diferenças estatisticamente significativas:

Tabela 5 - Comparação modo contínuo VS modo pulsado

	Contínuo		Pulsado		
	M	DP	M	DP	Sig
Carbonização 1/3 inicial (µ)	1217,63	436,65	764,89	254,83	.001***
Carbonização 1/3 médio (µ)	1617,95	524,68	1086,83	440,44	.001***
Carbonização 1/3 final (µ)_3	1645,41	526,33	1077,75	465,13	.001***

M – Média DP – Desvio padrão * $p \leq .05$ ** $p \leq .01$ *** $p \leq .001$

Carbonização do 1/3 inicial: Os valores são significativamente mais elevados no modo de funcionamento contínuo (1217.63 vs 764.89), t(39) = 4.118, $p < .001$.

Carbonização do 1/3 médio: Os valores são significativamente mais elevados no modo de funcionamento contínuo (1617.95 vs 1086.83), t(46) = 3.798, $p < .001$.

Carbonização do 1/3 final: Os valores são significativamente mais elevados no modo de funcionamento contínuo (1645.41 vs 1077.75), t(46) = 3.959, $p < .001$.

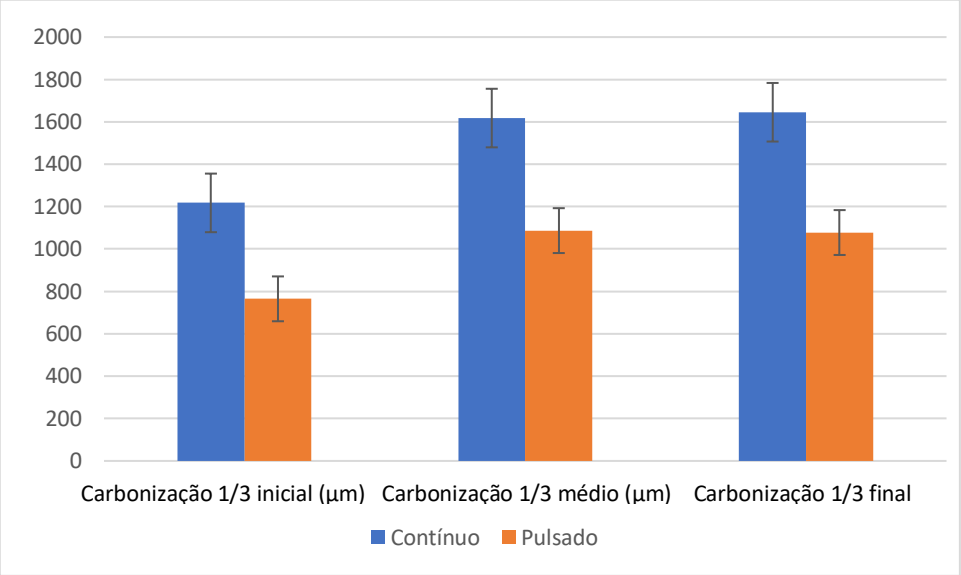


Gráfico 1- Comparação da extensão da carbonização

Quando comparamos os valores de carbonização entre o modo contínuo (5W e 10W) e o modo pulsado (5W e 10W), encontramos as seguintes diferenças estatisticamente significativas:

Tabela – Comparação modo contínuo VS pulsado

	CW 5W		CW 10W		PW 5W		PW 10W		
	M	DP	M	DP	M	DP	M	DP	Sig
Carb. 1/3 inicial	938,00	323,67	1497,27	351,59	599,00	128,22	993,00	201,98	.001***
Carb. 1/3 médio	1361,42	321,95	1874,50	573,04	754,83	265,17	1418,83	307,93	.001***
Carb. 1/3 final	1296,3	338,4	1994,5	446,0	743,8	223,7	1411,8	398,7	.001***

M – Média DP – Desvio padrão * $p \leq .05$ ** $p \leq .01$ *** $p \leq .001$

Carbonização do 1/3 inicial: Os valores são significativamente diferentes, F (3, 37) = 20.433, $p <$ .001. O teste de comparação posteriori, indica que as diferenças entre o modo de funcionamento CW 10W e os restantes são significativamente diferentes. As diferenças entre PW 5W e CW 5W e entre PW 5W e PW 10W, também são significativamente diferentes.

Carbonização do 1/3 médio: Os valores são significativamente diferentes, F (3, 23.951) = 18.777, $p <$ .001. O teste de comparação posteriori indica que as diferenças entre o modo PW 5W e os restantes modos testados, são significativamente diferentes. As diferenças entre o modo CW 10W e os restantes modos testados, também são significativamente diferentes.

Carbonização 1/3 final: Os valores são significativamente diferentes, F (3, 44) = 24.170, $p < .001$. O teste de comparação posteriori indica que as diferenças entre o modo PW 5W e os restantes modos testados, são significativamente diferentes. As diferenças entre o modo CW 10W e os restantes modos testados, também são significativamente diferentes.

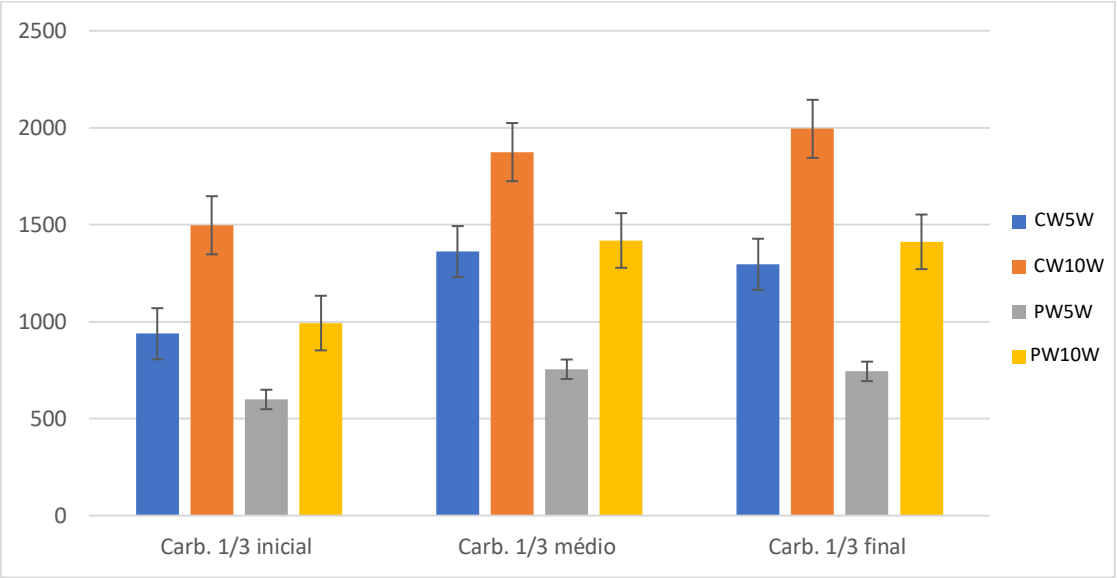


Gráfico 2- Comparação da extensão da carbonização em µm relativamente aos modos de corte testados

Discussão

Apesar de atualmente ser o bisturi de lâmina fria a escolha de eleição pela maioria dos Médicos Dentistas que necessitam de efetuar uma incisão na cavidade oral, é indiscutível que a opção do uso do LASER em cirurgia oral está cada vez mais a ser ponderada e utilizada por clínicos em todo o Mundo. [49]

O LASER possibilita-nos ter muito maior visibilidade do campo operatório devido á hemóstase quase instantânea que provoca, o que permite uma cirurgia mais precisa; melhor cicatrização, menor inflamação e dor pós-operatória; diminuição da infeção pós-operatória devido ao seu efeito bactericida e dispensa de sutura. [26, 30, 34, 49-52]

Tem como desvantagem a necessidade de algum treino prévio por parte do cirurgião, o facto de provocar sempre alguma carbonização tecidular e o alto custo de aquisição, o que se irá refletir no valor cobrado ao paciente, pois a cirurgia com uso de LASER será sempre mais cara relativamente á cirurgia tradicional.

Existem benefícios no uso do LASER em cirurgia oral, quer seja para o paciente, quer seja para o cirurgião. [12, 53-55]

O LASER díodo 980nm, é um aparelho desenhado para o uso em tecidos moles orais. [38]

É um tipo de LASER compacto, portátil e mais barato, comparativamente aos outros LASER que existem no mercado.

Funciona como um semicondutor que usa elementos no estado sólido como gálio, arsénio, alumínio e índio; para transformar energia elétrica em energia luminosa. [26, 30, 34, 49-52]

O LASER díodo (como os outros lasers usados em medicina) transmite energia às células causando aquecimento, fundição, coagulação, desnaturação das proteínas, secagem, vaporização e carbonização. [26, 30, 34, 49-52]

Para efetuar este estudo, foram usadas amostras de lábio inferior de porco, devido á semelhança histológica com a do ser humano no epitélio estratificado escamoso da mucosa da lâmina própria, na submucosa e na musculatura do lábio inferior. [47, 56]

As amostras foram coradas com solução de hematoxilina-eosina, que nos permitiu diferenciar as áreas de coagulação acidófila. [47, 56]

As lâminas I 6; II 8; III 4; III 5; III 6; III 10 e IV 9 foram excluídas por se encontrarem deterioradas.

A extensão do tecido carbonizado foi medida em μm utilizando um programa informático, que teve de ser calibrado entre cada imagem. Para se diminuir o erro, cada lâmina foi medida em 3 locais distintos (1/3 inicial médio e final) para depois ser avaliada a média aritmética dessas 3 medições.

A análise das lâminas, veio mostrar que a carbonização provocada durante a incisão com LASER díodo 980nm é significativamente menor quando o LASER é utilizado em modo de corte pulsado (PW), em comparação ao modo de corte contínuo (CW).

Esta mesma conclusão vai de acordo com os estudos realizados *in vitro* por K. Goharkhay et all e *in vivo* por Ralf Borchers et all. [47, 56] [57]

Também ficou demonstrado que, quer esteja a ser a ser utilizado em modo pulsado, quer em modo contínuo, a carbonização será tento menor quanto menor for a potência do LASER selecionada. [41]

A tabela 4 revela que, o modo de corte CW 10W demorou em média 47 segundos a realizar a incisão, tendo este modo transmitido uma média de 432 J por incisão; o modo de corte CW 5W demorou em média 58 segundos a realizar cada incisão, transmitindo em média 321 J de energia ao tecido. Relativamente aos modos de corte pulsado, o modo PW 10W demorou em média 65 segundos a efetuar cada incisão, tendo transmitido uma média de 325 J de energia e o modo PW 5W demorou em média 100,5 segundos a efetuar uma incisão, transmitindo em média 274,5 J de energia ao tecido.

Ao analisar os resultados, é possível colocar a hipótese de que esta menor carbonização provocada pelo uso do LASER em modo de funcionamento pulsado, poderá acontecer devido à possibilidade de relaxamento térmico dos tecidos entre cada pulso do LASER.

Todos os resultados foram comprovados estatisticamente.

Conclusão

Este estudo histológico de modelo *ex-vivo* conseguiu demonstrar que a carbonização provocada pela incisão do LASER díodo 980nm em lábio de porco; é maior quando o LASER é utilizado em modo de corte contínuo (CW); comparativamente á carbonização provocada pela utilização em modo de corte pulsado (PW).

Também se demonstrou que para os modos de funcionamento CW e PW, o uso de maior potência do LASER implica maiores alterações térmicas no lábio de porco.

Bibliografia

1. Michalik, M., et al., *Medical Applications of Diode Lasers: Pulsed versus Continuous Wave (cw) Regime.* Micromachines (Basel), 2021. **12**(6).
2. Gianfaldoni, S., et al., *An Overview of Laser in Dermatology: The Past, the Present and ... the Future (?).* Open Access Maced J Med Sci, 2017. **5**(4): p. 526-530.
3. Zarrabi, A. and A.J. Gross, *The evolution of lasers in urology.* Ther Adv Urol, 2011. **3**(2): p. 81-9.
4. and, Z.J.M.A.T. and M.S.I. Alhabeel, *Laser Dental Treatment Techniques.*
5. Amaral, M., et al., *Diode LASER surgery in the treatment of fibrous hyperplasia: a prospective case series study.* Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial, 2017. **58**(1).
6. Andreadis, D., et al., *Diode laser assisted excision of a gingival pyogenic granuloma: A case report.* Clin Pract, 2019. **9**(3): p. 1179.
7. Bombeccari, G.P., et al., *Diode laser surgery in the treatment of oral proliferative verrucous leukoplakia associated with HPV-16 infection.* Maxillofac Plast Reconstr Surg, 2018. **40**(1): p. 16.
8. Gojkov-Vukelic, M., et al., *Application of Diode Laser in the Treatment of Dentine Hypersensitivity.* Med Arch, 2016. **70**(6): p. 466-469.
9. García-Delaney, C., et al., *Evaluation of the effectiveness of the photobiomodulation in the treatment of dentin hypersensitivity after basic therapy. A randomized clinical trial.* J Clin Exp Dent. 2017;9(5):e694-702. , 2017.
10. Cayan, T., et al., *Comparative Evaluation of Diode Laser and Scalpel Surgery in the Treatment of Inflammatory Fibrous Hyperplasia: A Split-Mouth Study.* Photobiomodul Photomed Laser Surg, 2019. **37**(2): p. 91-98.
11. Elanchezhiyan, S., R. Renukadevi, and K. Vennila, *Comparison of diode laser-assisted surgery and conventional surgery in the management of hereditary ankyloglossia in siblings: a case report with scientific review.* Lasers Med Sci, 2013. **28**(1): p. 7-12.
12. Voynov, P.P., G.T. Tomov, and N.G. Mateva, *Minimal Invasive Approach for Lips Venous Lake Treatment by 980 nm Diode Laser with Emphasis on the Aesthetic Results. capital A, Cyrillic Clinical Series.* Folia Med (Plovdiv), 2016. **58**(2): p. 101-7.
13. Jin, J.Y., S.H. Lee, and H.J. Yoon, *A comparative study of wound healing following incision with a scalpel, diode laser or Er,Cr:YSGG laser in guinea pig oral mucosa: A histological and immunohistochemical analysis.* Acta Odontol Scand, 2010. **68**(4): p. 232-8.
14. Amaral, M.B., et al., *Diode laser surgery versus scalpel surgery in the treatment of fibrous hyperplasia: a randomized clinical trial.* Int J Oral Maxillofac Surg, 2015. **44**(11): p. 1383-9.
15. Romanos, G.E., et al., *Effect of Initiators on Thermal Changes in Soft Tissues Using a Diode Laser.* Photomed Laser Surg, 2018. **36**(7): p. 386-390.
16. Gutierrez-Corrales, A., et al., *Comparison of diode laser - Oral tissue interaction to different wavelengths. In vitro study of porcine periodontal pockets and oral mucosa.* Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2020. **25**(2): p. e224-e232.
17. Christopher J. Walinski; Keng-Liang Ou; Tracy M. Liang; Duane R. Schafer., *Guidelines for the Biopsy of Oral Mucosal Lesions Using a Laser;* Compendiumlive; "Disponível em: <https://cced.cdeworld.com/courses/5245-guidelines-for-the-biopsy-of-oral-mucosal-lesions-using-a-laser>
18. Hecht, J., *Short history of laser development.* Optical Engineering, 2010. **49**(9).
19. Einstein, A., in *https://brasilescola.uol.com.br/biografia/albert-einstein.htm*. p. Alber Einstein.
20. Townes., C.H., *Charles H. Townes.* https://www.greenville.k12.sc.us/Departments/main.asp?titleid=hoftownes.

21. Optica; "Disponível em: < https://www.optica.org/History/Biographies/bios/Joseph_E_Geusic>"
22. Coleton, S., *Lasers in surgical periodontics and oral medicine.* Dent Clin North Am, 2004. **48**(4): p. 937-62, vii.
23. structure, A., in *https://qsstudy.com/structure-nucleus-atom/*. https://qsstudy.com/structure-nucleus-atom/: https://qsstudy.com/structure-nucleus-atom/.
24. *Emissão em fase*, in *https://www.newtoncbraga.com.br/index.php/component/content/article/52-artigos-tecnicos/artigos-diversos/14036-interferometria-laser-e-ondas-gravitacionais-art3911*, E.e. fase, Editor.
25. Research Gate; "Disponível em: < 3 Basic structure of a laser system | Download Scientific Diagram (researchgate.net)>"
26. Parker, S., et al., *Current Concepts of Laser-Oral Tissue Interaction.* Dent J (Basel), 2020. **8**(3).
27. *<Laser-t thermal interactions.pdf>.*
28. Khamees, E.J., N.N. Jawad, and H.M. Azeez, *The Use of Lasers (Ablative Laser, Non-ablative Laser, Fractional Laser, Photobiomodulation (PBM)) in Skin Regeneration.* International Journal of Biological, Physical and Chemical Studies, 2022. **4**(1): p. 07-13.
29. Lazon *LASER-Tissue interaction*. 2022.
30. Christopher J. Walinski, D.K.-L.O., MS, PhD; Tracy M. Liang; and Duane R. Schafer, DDS, MS, *Guidelines for the Biopsy of Oral Mucosal Lesions Using a Laser.* 2020.
31. Pathology, A.A.o.O.a.M., *Policy on Excised Tissue.* https://aaomp.org/wp-content/uploads/2016/12/Policy_on_Excised_Tissue-Final-11-9-2013.pdf.
32. Shanti, R.M., T. Tanaka, and D.C. Stanton, *Oral Biopsy Techniques.* Dermatol Clin, 2020. **38**(4): p. 421-427.
33. Oliver, R.J., P. Sloan, and M.N. Pemberton, *Oral biopsies: methods and applications.* Br Dent J, 2004. **196**(6): p. 329-33; quiz 362.
34. Farista, S., et al., *Comparing Laser and Scalpel for Soft Tissue Crown Lengthening: A Clinical Study.* Glob J Health Sci, 2016. **8**(10): p. 55795.
35. Mathur, E., et al., *Diode Laser Excision of Oral Benign Lesions.* J Lasers Med Sci, 2015. **6**(3): p. 129-32.
36. Wikipedia (*Laser Diode*); "Disponivel em: < Laser diode - Wikipedia>
37. LVR Optical; 2014; "Disponível em: < LVR Optical - Laser and Optical Radiation consultants >
38. Derikvand, N., et al., *The Versatility of 980 nm Diode Laser in Dentistry: A Case Series.* J Lasers Med Sci, 2016. **7**(3): p. 205-208.
39. Pirnat, S., *Versatility of an 810 nm Diode Laser in Dentistry.* 2007.
40. George Romanos et al.; *Diode Laser (980 nm) in Oral and Maxillofacial Surgical* Procedures: *Clinical Observations Based on Clinical Applications*. Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery. 1999
41. Apollonia DESIATE 1, S.C., Domenica TULLO 1, Giovanni PROFETA 2, Felice Roberto and G.a.A.B. 1, *980 nm diode lasers in oral and facial practice: current state of the science and art.* International Journal of Medical Sciences, 2009.
42. Ahn, J.H., S. Power, and E. Thickett, *Application of the diode laser for soft-tissue surgery in orthodontics: Case series.* J Orthod, 2021. **48**(1): p. 82-87.
43. Aldelaimi, T.N. and A.A. Khalil, *Clinical Application of Diode Laser (980 nm) in Maxillofacial Surgical Procedures.* J Craniofac Surg, 2015. **26**(4): p. 1220-3.
44. Al-Maliky, M.A., *Clinical Investigation of 940 nm Diode Laser Power Bleaching: An In Vivo Study.* J Lasers Med Sci, 2019. **10**(1): p. 33-36.
45. Saydjari, Y., T. Kuypers, and N. Gutknecht, *Laser Application in Dentistry: Irradiation Effects of Nd:YAG 1064 nm and Diode 810 nm and 980 nm in Infected Root Canals-A Literature Overview.* Biomed Res Int, 2016. **2016**: p. 8421656.

46. Passei direto (*Anatomia Superficial da face de Suino);* Disponível em: https://www.passeidireto.com/arquivo/97540196/suino-musculos-face-superficial
47. Cercadillo-Ibarguren, I., et al., *Histologic evaluation of thermal damage produced on soft tissues by CO2, Er,Cr:YSGG and diode lasers.* Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2010. **15**(6): p. e912-8.
48. Lasotronix Smart M; Disponível em:
< https://lasotronix.com/en/produkty_ventor/smartmdentistry/>
49. Gholizadeh, N., et al., *Excision of Different Oral Benign Exophytic Lesions With a Diode Laser: A Clinical Case Series.* J Lasers Med Sci, 2020. **11**(4): p. 502-508.
50. Chinta, M., et al., *Successful management of recurrent mucocele by diode laser and thermoplasticised splint as an adjunctive therapy.* BMJ Case Rep, 2016. **2016**.
51. 1, E.A. and N.S. , *Diode Laser Application in Soft Tissue Oral Surgery.* Journal of Lasers in Medical Sciences Volume 4 Number 4 Autumn 2013, 2013.
52. M. MAVROGIANNIS, J.M.T.A.R.A.S., *Lasers in Periodontology.* J. PERIODONTOLOGY, 2004.
53. Martinez-Martinez, A., C. Molinares-Villa, and A. Diaz-Caballero, *Use of Diode Laser for Lip Repositioning, Evolution of the Conventional Technique. A Case Report.* Niger J Clin Pract, 2022. **25**(1): p. 110-113.
54. Kazakova, R.T., et al., *Histological Gingival Assessment after Conventional and Laser Gingivectomy.* Folia Med (Plovdiv), 2018. **60**(4): p. 610-616.
55. Uraz, A., et al., *Patient perceptions and clinical efficacy of labial frenectomies using diode laser versus conventional techniques.* J Stomatol Oral Maxillofac Surg, 2018. **119**(3): p. 182-186.
56. Palaia, G., et al., *Histological Ex Vivo Evaluation of the Suitability of a 976 nm Diode Laser in Oral Soft Tissue Biopsies.* Int J Dent, 2021. **2021**: p. 6658268.
57. Ralf Borchers et al., *Comparison of Diode Lasers in Soft Tissue Surgery using CW and* Superpulsed *Mode: An in vivo Study*; International Journal of Laser Dentistry, 2011

58. K. Goharkhay, et al., *Effects on Oral Soft Tissue Produced by a Diode Laser In Vitro*. Lasers in Surgery and Medicine 25:401–406. **1999**

Anexos

Output SPSS

```
GET
FILE='C:\TRABALHOS (2023)\André Sá\BD_AndreSa.sav'.
DATASET NAME DataSet1 WINDOW=FRONT.
T-TEST GROUPS=Amostra(1 2)
/MISSING=ANALYSIS
/VARIABLES=Inicial Médio Final
/ES DISPLAY(TRUE)
/CRITERIA=CI(.95).
```

T-Test

```
[DataSet1] C:\TRABALHOS (2023)\André Sá\BD_AndreSa.sav
```

Group Statistics

	Amostra	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Inicial	Continuo	22	1217,6364	436,65673	93,09553
	Pulsado	19	764,8947	254,83980	58,46426
Médio	Continuo	24	1617,9583	524,68678	107,10124
	Pulsado	24	1086,8333	440,44885	89,90624
Final	Continuo	24	1645,4167	526,33787	107,43827
	Pulsado	24	1077,7500	465,13871	94,94604

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means	
		F	Sig.	t	df
Inicial	Equal variances assumed	5,778	,021	3,969	39
	Equal variances notassumed			4,118	34,559
Médio	Equal variances assumed	,166	,686	3,798	46
	Equal variances notassumed			3,798	44,660
Final	Equal variances assumed	,113	,739	3,959	46
	Equal variances notassumed			3,959	45,315

Independent Samples Test

t-test for Equality of Means

		Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
Inicial	Equal variances assumed	,000	452,74163	114,06280
	Equal variances notassumed	,000	452,74163	109,93110
Médio	Equal variances assumed	,000	531,12500	139,83493
	Equal variances notassumed	,000	531,12500	139,83493
Final	Equal variances assumed	,000	567,66667	143,37968
	Equal variances notassumed	,000	567,66667	143,37968

Independent Samples Test

		t-test for Equality of Means	
		95% Confidence Interval of theDifference	
		Lower	Upper
Inicial	Equal variances assumed	222,02784	683,45541
	Equal variances notassumed	229,46786	676,01539
Médio	Equal variances assumed	249,65188	812,59812
	Equal variances notassumed	249,42373	812,82627
Final	Equal variances assumed	279,05834	856,27499
	Equal variances notassumed	278,94050	856,39283

Independent Samples Effect Sizes

			95% Confidence Interval		
		Standardizer[a]	Point Estimate	Lower	Upper
Inicial	Cohen's d	364,20024	1,243	,564	1,909
	Hedges' correction	371,39633	1,219	,553	1,872
Glass's delta		254,83980	1,777	,922	2,605
Médio	Cohen's d	484,40242	1,096	,483	1,700
	Hedges' correction	492,48330	1,078	,475	1,672
Glass's delta		440,44885	1,206	,533	1,860
Final	Cohen's d	496,68178	1,143	,526	1,749
	Hedges' correction	504,96751	1,124	,517	1,721
Glass's delta		465,13871	1,220	,545	1,876

[a]. The denominator used in estimating the effect sizes.

Cohen's d uses the pooled standard deviation.

Hedges' correction uses the pooled standard deviation, plus a correction factor.Glass's delta uses the sample standard deviation of the control group.

```
EXAMINE VARIABLES=Inicial Médio Final BY Amostra2
/PLOT BOXPLOT STEMLEAF NPPLOT
/COMPARE GROUPS
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/CINTERVAL 95
/MISSING LISTWISE
/NOTOTAL.
```

Explore

Amostra2

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Amostra2	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Inicial	C5	,200	11	,200*	,918	11	,306
	C10	,196	11	,200*	,938	11	,500
	P5	,138	11	,200*	,983	11	,982
	P10	,143	8	,200*	,963	8	,838
Médio	C5	,195	11	,200*	,929	11	,401
	C10	,162	11	,200*	,964	11	,825
	P5	,323	11	,002	,734	11	,001
	P10	,218	8	,200*	,888	8	,224
Final	C5	,106	11	,200*	,951	11	,652
	C10	,182	11	,200*	,959	11	,761
	P5	,194	11	,200*	,921	11	,325
	P10	,165	8	,200*	,935	8	,560

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

```
ONEWAY Inicial Médio Final BY Amostra2
/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY WELCH
/MISSING ANALYSIS
/CRITERIA=CILEVEL(0.95).
```

```
ONEWAY Inicial Médio Final BY Amostra2
/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY WELCH
/MISSING ANALYSIS
/CRITERIA=CILEVEL(0.95)
/POSTHOC=TUKEY GH ALPHA(0.05).
```

Oneway

Descriptives

						95% Confidence
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound
Inicial	C5	11	938,0000	323,66680	97,58921	720,5577
	C10	11	1497,2727	351,58586	106,00713	1261,0741
	P5	11	599,0000	128,22402	38,66100	512,8579
	P10	8	993,0000	201,98232	71,41153	824,1386
	Total	41	1007,8293	426,10960	66,54714	873,3325
Médio	C5	12	1361,4167	321,95100	92,93925	1156,8588
	C10	12	1874,5000	573,03887	165,42207	1510,4085
	P5	12	754,8333	265,17330	76,54894	586,3503
	P10	12	1418,8333	307,92969	88,89165	1223,1841
	Total	48	1352,3958	549,25147	79,27762	1192,9098
Final	C5	12	1296,333	338,3778	97,6812	1081,338
	C10	12	1994,500	445,9526	128,7354	1711,155
	P5	12	743,750	223,6682	64,5675	601,638
	P10	12	1411,750	398,6906	115,0921	1158,434
	Total	48	1361,583	568,9635	82,1228	1196,374

Descriptives

		95% Confidence ...		
		Upper Bound	Minimum	Maximum
Inicial	C5	1155,4423	557,00	1567,00
	C10	1733,4713	1007,00	2180,00
P5		685,1421	370,00	812,00
	P10	1161,8614	643,00	1261,00
	Total	1142,3261	370,00	2180,00
Médio	C5	1565,9746	825,00	1807,00
	C10	2238,5915	1016,00	2845,00
P5		923,3164	560,00	1460,00
	P10	1614,4825	947,00	1916,00
	Total	1511,8818	560,00	2845,00
Final	C5	1511,328	703,0	1741,0
	C10	2277,845	1200,0	2705,0
P5		885,862	481,0	1188,0
	P10	1665,066	843,0	2156,0
	Total	1526,793	481,0	2705,0

Tests of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Inicial	Based on Mean	2,147	3	37	,111
Based on Median		1,852	3	37	,155
Based on Median and withadjusted df		1,852	3	24,825	,164
	Based on trimmed mean	2,023	3	37	,128
Médio	Based on Mean	3,921	3	44	,014
Based on Median		3,263	3	44	,030
Based on Median and withadjusted df		3,263	3	28,979	,036
	Based on trimmed mean	4,022	3	44	,013
Final	Based on Mean	1,990	3	44	,129
Based on Median		1,263	3	44	,299
Based on Median and withadjusted df		1,263	3	32,800	,303
	Based on trimmed mean	1,999	3	44	,128

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Inicial	Between Groups	4529055,623	3	1509685,208	20,433	,000
Within Groups		2733720,182	37	73884,329		
Total		7262775,805	40			
Médio	Between Groups	7610028,229	3	2536676,076	16,991	,000
Within Groups		6568799,250	44	149290,892		
Total		14178827,479	47			
Final	Between Groups	9468909,500	3	3156303,167	24,170	,000
Within Groups		5745904,167	44	130588,731		
Total		15214813,667	47			

Robust Tests of Equality of Means

		Statistic[a]	df1	df2	Sig.
Inicial	Welch	24,611	3	18,283	,000
Médio	Welch	18,777	3	23,951	,000
Final	Welch	28,318	3	23,532	,000

a. Asymptotically F distributed.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent	Variable	(I) Amostra2	(J) Amostra2	Mean Difference (I-J)	Std. Error
Inicial	Tukey HSD	C5	C10	-559,27273*	115,90304
			P5	339,00000*	115,90304
			P10	-55,00000	126,30241
		C10	C5	559,27273*	115,90304
			P5	898,27273*	115,90304
			P10	504,27273*	126,30241
		P5	C5	-339,00000*	115,90304
			C10	-898,27273*	115,90304
			P10	-394,00000*	126,30241
		P10	C5	55,00000	126,30241
			C10	-504,27273*	126,30241
			P5	394,00000*	126,30241
	Games-Howell	C5	C10	-559,27273*	144,08735
			P5	339,00000*	104,96822
			P10	-55,00000	120,92668
		C10	C5	559,27273*	144,08735
			P5	898,27273*	112,83698
			P10	504,27273*	127,81674
		P5	C5	-339,00000*	104,96822
			C10	-898,27273*	112,83698
			P10	-394,00000*	81,20517

Multiple Comparisons

Dependent	Variable	(I) Amostra2	(J) Amostra2	Sig.	95% Confidence ... Lower Bound
Inicial	Tukey HSD	C5	C10	,000	-871,0237
			P5	,029	27,2490
			P10	,972	-394,7228
		C10	C5	,000	247,5217
			P5	,000	586,5217
			P10	,002	164,5500
		P5	C5	,029	-650,7510
			C10	,000	-1210,0237
			P10	,018	-733,7228
		P10	C5	,972	-284,7228
			C10	,002	-843,9955
			P5	,018	54,2772
	Games-Howell	C5	C10	,005	-962,8042
			P5	,029	31,1121
			P10	,968	-399,3251
		C10	C5	,005	155,7413
			P5	,000	565,6907
			P10	,006	139,4018
		P5	C5	,029	-646,8879
			C10	,000	-1230,8547
			P10	,002	-638,2433

Multiple Comparisons

Dependent	Variable	(I) Amostra2	(J) Amostra2	95% Confidence ... Upper Bound
Inicial	Tukey HSD	C5	C10	-247,5217
			P5	650,7510
			P10	284,7228
		C10	C5	871,0237
			P5	1210,0237
			P10	843,9955
		P5	C5	-27,2490
			C10	-586,5217
			P10	-54,2772
		P10	C5	394,7228
			C10	-164,5500
			P5	733,7228
	Games-Howell	C5	C10	-155,7413
			P5	646,8879
			P10	289,3251
		C10	C5	962,8042
			P5	1230,8547
			P10	869,1436
		P5	C5	-31,1121
			C10	-565,6907
			P10	-149,7567

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) Amostra2	(J) Amostra2	Mean Difference (I-J)	Std. Error
		P10	C5	55,00000	120,92668
			C10	-504,27273*	127,81674
			P5	394,00000*	81,20517
Médio	Tukey HSD	C5	C10	-513,08333*	157,73971
			P5	606,58333*	157,73971
			P10	-57,41667	157,73971
		C10	C5	513,08333*	157,73971
			P5	1119,66667*	157,73971
			P10	455,66667*	157,73971
		P5	C5	-606,58333*	157,73971
			C10	-1119,66667*	157,73971
			P10	-664,00000*	157,73971
		P10	C5	57,41667	157,73971
			C10	-455,66667*	157,73971
			P5	664,00000*	157,73971
	Games-Howell	C5	C10	-513,08333	189,74237
			P5	606,58333*	120,40533
			P10	-57,41667	128,60571
		C10	C5	513,08333	189,74237
			P5	1119,66667*	182,27507
			P10	455,66667	187,79294
		P5	C5	-606,58333*	120,40533
			C10	-1119,66667*	182,27507
			P10	-664,00000*	117,30927
		P10	C5	57,41667	128,60571
			C10	-455,66667	187,79294
			P5	664,00000*	117,30927
Final	Tukey HSD	C5	C10	-698,1667*	147,5289
			P5	552,5833*	147,5289
			P10	-115,4167	147,5289
		C10	C5	698,1667*	147,5289
			P5	1250,7500*	147,5289
			P10	582,7500*	147,5289

Multiple Comparisons

Dependent	Variable	(I) Amostra2	(J) Amostra2	Sig.	95% Confidence ... Lower Bound
		P10	C5	,968	-289,3251
			C10	,006	-869,1436
			P5	,002	149,7567
Médio	Tukey HSD	C5	C10	,011	-934,2492
			P5	,002	185,4174
			P10	,983	-478,5826
		C10	C5	,011	91,9174
			P5	,000	698,5008
			P10	,029	34,5008
		P5	C5	,002	-1027,7492
			C10	,000	-1540,8326
			P10	,001	-1085,1659
		P10	C5	,983	-363,7492
			C10	,029	-876,8326
			P5	,001	242,8341
	Games-Howell	C5	C10	,065	-1051,4230
			P5	,000	271,2639
			P10	,970	-414,5896
		C10	C5	,065	-25,2563
			P5	,000	596,3327
			P10	,110	-78,5921
		P5	C5	,000	-941,9027
			C10	,000	-1643,0006
			P10	,000	-990,3169
		P10	C5	,970	-299,7562
			C10	,110	-989,9254
			P5	,000	337,6831
Final	Tukey HSD	C5	C10	,000	-1092,070
			P5	,003	158,680
			P10	,862	-509,320
		C10	C5	,000	304,264
			P5	,000	856,847
			P10	,002	188,847

Multiple Comparisons

Dependent	Variable	(I) Amostra2	(J) Amostra2	95% Confidence ... Upper Bound
		P10	C5	399,3251
			C10	-139,4018
			P5	638,2433
Médio	Tukey HSD	C5	C10	-91,9174
			P5	1027,7492
			P10	363,7492
		C10	C5	934,2492
			P5	1540,8326
			P10	876,8326
		P5	C5	-185,4174
			C10	-698,5008
			P10	-242,8341
		P10	C5	478,5826
			C10	-34,5008
			P5	1085,1659
	Games-Howell	C5	C10	25,2563
			P5	941,9027
			P10	299,7562
		C10	C5	1051,4230
			P5	1643,0006
			P10	989,9254
		P5	C5	-271,2639
			C10	-596,3327
			P10	-337,6831
		P10	C5	414,5896
			C10	78,5921
			P5	990,3169
Final	Tukey HSD	C5	C10	-304,264
			P5	946,486
			P10	278,486
		C10	C5	1092,070
			P5	1644,653
			P10	976,653

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) Amostra2	(J) Amostra2	Mean Difference (I-J)	Std. Error
		P5	C5	-552,5833*	147,5289
			C10	-1250,7500*	147,5289
			P10	-668,0000*	147,5289
		P10	C5	115,4167	147,5289
			C10	-582,7500*	147,5289
			P5	668,0000*	147,5289
	Games-Howell	C5	C10	-698,1667*	161,5996
			P5	552,5833*	117,0922
			P10	-115,4167	150,9563
		C10	C5	698,1667*	161,5996
			P5	1250,7500*	144,0200
			P10	582,7500*	172,6818
		P5	C5	-552,5833*	117,0922
			C10	-1250,7500*	144,0200
			P10	-668,0000*	131,9664
		P10	C5	115,4167	150,9563
			C10	-582,7500*	172,6818
			P5	668,0000*	131,9664

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I) Amostra2	(J) Amostra2	Sig.	95% Confidence ... Lower Bound
	P5	C5	,003	-946,486
		C10	,000	-1644,653
		P10	,000	-1061,903
	P10	C5	,862	-278,486
		C10	,002	-976,653
		P5	,000	274,097
Games-Howell	C5	C10	,002	-1149,487
		P5	,001	223,452
		P10	,869	-535,476
	C10	C5	,002	246,846
		P5	,000	839,279
		P10	,014	102,768
	P5	C5	,001	-881,715
		C10	,000	-1662,221
		P10	,000	-1042,450
	P10	C5	,869	-304,642
		C10	,014	-1062,732
		P5	,000	293,550

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I) Amostra2	(J) Amostra2	95% Confidence ... Upper Bound
	P5	C5	-158,680
		C10	-856,847
		P10	-274,097
	P10	C5	509,320
		C10	-188,847
		P5	1061,903
Games-Howell	C5	C10	-246,846
		P5	881,715
		P10	304,642
	C10	C5	1149,487
		P5	1662,221
		P10	1062,732
	P5	C5	-223,452
		C10	-839,279
		P10	-293,550
	P10	C5	535,476
		C10	-102,768
		P5	1042,450

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

Inicial

Subset for alpha = 0.05					
	Amostra2	N	1	2	3
Tukey HSD[a,b]	P5	11	599,0000		
	C5	11		938,0000	
	P10	8		993,0000	
	C10	11			1497,2727
	Sig.		1,000	,968	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

[a.] Uses Harmonic Mean Sample Size = 10,057.

[b.] The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

Médio

Subset for alpha = 0.05					
	Amostra2	N	1	2	3
Tukey HSD[a]	P5	12	754,8333		
	C5	12		1361,4167	
	P10	12		1418,8333	
	C10	12			1874,5000
	Sig.		1,000	,983	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

[a.] Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

Final

Subset for alpha = 0.05

	Amostra2	N	1	2	3
Tukey HSD[a]	P5	12	743,750		
	C5	12		1296,333	
	P10	12		1411,750	
	C10	12			1994,500
	Sig.		1,000	,862	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

[a.] Uses Harmonic Mean Sample Size = 12,000.

```
EXAMINE VARIABLES=Inicial Médio Final BY Amostra
/PLOT BOXPLOT STEMLEAF NPPLOT
/COMPARE GROUPS
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/CINTERVAL 95
/MISSING LISTWISE
/NOTOTAL.
```

Explore

Amostra

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Amostra	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Inicial	Continuo	,096	22	,200*	,965	22	,593
	Pulsado	,176	19	,124	,948	19	,368
Médio	Continuo	,153	22	,200*	,943	22	,232
	Pulsado	,193	19	,060	,881	19	,023
Final	Continuo	,125	22	,200*	,969	22	,698
	Pulsado	,121	19	,200*	,921	19	,119

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

```
* Custom Tables.CTABLES
/VLABELS VARIABLES=Inicial Médio Final Amostra2 DISPLAY=LABEL
/TABLE Inicial [MEAN, STDDEV] + Médio [MEAN, STDDEV] + Final [MEAN, STDDEV] BY Amost
ra2
/CATEGORIES VARIABLES=Amostra2 ORDER=A KEY=VALUE EMPTY=INCLUDE
/CRITERIA CILEVEL=95.
```

Custom Tables

	Amostra2				
	C5		C10		P5
	Mean	Standard Deviation	Mean	Standard Deviation	Mean
Inicial	938,00	323,67	1497,27	351,59	599,00
Médio	1361,42	321,95	1874,50	573,04	754,83
Final	1296,3	338,4	1994,5	446,0	743,8

Amostra2			
P5		P10	
	Standard Deviation	Mean	Standard Deviation
Inicial	128,22	993,00	201,98
Médio	265,17	1418,83	307,93
Final	223,7	1411,8	398,7