

ESTUDO DE EFEITOS NÃO TÉRMICOS DA RADIAÇÃO LASER EM TECIDOS VIVOS

MONICA ALONSO COTTA

Orientador: Prof. Dr. Jorge Humberto Nicola

Tese apresentada ao Instituto de Física "Gleb Wataghin" da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Campinas, fevereiro de 1987.

M

I. FÍSICA - UNICAMP	
n.º classif.	10
n.º aut.	C827E
..... ed. v. ox.	
n.º tombo.	IM/659

PC 33260

CM000 298555

OK 2000

A meus pais, por me permitirem ser eu mesma.

AGRADECIMENTOS

Gostaria primeiramente de agradecer às pessoas que estiveram ao meu lado durante a realização deste trabalho: a meus pais, pelo apoio e constantes quebra-galhos; a Douglas, pelo carinho, incentivo, compreensão e apoio nos bons (e maus) momentos compartilhados; e aos amigos Angélica, Dailto, Rosane, Bata, Paul e Josie (esta também pelas aulas de Biologia). Sem eles não seria a mesma coisa.

Agradeço também aos que me ajudaram diretamente, "pondo as mãos na massa": a Jorge e Ester Nicola, pela orientação e por terem me introduzido num mundo fascinante de aplicações à Medicina; a todo o pessoal do GDAL, principalmente ao Edson (pelas peças e aulas de mecânica), Rubens (pelas discussões), Mário, Rosa (pelas dicas de ótica), pela boa vontade em ajudar e nossos inúmeros bate-papos; ao pessoal do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental, especialmente William, Rosana, Gomes e Maria, pela paciência de tentar fazer uma física entender de pesquisa médica, e pelas boas risadas que resultaram disso; ao "Ba" e áudio-visual da FCM pelas fotos; ao "seu" Cícero e Zé Carlos pelos trabalhos na vidraria; ao Orival, Milton e técnicos da Criogenia, pelo auxílio e os incontáveis litros de nitrogênio; ao Mauro e à profa. Zoraide pela ajuda com o ácido; ao Vasco e Guilherme pelos desenhos; às secretárias do DFESCM e Pós-Graduação, pelos serviços burocráticos, e à Adriana, da TECNOLASER, pelos recados e "frete" gratuito; ao CNPq/Pós-Graduação IFGW e FAPESP pelo suporte financeiro. A todos, muito obrigada.

RESUMO

Neste trabalho, nosso objetivo é o de dar idéias físicas sobre vários fenômenos biológicos funcionais relacionados à irradiação de tecidos vivos com lasers de baixa potência, que denominamos efeitos não-térmicos. Devido à diversidade de comprimentos de onda e densidades de energia com os quais foram observados anteriormente efeitos desse tipo, lançamos a hipótese de que a coerência da radiação utilizada fosse fator importante no processo. Para testar a validade dessa hipótese, dividimos o trabalho em duas partes: uma, experimental, onde construímos um dispositivo permitindo a irradiação de lesões criadas artificialmente no dorso de ratos por um laser de He-Ne, ou - colocando-se um vidro fosco em movimento à frente do feixe laser, por radiação desse mesmo laser com seu grau de coerência diminuído. Pela observação da cicatrização das lesões, nosso teste mostrou ser a coerência da radiação relevante no processo e apontou a necessidade de estudos mais detalhados nessa área.

Do ponto de vista teórico, constituindo a outra parte deste trabalho, realizamos um estudo sobre a distribuição de campo elétrico e intensidade sobre uma superfície dotada de micro-rugosidades quando irradiada por luz coerente. Em nossa opinião, uma distribuição deste tipo pode ocorrer em superfícies celulares e influir decisivamente na fisiologia da própria célula, em grande parte controlada por fenômenos elétricos a nível de membrana.

ABSTRACT

In this work, our objective is giving physical ideas about several functional biological effects related to the irradiation of live tissues with low power lasers, which we called non-thermal effects. Due to the diversity of wavelengths and energy densities those effects have been previously observed with, we propose that the coherence of the used radiation was an important factor in this process. To test the validity of this hypothesis, we divided the work in two parts, one experimental and one theoretical. In the experimental part, we constructed a device which permitted the irradiation of lesions artificially created on the back of rats by an He-Ne laser, or - putting a moving ground glass in the path of the laser beam, by radiation of this same laser with its coherence degree decreased. By observation of the lesions cicatrization, our test showed that the coherence of the radiation is relevant in the process and pointed to the necessity of more detailed studies in this area.

From the theoretical viewpoint, we performed a study about the electrical field and intensity distribution over a surface with micro-roughness when irradiated by coherent light. In our opinion, this kind of distribution might occur in cellular surfaces and influence decisively the cell physiology, which is to a great extent controlled by electrical phenomena at the membrane level.

SUMÁRIO

Introdução	01
Cap. 1 - Coerência	
1.1 - Natureza da luz emitida por fontes	06
1.2 - Coerência produzida por fontes de luz	08
1.3 - Coerência temporal e espacial	16
1.4 - Efeitos na coerência da luz laser provocados por um difusor	19
Cap. 2 - Efeitos da luz coerente numa superfície com micro-rugosidades	25
Cap. 3 - Membranas biológicas	40
Cap. 4 - Modelo físico tentativo para os efeitos não-térmicos ..	49
Cap. 5 - Procedimento experimental	51
5.1 - Fontes de luz	55
5.2 - Determinação de parâmetros biológicos	60
5.3 - Irradiação das lesões e resultados	62
5.4 - Registros fotográficos	68
Conclusões e comentários	82
Referências	84

INTRODUÇÃO

O atual ritmo de evolução do conhecimento científico implica numa crescente atividade interdisciplinar entre as chamadas ciências naturais, como química, física e biologia. Considerando, especificamente, a física e a biologia, vemos que a interação entre elas se dá em vários níveis: a física proporciona não só métodos de instrumentação e análise de materiais e processos biológicos, como serve também à formulação de modelos que possam explicar, ao menos em parte, os intrincados recursos de que os organismos dispõem para sua atividade biológica.

A medicina, por sua ligação íntima com a biologia, também se adapta à interdisciplinaridade. Mas, enquanto a química e a biologia têm papéis bem definidos na medicina, o papel da física não é tão óbvio, embora existam duas grandes áreas de física médica. Na primeira, a utilidade da física está em ajudar a entender o funcionamento do corpo humano. Na segunda, busca-se a aplicação dos mais diversos fenômenos físicos à medicina. Nesta área, um dos campos de pesquisa mais importantes é o da radiologia e medicina nuclear, do simples diagnóstico radiológico a radioterapia. Atualmente, outro campo que começa a tomar grandes proporções é o de aplicações biomédicas do laser. Exemplo disso é o crescente uso do laser como instrumento médico, que nos levou à proposta do presente trabalho.

As primeiras aplicações do laser na área biomédica surgiram como consequência natural de suas características, como monocromaticidade, alta potência, coerência e colimação. Além de sua ampla utiliza-

ção em áreas como biologia celular e análise bioquímica, no estudo espectroscópico de macromoléculas, o laser tem utilidade em diversos campos dentro da medicina, como, por exemplo, na oftalmologia, onde a fotocoagulação ocular é muito mais eficaz quando realizada com laser do que com lâmpadas de xenônio, devido a fatores como ponto de focalização, tempo de exposição e ação específica, decorrentes do uso de comprimento de onda adequado ao efeito que se deseja produzir.

Mas, de modo geral, é principalmente na cirurgia que o laser mostrou vantagens ainda não iguais. Lasers como os de CO_2 , argônio, neodímio e outros, obtiveram grande êxito no emprego cirúrgico, devido a vantagens como ausência de sangramento, menor lesão tecidual e menor risco de contaminação, entre outras.

Esses fatores, que tornam o uso do laser tão apreciável na medicina, são comuns a todos eles, independente do comprimento de onda emitido, desde que este tenha boa absorção pelo tecido. Isto ocorre em virtude das altas densidades de energia utilizadas, responsáveis pelos chamados efeitos térmicos, onde a energia dos fótons absorvidos pelo tecido vai se transformar, subsequentemente, em calor. Esse processo permanece o mesmo para diferentes comprimentos de onda e diferentes tecidos, ocorrendo alteração apenas na sua eficiência, o que implica na existência de um laser mais adequado para cada aplicação.

Já o laser de He-Ne, por exemplo, tem efeito cirúrgico pouco significativo, devido ao fato de sua absorção pelo tecido, água ou sangue ser pouco intensa. Porém, nos últimos anos, esse tipo de laser tem sido utilizado, na medicina, em extremo oposto ao dos lasers cirúrgicos. É um dos lasers a que se atribui o efeito comumente chamado, na área médica, de "bioestimulação laser", obtido com o emprego do la-

sers de baixa potência de saída. Os mais usados são o de He-Ne e o de arseneto de gálio-alumínio. Os efeitos de corte dos lasers cirúrgicos são denominados térmicos, pois, como já foi dito, decorrem da absorção de energia pelo tecido e conseqüente alta na temperatura. Os efeitos observados da radiação do laser de Ho-Ne, por exemplo, pelo fato desta ser transmitida para camadas mais profundas e por ter boa parte da intensidade refletida na pele, levando, portanto, a densidades de energia baixas, são ditos efeitos não-térmicos.

O aumento do uso clínico de lasers de baixa potência levou-nos ao presente trabalho, visando levantar bases científicas para os resultados obtidos por vários pesquisadores [1-13] nessa área. Os estudos feitos até agora mostram que a irradiação de um tecido vivo com esses lasers provoca, a nível biológico funcional, um aumento na síntese de proteínas pela célula [6-7], além de mudança na distribuição de cargas elétricas na membrana celular [9]. Os efeitos macroscópicos observados vão da aceleração da cicatrização à analgesia [1-7]. É importante salientar, porém, que os resultados mostram a existência desses efeitos numa ampla faixa de densidade de energia ($0.05-5.0 \text{ J/cm}^2$) e para vários comprimentos de onda (He-Ne, rubi, CO_2). As experiências foram realizadas tanto com animais de experimentação [4-7] como com culturas de células "in vitro" [8-9,11,13], o que invalida a hipótese dos efeitos observados serem de natureza psicológica.

Da literatura conseguida, dois trabalhos nos chamaram a atenção, pois se referem ao possível efeito da coerência da luz laser. No trabalho de Tomberg [12], é feita a comparação entre os efeitos biológicos de luz laser de alta potência e os de luz de uma lâmpada com potência e comprimento de onda semelhantes. Notou-se, então, que o mate-

rial irradiado pelo laser respondia de forma diferente de quando irradiado pela lâmpada. No trabalho de Berki et al [11], foram observadas mudanças funcionais em várias culturas de células "in vitro" quando irradiadas por um laser de He-Ne de poucos miliwatts. Um efeito biológico mensurável não foi produzido por uma fonte de luz térmica de mesma potência e comprimento de onda.

Baseados nesses dados, levantamos a hipótese de que os efeitos biológicos observados com a irradiação de tecidos animais por lasers de baixa potência se devem ao fato da luz ser coerente. Devido à diversidade de comprimentos de onda responsáveis pela observação dos mesmos tipos de efeitos biológicos, julgamos razoável supor que a coerência espacial tenha maior relevância no processo. Assim, tentamos encaminhar o trabalho de pesquisa de modo a estabelecer um modelo teórico que se baseie principalmente na coerência espacial como responsável por mudanças numa célula, bem como levar o trabalho experimental a testar a validade dessa hipótese.

Com esse intuito, dividimos a apresentação desta dissertação em várias seções. No primeiro capítulo, fazemos uma revisão do conceito de coerência [14-16], uma vez que este é facilmente aceito mas nem tanto compreendido. No segundo capítulo, apresentamos, com algumas modificações apropriadas, a teoria proposta por J.E. Sipe et al [26-33] para a deposição inhomogênea de energia na superfície com micro-rugosidades de vários tipos de materiais não-biológicos, quando irradiadas com laser, e que se baseia no alto grau de coerência espacial da luz laser. A seguir, resumimos alguns aspectos essenciais sobre superfícies celulares (membranas biológicas) que, no nosso ponto de vista, justificam a idéia de relacionar um modelo físico como o descrito no

capítulo 2, com uma célula animal. O restante do trabalho é dedicado, então, a descrever o procedimento experimental, bem como discutir os resultados assim obtidos.

CAPÍTULO 1:

COERÊNCIA

1.1 - NATUREZA DA LUZ EMITIDA POR FONTES:

Numa fonte de luz térmica, tal como uma lâmpada de filamento de tungstênio, ou de descarga em gás, os átomos individuais darão origem a campos de dipolo que radiam por curto tempo, sendo que os pulsos são emitidos em intervalos aleatórios; os eixos dos dipolos também têm orientações aleatórias, dando luz não-polarizada. O campo eletromagnético em qualquer ponto "P" iluminado pela fonte terá, então, um valor vetorial instantâneo, resultante, que varia aleatoriamente na direção e fase de oscilação. Mesmo passando por um polarizador, a componente do campo elétrico em "P" ainda varia aleatoriamente na fase. Esse é o caso de uma fonte incoerente.

Contrariamente, no laser, a emissão de fótons é estimulada por ondas eletromagnéticas confinadas em uma cavidade ressonante, constituindo um sistema Fabry-Perot. Sob essas condições o campo eletromagnético associado com cada fóton emitido está em fase com a onda estimulante. Em consequência, os campos de dipolo associados com átomos diferentes na fonte sempre vibram em fase com o campo que estimula a emissão, e a luz que deixa a cavidade o faz em trens de onda contínuos sendo que, num caso ideal, com a mesma fase em todos os pontos das ondas emitidas. Os lasers são chamados de fontes de luz coerentes.

Numa fonte de luz coerente ideal, as fases estão sempre es-

tritamente relacionadas em diferentes pontos de espaço e tempo. Numa fonte de luz incoerente, por outro lado, os átomos excitados emitem espontaneamente. Assim, as fases dos diferentes trens de onda de diferentes átomos em qualquer instante de tempo, bem como as fases dos trens de onda de um mesmo átomo em instantes de tempo diferentes, estão aleatoriamente relacionadas umas às outras. É neste sentido, ou seja, de "coerência de fase", que os termos "coerente" e "incoerente" são aplicados ao laser e às fontes de luz térmicas, respectivamente.

1.2 - COERÊNCIA PRODUZIDA POR FONTES DE LUZ:

A luz de uma fonte perfeitamente monocromática pode ser descrita pela equação:

$$E(t) = A \cos(2\pi\nu t + \phi) \quad (1.1)$$

onde A e ϕ são constantes, ou, na forma complexa:

$$E(t) = A \exp[i(2\pi\nu t + \phi)] \quad (1.2)$$

Isto significa que existe uma relação fixa entre as fases do campo elétrico em dois pontos diferentes no espaço ou no tempo.

Na realidade, as ondas eletromagnéticas emitidas por átomos não são senoidais, ou ilimitadas, como no caso de radiação perfeitamente monocromática. Os átomos emitem trens de onda que por terem um comprimento finito, fazem com que a radiação apresente um espectro de frequências emitidas. Podemos assumir que o campo elétrico gerado pelo átomo tem a forma dada por (1.2), contanto que consideremos que a emissão de radiação seja interrompida após um tempo τ , chamado tempo de coerência.

Assim, levando em conta o conceito de tempo de coerência, que está associado à idéia física de trens de onda finitos, podemos expressar o campo elétrico de uma radiação não-monocromática como:

$$E(t) = \int_0^{\infty} b(\nu) \exp[i(2\pi\nu t - \Phi(\nu))] d\nu \quad (1.3)$$

Da expressão (1.1), podemos tirar uma definição para o tempo de coerência τ . A energia associada com cada componente ν do espectro de frequências é dada por:

$$H(\nu) = [b(\nu)]^2 \quad (1.4)$$

Supondo uma fonte que oscila com frequência ν_0 e amplitude constante α , emitindo um trem de onda desde um instante de tempo

$t = -\tau/2$ a $t = +\tau/2$, temos, de (1.1):

$$E(t) = \begin{cases} \alpha \cos 2\pi\nu_0 t, & |t| < \tau/2 \\ 0, & |t| > \tau/2 \end{cases} \quad (1.5)$$

O espectro de Fourier dessa onda será:

$$e(\nu) = \int_{-\infty}^{+\infty} E(t) \exp[-i2\pi\nu t] dt \quad (1.6)$$

Substituindo (1.5) em (1.6) e integrando, temos:

$$e(\nu) = \frac{\alpha \operatorname{sen}[\pi\tau(\nu - \nu_0)]}{2\pi(\nu - \nu_0)} + \frac{\alpha \operatorname{sen}[\pi\tau(\nu + \nu_0)]}{2\pi(\nu + \nu_0)} \quad (1.7)$$

Como $e(\nu)$ é a transformada de Fourier de $E(t)$, temos:

$$\begin{aligned} E(t) &= \int_{-\infty}^{+\infty} e(\nu) \exp[i2\pi\nu t] d\nu = \\ &= \int_{-\infty}^0 e^*(\nu) \exp[-i2\pi\nu t] d\nu + \int_0^{+\infty} e(\nu) \exp[i2\pi\nu t] d\nu = \\ &= 2 \operatorname{Re} \left[\int_0^{+\infty} e(\nu) \exp[i2\pi\nu t] d\nu \right] \end{aligned} \quad (1.8)$$

onde usamos a propriedade $e(-\nu) = e^*(\nu)$. Podemos usar, então, a expressão (1.9) para $E(t)$:

$$E(t) = 2 \int_0^{+\infty} e(\nu) \exp[i2\pi\nu t] d\nu \quad (1.9)$$

Comparando (1.9) e (1.3), temos:

$$e(\nu) = \frac{1}{2} b(\nu) \exp[-i\Phi(\nu)] \quad (1.10)$$

2

Obtemos, assim, de (1.4) o espectro de energia no caso da fonte considerada:

$$H(\nu) = \alpha^2 \left[\frac{\operatorname{sen}[\pi\tau(\nu - \nu_0)]}{\pi(\nu - \nu_0)} \right]^2 \quad (1.11)$$

Esta função é mostrada graficamente na figura 1.1.

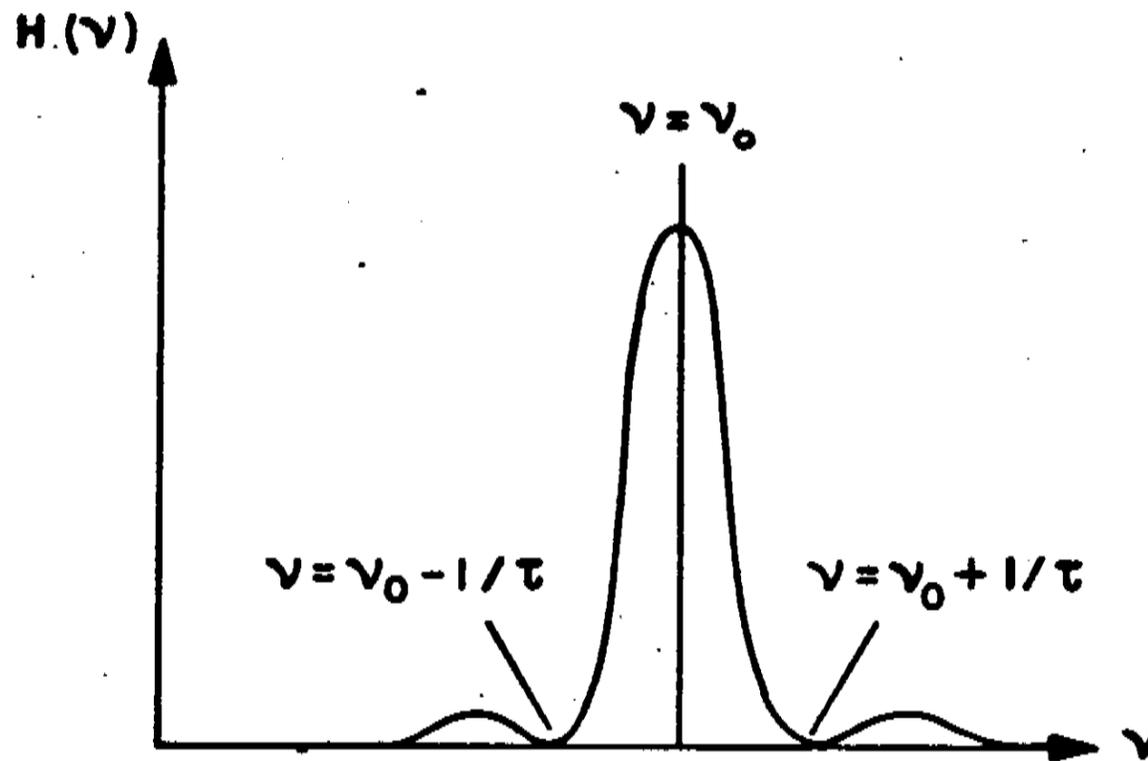


Figura 1.1 - Espectro de energia de um trem de onda não-amortecido, com duração finita.

Praticamente toda a energia está contida no intervalo de frequência $\nu_0 \pm 1/\tau$. Assim, a largura " $\Delta\nu$ " de banda do espectro de energia está relacionada à duração da emissão por:

$$\Delta\nu = 1/\tau \quad (1.12)$$

de tal forma que a largura de banda da linha espectral é inversamente proporcional ao tempo de coerência τ , ou seja, o tempo de duração de um trem de onda. Para as melhores fontes monocromáticas térmicas, $\tau \approx 10^{-8}$ seg, enquanto para lasers, τ pode chegar a 10^{-2} seg.

Por meio do tempo de coerência τ , podemos calcular a extensão espacial do trem de onda, ou comprimento de coerência l_c :

$$l_c = v \cdot \tau \quad (1.13)$$

onde $v = c/n$ é a velocidade de propagação da onda no meio com índice de refração n . Como $v = \lambda\nu$ e $\Delta\nu = 1/\tau$, a equação (1.13) pode ser escrita:

$$l_c = \lambda_0^2 / \Delta\lambda \quad (1.14)$$

onde $\Delta\lambda$ é a largura de banda do espectro de energia em função do comprimento de onda e $\lambda_0 = v/v_0$ é o comprimento de onda no meio, correspondente à frequência v_0 .

Introduzindo, na expressão (1.9), uma frequência v_0 ao redor da qual as frequências estão distribuídas, temos para o campo elétrico:

$$E(t) = 2 \exp[i2\pi v_0 t] \int_0^{\infty} e(v) \exp[i2\pi(v - v_0)t] dv \quad (1.15)$$

Definimos:

$$\begin{aligned} a(t) &= A(t) \exp[-i\Phi(t)] \\ &= 2 \int_0^{\infty} e(v) \exp[i2\pi(v - v_0)t] dv \end{aligned} \quad (1.16)$$

Assim:

$$\begin{aligned} E(t) &= A(t) \exp[i(2\pi v_0 t - \Phi(t))] = \\ &= a(t) \exp[i2\pi v_0 t] \end{aligned} \quad (1.17)$$

Se a transformada de Fourier $e(v)$ de $E(t)$ difere de zero apenas para valores de v próximos de v_0 , a integral (1.16) representa uma superposição de componentes harmônicas de baixas frequências ($= v - v_0$). Além disso, se o intervalo $\Delta v = v - v_0$ sobre o qual $e(v)$ difere de zero é pequeno em relação à frequência média v_0 , o termo $\exp[i2\pi(v - v_0)t]$ varia vagarosamente com o tempo em relação a $\exp[i2\pi v_0 t]$. Nesse caso, a luz emitida pela fonte é chamada quase-monocromática. Na equação (1.17), as variações de $a(t)$ com o tempo são lentas em relação ao termo oscilatório $\exp[i2\pi v_0 t]$. Podemos considerar (1.17) como radiação monocromática com amplitude variável $a(t)$ e frequência igual à frequência média v_0 . Fontes térmicas não conseguem, geralmente, produzir radiação quase-monocromática, pois $a(t)$ varia extremamente rápido em comparação aos meios de observação.

Feitas estas considerações gerais sobre a mono ou policromaticidade da luz, podemos analisar agora o papel da coerência na distribuição de intensidades resultante, num ponto P, da superposição de campos elétricos gerados por duas fontes distintas, de natureza por ora desconhecida (figura 1.2). Os campos $E_1(t)$ e $E_2(t)$ são considerados no mesmo instante em que deixam a fonte.

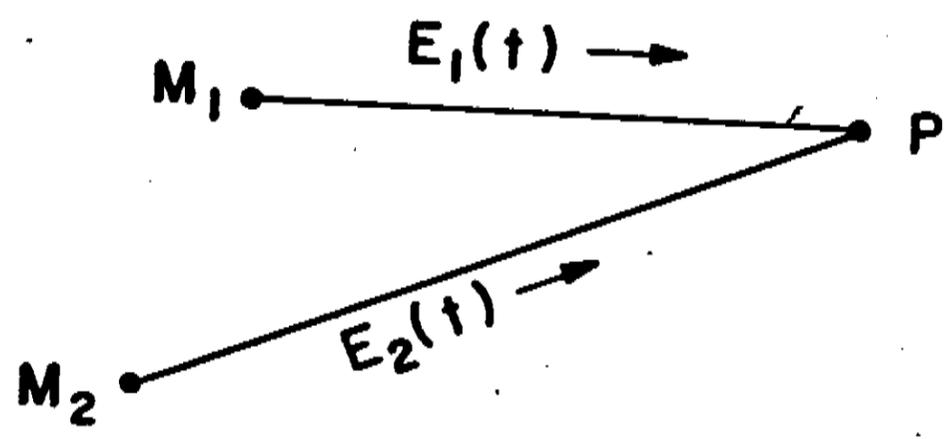


Figura 1.2 - Coerência de 2 campos elétricos em P.

Se θ_1 e θ_2 são os tempos para os percursos M_1P e M_2P , para uma dada frequência:

$$\theta_1 = \frac{M_1P}{v} \qquad \theta_2 = \frac{M_2P}{v} \qquad (1.18)$$

onde v é a velocidade da luz no meio. Podemos expressar o campo elétrico em M_1 usando a equação (1.9):

$$E_1(t) = 2 \int_0^{\infty} e_1(\nu) \exp[i2\pi\nu t] d\nu \qquad (1.19)$$

$E_1(t)$, emitido por M_1 , chega a P propagando-se ao longo de M_1P . Esse caminho pode ser caracterizado, para cada frequência por um número complexo: $g(\nu) \exp[-i2\pi\nu\theta_1]$, onde $g(\nu)$ determina a razão das amplitudes em M_1 e P para a frequência ν . O campo elétrico em P no

instante t será:

$$E_p(t) = 2 \int_0^{\infty} e_1(\nu) g(\nu) \exp[i2\pi\nu(t - \theta_1)] d\nu \quad (1.20)$$

A título de simplificação, assumimos um meio transparente homogêneo com $n=1$. Se I_1 e I_2 são as intensidades em M_1 e M_2 , as intensidades em P devido às duas fontes que agem independentemente são $(I_1/M_1P)^2$ e $(I_2/M_2P)^2$. Podemos considerar essas quantidades como constantes nos fenômenos. Contudo, como estamos interessados apenas em valores relativos, assumimos que $g(\nu)=1$ para os caminhos M_1P e M_2P . Temos então:

$$E_p(t) = 2 \int_0^{\infty} e_1(\nu) \exp[i2\pi\nu(t - \theta_1)] d\nu = E_1(t - \theta_1) \quad (1.21)$$

Tomando procedimento idêntico para M_2 , podemos escrever o

campo elétrico em P no tempo t :

$$E(t) = E_1(t - \theta_1) + E_2(t - \theta_2). \quad (1.22)$$

A intensidade observável em P é dada por:

$$I = \langle E(t) E^*(t) \rangle \quad (1.23)$$

ou:

$$I = \langle [E_1(t - \theta_1) + E_2(t - \theta_2)][E_1^*(t - \theta_1) + E_2^*(t - \theta_2)] \rangle \quad (1.24)$$

Como as ondas de luz são consideradas estacionárias, podemos mudar a origem do tempo em todos os termos resultantes da multiplicação em (1.24):

$$\begin{aligned} \langle E_1(t - \theta_1) E_1^*(t - \theta_1) \rangle &= \langle E_1(t) E_1^*(t) \rangle \\ \langle E_2(t - \theta_2) E_2^*(t - \theta_2) \rangle &= \langle E_2(t) E_2^*(t) \rangle \\ \langle E_1(t - \theta_1) E_2^*(t - \theta_2) \rangle &= \langle E_1(t + \theta) E_2^*(t) \rangle \\ \langle E_1^*(t - \theta_1) E_2(t - \theta_2) \rangle &= \langle E_1^*(t + \theta) E_2(t) \rangle \end{aligned} \quad (1.25)$$

onde $\theta = \theta_2 - \theta_1$.

Portanto:

$$I = \langle E_1(t) E_1^*(t) \rangle + \langle E_2(t) E_2^*(t) \rangle + 2 \operatorname{Re} [\langle E_1(t+\theta) E_2^*(t) \rangle] \quad (1.26)$$

Os dois primeiros termos correspondem às energias emitidas por M_1 e M_2 e são as intensidades em P se M_1 e M_2 agem separadamente. Chamando a essas quantidades de I_1 e I_2 , temos:

$$I = I_1 + I_2 + 2 \operatorname{Re} [\Gamma_{12}(\theta)] \quad (1.27)$$

$$\text{com } \Gamma_{12}(\theta) = \langle E_1(t+\theta) E_2^*(t) \rangle \quad (1.28)$$

sendo a coerência mútua das ondas eletromagnéticas emitidas por M_1 e M_2 . Normalizando $\Gamma_{12}(\theta)$:

$$\gamma_{12}(\theta) = \frac{\Gamma_{12}(\theta)}{\sqrt{I_1} \sqrt{I_2}} = \frac{\langle E_1(t+\theta) E_2^*(t) \rangle}{\sqrt{\langle E_1(t) E_1^*(t) \rangle} \sqrt{\langle E_2(t) E_2^*(t) \rangle}} \quad (1.29)$$

$\gamma_{12}(\theta)$ é chamado grau complexo de coerência. Assim:

$$I = I_1 + I_2 + 2 \sqrt{I_1} \sqrt{I_2} \operatorname{Re}[\gamma_{12}(\theta)] \quad (1.30)$$

Se $\Phi'(\theta)$ for o argumento da quantidade complexa $\gamma_{12}(\theta)$, podemos escrever:

$$\gamma_{12}(\theta) = |\gamma_{12}(\theta)| \exp[i\Phi'(\theta)] \quad (1.31)$$

e obtemos, para a intensidade:

$$I = I_1 + I_2 + 2 \sqrt{I_1} \sqrt{I_2} |\gamma_{12}(\theta)| \cos \Phi'(\theta) \quad (1.32)$$

Pela desigualdade de Schwarz, temos que $|\gamma_{12}(\theta)| \leq 1$, isto é, o grau de coerência pode variar entre 0 e 1. Quando $|\gamma_{12}(\theta)| = 1$, os campos elétricos são coerentes. Se $0 < |\gamma_{12}(\theta)| < 1$, são parcialmente coerentes e $|\gamma_{12}(\theta)|$ é seu grau de coerência.

Vemos, assim, que o grau de coerência de uma fonte de luz varia continuamente de 0 a 1. Isto mostra que as classificações "coerente" e "incoerente" dada a lasers e fontes térmicas, respectivamente, não são totalmente corretas. Uma fonte térmica tem, geralmente, um

grau de coerência maior que zero, embora muito menor que o do laser. Isto pode ser visto realizando o experimento de interferência de Young com luz branca solar: franjas são observadas se a distância entre as fendas for menor que $1/20$ mm [22].

1.3 - COERÊNCIA TEMPORAL E ESPACIAL

Apesar de toda a informação sobre a natureza do campo estar contida na função de coerência mútua, em muitos casos é útil separar os efeitos de coerência provenientes da extensão espacial finita da fonte primária de radiação daqueles provenientes da largura espectral finita da radiação. Uma separação completa não é possível, mas podemos dizer que efeitos de coerência parcial provenientes, principalmente, da largura espectral finita são efeitos de coerência temporal. O termo coerência espacial é usado para descrever efeitos diretamente relacionados ao tamanho da fonte.

Se dividirmos em dois o trem de onda emitido por um átomo M e os fizermos passar por dois caminhos diferentes, superpondo-os num ponto "P", veremos que a coerência entre os dois trens de onda em "P" dependerá de θ , que é a diferença no tempo de percurso dos caminhos óticos. A coerência mútua das ondas eletromagnéticas emitidas por M é dada por:

$$\Gamma_{11}(\theta) = \langle E_1(t+\theta) E_1^*(t) \rangle \quad (1.33)$$

ou seja, pela função de autocorrelação de $E_1(t)$. Sua transformada de Fourier $\hat{\Gamma}_{11}(\nu)$ é o espectro de potência da fonte.

$\Gamma_{11}(\theta)$ representa a energia emitida por M quando $\theta = 0$, e tem aí seu valor máximo. Decresce com θ e, para $\theta \gg \tau_c$, $E_1(t+\theta)$ e $E_1^*(t)$ não tem mais relação entre si. Há incoerência temporal. Quando $\theta \approx \tau_c$, os dois trens de onda que se sobrepõem em "P" se originam do mesmo trem de onda inicial, o há coerência temporal parcial. Assim, $\Gamma_{11}(\theta)$ mede a coerência temporal.

Por outro lado, consideramos agora uma fonte extensa emitindo luz numa região espectral estreita e que ilumina dois pontos T_1 e T_2 , situados num mesmo plano. O campo elétrico $E_1(t)$ em T_1 , produzido pela fonte no instante t , não é o mesmo que $E_2(t)$ em T_2 , produzido no mesmo instante t . Os pontos T_1 e T_2 têm coerência mútua definida por:

$$\Gamma_{12}(0) = \langle E_1(t) E_2^*(t) \rangle \quad (1.34)$$

Se os campos elétricos em T_1 e T_2 tiverem uma diferença de fase muito pequena, podemos dizer que o grau de coerência em T_1 e T_2 , iluminados pela fonte, é 1, havendo, então, coerência espacial. À medida que a dimensão da fonte aumenta, diminui o grau de coerência, que se torna parcial, até um nível em que T_1 e T_2 são incoerentes, quando $\Gamma_{12}(0) = 0$. Assim, a função de coerência mútua mede a coerência espacial.

No caso de fontes laser, apesar de serem consideradas, geralmente, como fontes coerentes, vemos que o grau de coerência vai depender do modo em que o laser é operado. Um laser "single-mode" tem coerência temporal virtualmente infinita, devido à pequena largura de seu espectro. Por outro lado, um laser multimodo pode ter largura espectral quase tão grande quanto a da emissão fluorescente da qual se deriva.

A área de coerência espacial de um laser "single-mode" cobre o feixe inteiro. Mas quando um laser oscila em mais de um modo transversal, a coerência espacial é radicalmente alterada. Podemos associar cada modo com um conjunto diferente de átomos que radiam. Os modos são, assim, incoerentes um em relação ao outro. A figura 1.3 mostra curvas típicas de γ_{12} (coerência espacial) como função da separação das fendas d , num experimento de interferência de Young, para um laser

de He-Ne oscilando em "single-mode", dois modos e multimodo. O diâmetro do feixe é da ordem de alguns milímetros.

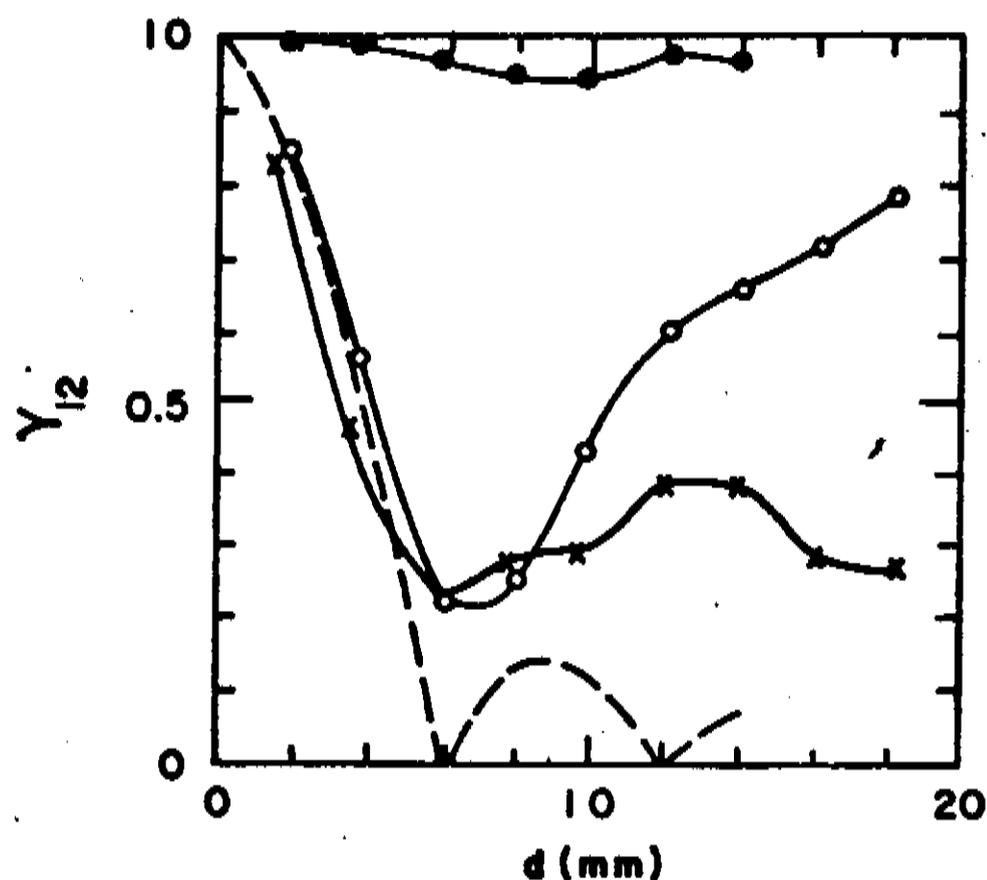


Figura 1.3 - Função de coerência γ_{12} de um laser de He-Ne operando em diversos modos: "single mode" (círculos escuros), "double mode" (círculos abertos) e "multimode" (cruzes), em função da separação das duas fendas d num experimento de interferência de Young. A curva tracejada mostra a função de coerência calculada para uma fonte térmica [18].

1.4 - EFEITOS NA COERÊNCIA DA LUZ LASER PROVOCADOS POR UM DIFUSOR:

A distribuição de intensidade aleatória formada quando luz coerente é refletida por uma superfície rugosa, ou quando se propaga através de um meio com flutuações aleatórias no índice de refração, é chamada de padrão de "speckle". Esses padrões são claramente visíveis quando a luz altamente coerente de um laser é usada. Em geral, as propriedades estatísticas de um padrão de "speckle" dependem tanto da coerência da luz incidente quanto das propriedades detalhadas da superfície rugosa ou meio [17].

A origem física da granulosidade observada foi reconhecida de imediato pelos primeiros pesquisadores da área. As superfícies da maioria dos materiais são extremamente rugosas na escala de um comprimento de onda ótico ($\lambda \approx 5 \cdot 10^{-7}$ m). Quando luz quase monocromática é refletida por tal superfície, ou se transmite através dela, a onda ótica resultante em qualquer ponto moderadamente distante consiste de muitos componentes coerentes, cada um proveniente de um elemento microscópico diferente da superfície. Como na figura 1.4, as distâncias percorridas por esses vários componentes coerentes podem diferir por um ou vários comprimentos de onda se a superfície é rugosa. A interferência desses componentes coerentes, porém defasados, resulta no padrão granular de intensidade chamado "speckle".

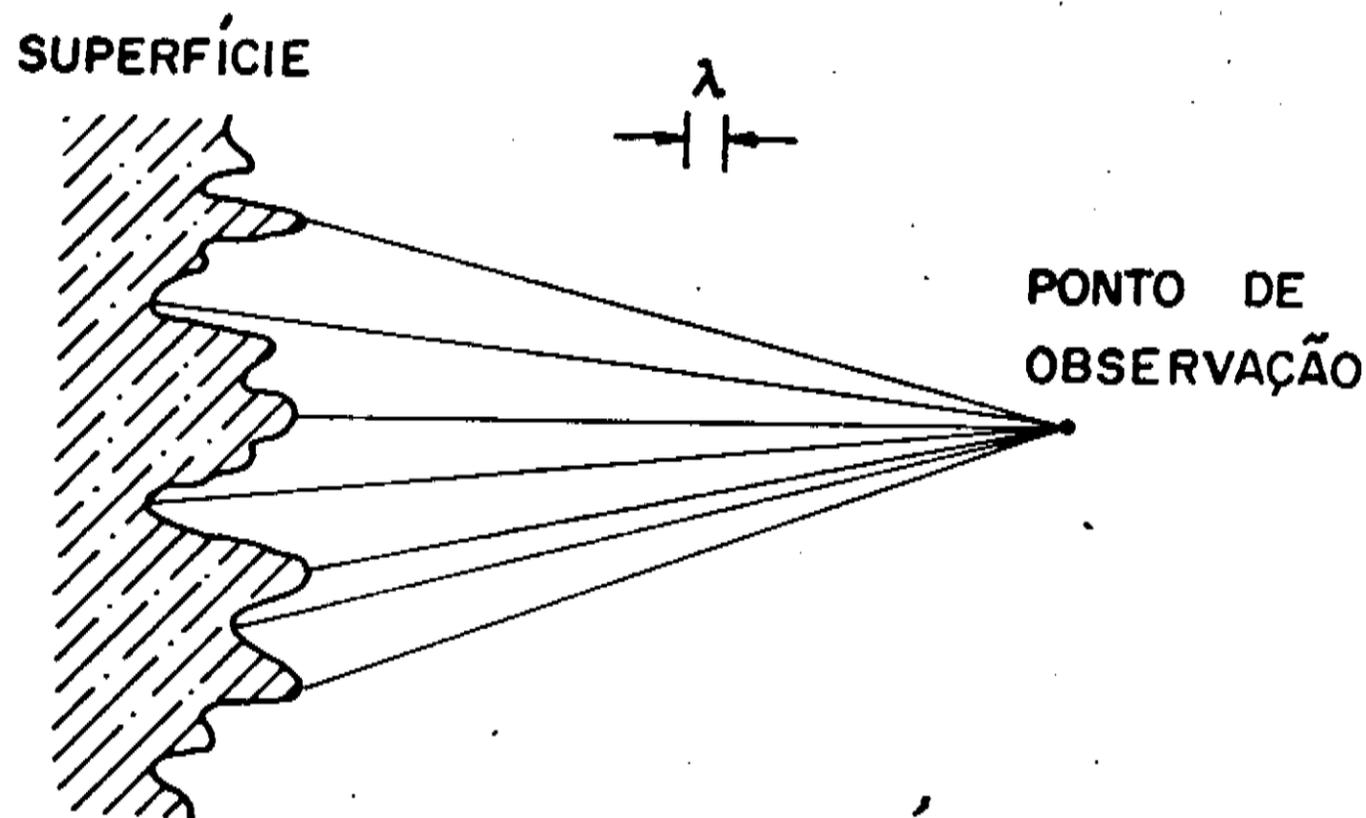


Figura 1.4 - Observação, num determinado ponto, do efeito da rugosidade de uma superfície na transmissão de radiação ótica.

Quando a geometria é a de um sistema de imagens, em vez de propagação no espaço livre, como no caso anterior, a explicação deve incluir a difração, além da interferência. Como está ilustrado na figura 1.5, mesmo para um sistema de imagens sem aberrações, a intensidade num dado ponto imagem pode resultar da adição coerente de muitas áreas independentes da superfície, ou seja, em cada ponto imagem muitas contribuições coerentes, porém defasadas, se adicionam. Assim, o padrão de "speckle" pode resultar tanto da propagação no espaço livre quanto de uma operação para formação de imagens.

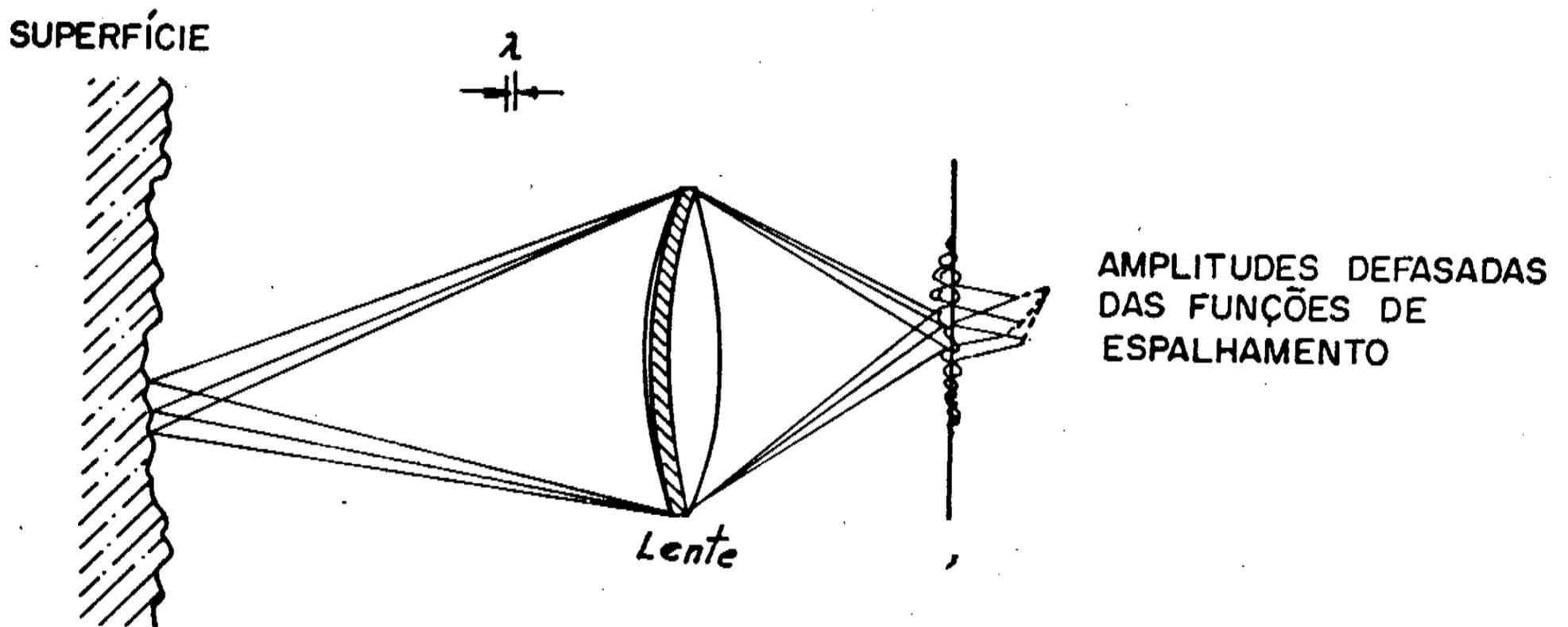


Figura 1.5 - Observação, num plano, por meio de um sistema óptico, do efeito da rugosidade de uma superfície na transmissão de radiação ótica.

Um modo já clássico de remover o padrão de "speckle" e obter uma fonte de luz quase-térmica, ou seja, que se comporta como uma fonte térmica com um tempo de coerência longo, consiste em colocar um difusor - vidro fosco - em movimento no caminho do feixe laser [19-25]. Martienssen e Spiller [19] foram os primeiros a introduzir o uso de um vidro fosco se movendo no caminho de um feixe laser, a fim de obter uma fonte quase-térmica. Estes pesquisadores, juntamente com Arecchi, estudaram as propriedades estatísticas do campo de luz produzido por essa fonte [20-21], e mostraram que este tem distribuição gaussiana característica de uma fonte térmica mas com tempo de coerência determinado pelo tempo de trânsito do feixe laser passando pelo vidro, que pode ser mudado controlando-se a velocidade do motor que gira o disco.

Assim, a passagem pelo vidro fosco em movimento pode ser tratada como um mecanismo de mudança na propriedade estatística de um campo de luz laser.

Beran e Parrent [22] discutem a propagação de luz quase monocromática através de um vidro fosco em movimento em termos de formalismo de "ensemble". O caso de um difusor estático é equivalente a se considerar somente o i -ésimo elemento do "ensemble", ou seja, um grau de coerência mútuo $\hat{\Gamma}_{12}(\theta)$: No caso dinâmico, com o difusor em movimento, a média no "ensemble" efetivamente destrói a coerência da radiação incidente; $\langle \hat{\Gamma}_{12}(\theta) \rangle$ é diferente de $\hat{\Gamma}_{12}(\theta)$. Isto se torna evidente da comparação do padrão de "speckle" nos casos estático e dinâmico. A média no "ensemble" do grau de coerência espacial entre dois pontos no campo de luz difusa pode ser determinado pela equação (1.35):

$$|\langle \hat{\gamma}_{12} \rangle| = \frac{\langle I_{\max} \rangle - \langle I_{\min} \rangle}{\langle I_{\max} \rangle + \langle I_{\min} \rangle} \quad (1.35)$$

que é válida quando a média no "ensemble" da intensidade de luz emitida pelos dois pontos considerados for igual, isto é, $\langle I_1 \rangle = \langle I_2 \rangle$. $\langle I_{\max} \rangle$ e $\langle I_{\min} \rangle$ denotam as intensidades máxima e mínima da média no "ensemble" do padrão de interferência. A equação (1.35) é a expressão da visibilidade das franjas medida para franjas adjacentes. Ao compararmos o padrão estático de distribuição de intensidade com o padrão dinâmico, obtemos que o primeiro apresenta franjas bem mais visíveis que o segundo. Assim, vemos que a propagação através de um vidro fosco em movimento pode ser tratada, também, como um mecanismo de redução da coerência.

Podemos examinar melhor esse mecanismo de redução da média no

"ensemble" do grau de coerência espacial de um feixe laser através do experimento de interferência de Young. O padrão de interferência usual pode ser observado no plano de difração de Fraunhofer quando ambas as fendas são iluminadas pela luz laser. A seguir, iluminando as duas fendas com a luz laser após esta ter atravessado um difusor estacionário, temos que o padrão de interferência se torna aleatório. A diferença de fase, sobre a frente de onda, dos dois feixes que deixam as fendas torna-se aleatória pois a espessura do vidro fosco é aleatória. As franjas de interferência aleatórias presentes apresentam contrastes diferentes. A presença de franjas de contraste muito intenso mostra que a luz permanece ainda coerente depois de passar pelo vidro fosco. As franjas de contraste pouco intenso se devem ao efeito de interferência de amplitudes diferentes sobre o campo distribuído aleatoriamente de cada fenda, enquanto as franjas de interferência de contraste intenso são produzidas por amplitudes iguais.

Consideremos agora a fenda dupla iluminada pela luz laser que passa através de um vidro fosco em movimento. Para um tempo de observação curto em comparação com o tempo de trânsito do vidro fosco em movimento, as mesmas franjas de interferência do caso estático podem ser observadas. Para um tempo de observação maior, o padrão de interferência observado é similar ao usual, do laser sem o difusor, mas de contraste reduzido. Mover o vidro fosco é essencialmente o mesmo que colocar uma sucessão de diferentes áreas de vidro fosco à frente do feixe laser e tomar a média sobre essas áreas. Assim, a média no "ensemble" muda o contraste e, conseqüentemente, reduz a coerência espacial entre pontos em fendas diferentes. Mais que isso, afeta também a coerência temporal, que está relacionada ao tempo de trânsito da luz

no vidro. Assim, o campo da luz produzida quando um feixe laser atravessa o vidro fosco em movimento pode ser considerado como o de uma fonte quase-térmica, em analogia à luz produzida por uma fonte térmica comum de coerência temporal e espacial limitada.

CAPÍTULO 2:

EFEITOS DA LUZ COERENTE NUMA SUPERFÍCIE COM MICRO-RUGOSIDADES

Neste capítulo, procedemos ao estudo dos efeitos da luz coerente quando iluminando uma superfície que possui micro-rugosidades. Esta tem papel importante na interação da radiação laser com diversos materiais. A teoria mais simples para as propriedades óticas de superfícies é obtida usando-se as equações de Maxwell macroscópicas e assumindo que a constante dielétrica muda como uma função degrau na superfície, de um valor ϵ_1 no meio 1 para um valor ϵ_2 no meio 2. Devido a essa mudança abrupta nas propriedades dielétricas que ocorrem em muitas interfaces e, devido ao fato de não haver interface atômicamente lisa, a radiação pode ser espalhada ao longo da superfície e interferir com o feixe incidente e/ou refratado. A interferência ocorre devido ao alto grau de coerência espacial do laser e acarreta uma deposição inhomogênea de energia na interface. Esse tipo de fenômeno é particularmente interessante, pois é de caráter universal: pode ocorrer em sólidos e líquidos, de naturezas dielétricas diferentes, e para vários comprimentos de onda [28].

A seguir, descrevemos o papel das interfaces na irradiação de um material por um laser. Essa análise se baseia no trabalho de J.E. Sipe et al [26], que estudou a formação de estruturas espacialmente periódicas em superfícies, induzidas por um laser. Consiste, essencialmente, numa teoria de perturbação com parâmetro de expansão l/λ , onde λ é o comprimento de onda da radiação incidente (luz) e l a es-

pequena da região próxima à superfície onde a constante dielétrica não dá uma descrição adequada da resposta do material; vamos nos referir a essa região pelo nome de "selvedge".

Convém ressaltar que nosso interesse neste trabalho é de caráter qualitativo. Enquanto seus autores se preocuparam em testar a completa validade de sua teoria prevendo a localização de estruturas espacialmente periódicas em superfícies iluminadas por lasers, para fitar com dados experimentais, nós nos preocupamos apenas em considerar como se dará a distribuição de campo elétrico e intensidade na superfície em questão, quando a luz for coerente ou não. Assim, nos permitimos algumas simplificações no cálculo analítico de algumas grandezas eletrodinâmicas envolvidas, que não seriam praticáveis caso fôssemos, também, realizar estudos quantitativos do problema.

A primeira questão que surge na análise da interação da radiação coerente com uma superfície está na natureza eletrodinâmica da interface que leva à interferência e à deposição inhomogênea de energia. Estas estão intimamente relacionadas a como a radiação eletromagnética incidente é espalhada por uma superfície microscopicamente rugosa. No caso aqui considerado, a radiação incidente provém de um laser, e será idealizada como monocromática. Isso não impede que o modelo teórico para o espalhamento se aplique a radiação não-monocromática, pois as componentes de diferentes frequências do campo de radiação são espalhadas independentemente.

A interação de uma onda plana eletromagnética com uma interface é mostrada na figura 2.1:

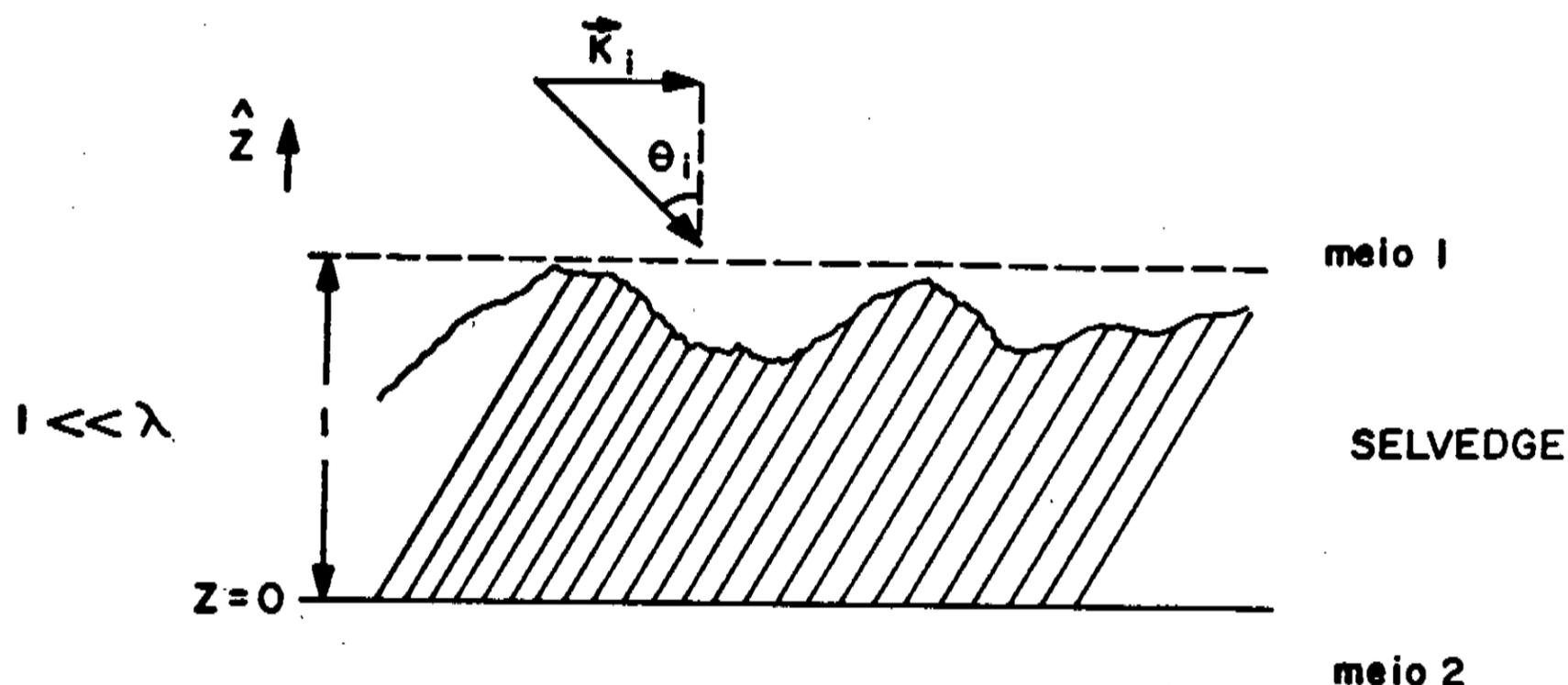


Figura 2.1 - Esquema mostrando a radiação incidente numa superfície com micro-rugosidades.

Se o feixe incide num ângulo θ_i e a componente do vetor de onda no plano da superfície é \vec{k}_i , então, para uma superfície perfeitamente lisa, haverá ondas refratadas e refletidas, ambas com \vec{k}_i como componente de seu vetor de onda paralelo à superfície. Se a interface é rugosa, tanto devido a variações espaciais de seu perfil como de sua constante dielétrica (por exemplo, devido à composição), a luz será espalhada em todas as direções, em ambos os meios adjacentes. Mas, se a interface possui uma componente de Fourier da rugosidade \vec{k} , na região do "selvedge", os campos espalhados terão componentes do vetor de onda paralelos à superfície definidos, e funções de \vec{k} . Uma superfície com rugosidade aleatória pode ser considerada como composta de um espectro de componentes de Fourier da rugosidade, existindo, assim, um espectro espacial de campos espalhados.

Esse raciocínio sugere o estudo do fenômeno de deposição inhomogênea de energia no espaço \vec{k} . Começamos, então, desenvolvendo uma

equação integral para a polarização gerada na região do "selvedge".

Esta satisfaz as equações de Maxwell:

$$\begin{aligned} \vec{\nabla} \cdot \vec{E}(\vec{r}) &= -4\pi \vec{\nabla} \cdot \vec{P}(\vec{r}) & \vec{\nabla} \cdot \vec{B}(\vec{r}) &= 0 \\ \vec{\nabla} \times \vec{E}(\vec{r}) &= i\tilde{\omega} \vec{B}(\vec{r}) & \vec{\nabla} \times \vec{B}(\vec{r}) + i\tilde{\omega} \vec{E}(\vec{r}) &= -4\pi i\tilde{\omega} \vec{P}(\vec{r}) \end{aligned} \quad (2.1)$$

onde os campos considerados são estacionários, da forma:

$$f(\vec{r}, t) = \text{Re}[f(\vec{r}) \cdot \exp(-i\omega t)] \quad (2.2) \quad \text{e} \quad \tilde{\omega} = \omega/v = 2\pi n_1 / \lambda$$

Se considerarmos um potencial de polarização da forma [31-32]:

$$\vec{P}(\vec{r}) = \vec{P} \exp(i\vec{k} \cdot \vec{r}) \delta(z-z_0) \quad (2.3)$$

vemos que, para $z \neq z_0$, os campos \vec{E} e \vec{B} satisfazem as formas homogêneas de (2.1); as soluções com comportamento adequado em $z \rightarrow \pm \infty$ são $(\vec{E}_0^+(\vec{r}), \vec{B}_0^+(\vec{r}))$ para $z > z_0$ e $(\vec{E}_0^-(\vec{r}), \vec{B}_0^-(\vec{r}))$ para $z < z_0$, onde:

$$\vec{E}_0^+(\vec{r}) = \vec{E}_0^+ \exp[i\vec{v}_{0+} \cdot \vec{r}] = (E_{os}^+ \hat{s} + E_{op}^+ \hat{p}_{0+}) \exp[i\vec{v}_{0+} \cdot \vec{r}] \quad (2.4)$$

se propagam para cima e:

$$\vec{E}_0^-(\vec{r}) = \vec{E}_0^- \exp[i\vec{v}_{0-} \cdot \vec{r}] = (E_{os}^- \hat{s} + E_{op}^- \hat{p}_{0-}) \exp[i\vec{v}_{0-} \cdot \vec{r}] \quad (2.5)$$

se propagam para baixo e correspondem, no problema, aos campos incidentes. Temos:

$$\begin{aligned} \hat{v}_{0\pm} &= v_0^{-1} (\vec{k} \pm \omega_0 \hat{z}), \quad \hat{p}_{0\pm} = v_0^{-1} (k\hat{z} \mp \omega_0 \hat{k}), \quad \hat{s} = \hat{k} \times \hat{z}, \\ \text{e } \omega_0 &= (v_0^2 - k^2) \quad (v_0 \equiv \tilde{\omega}) \end{aligned} \quad (2.6)$$

onde os vetores unitários de propagação utilizados estão representados na fig. 2.2:

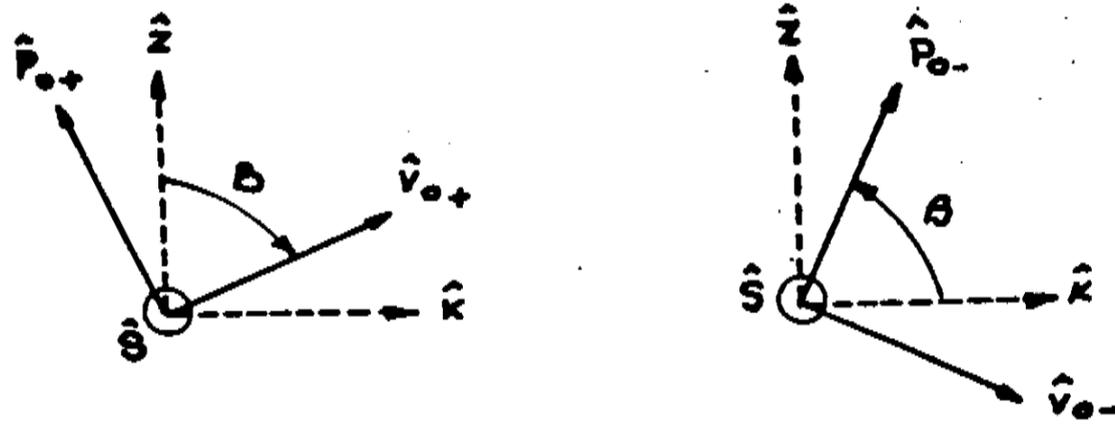


Figura 2.2 - Vetores unitários para a propagação dos campos eletromagnéticos considerados [33].

$\vec{B}_0^+(\vec{r})$ e $\vec{B}_0^-(\vec{r})$ seguem das equações de Maxwell (2.1):

$$\vec{B}_0^{\pm}(\vec{r}) = -i\tilde{\omega}^{-1} \vec{\nabla} \times \vec{E}_0^{\pm}(\vec{r}) \equiv \vec{B}_0^{\pm} \exp[i\vec{\nu}_{0\pm} \cdot \vec{r}] \quad (2.7)$$

Assim, procuramos por soluções de (2.1) da forma:

$$\begin{aligned} \vec{E}(\vec{r}) &= \theta(z - z_0) \vec{E}_0^+(\vec{r}) + \theta(z_0 - z) \vec{E}_0^-(\vec{r}) + \vec{e} \exp[i\vec{k} \cdot \vec{r}] \delta(z - z_0) \\ \vec{B}(\vec{r}) &= \theta(z - z_0) \vec{B}_0^+(\vec{r}) + \theta(z_0 - z) \vec{B}_0^-(\vec{r}) \end{aligned} \quad (2.8)$$

onde o termo em \vec{e} representa a contribuição da polarização (2.3) e os coeficientes nos outros termos devem, juntamente com \vec{e} , ser determinados. Colocando as equações (2.8) em (2.1), vemos que as últimas serão satisfeitas em todos os pontos se:

$$\begin{aligned} \hat{z} \times [\vec{E}_0^+ \exp(i\omega_0 z_0) - \vec{E}_0^- \exp(-i\omega_0 z_0)] + i \vec{k} \times \vec{e} &= 0 \\ \hat{z} \times \vec{e} &= 0 \end{aligned} \quad (2.9)$$

$$\hat{z} \times [\vec{B}_0^+ \exp(i\omega_0 z_0) - \vec{B}_0^- \exp(-i\omega_0 z_0)] + i\tilde{\omega} \vec{e} = -4\pi i\tilde{\omega} \vec{P}$$

onde usamos $\frac{d\theta(z)}{dz} = \delta(z)$.

As equações (2.9), que são necessárias para satisfazer (2.1) em $z = z_0$, são similares às condições sobre as componentes tangenciais de \vec{E} e \vec{H} (aqui, igual a \vec{B}) que aparecem na eletrodinâmica macroscópi-

ca, mas diferem no fato de aqui existir uma polarização, e o campo gerado por ela. Para resolver as equações (2.9), devemos colocar:

$$\vec{e} = -4\pi \hat{z}\hat{z} \cdot \vec{P} \quad (2.10)$$

e, se os coeficientes de $\vec{E}_0^\pm(\vec{r})$ são tomados como:

$$\vec{E}_{os}^\pm = 2\pi i \tilde{\omega}^2 \omega_0^{-1} \exp[\mp i\omega_0 z_0] \hat{s} \cdot \vec{P} \quad (2.11)$$

$$\vec{E}_{op}^\pm = 2\pi i \tilde{\omega}^2 \omega_0^{-1} \exp[\mp i\omega_0 z_0] \hat{p}_{o\pm} \cdot \vec{P}$$

as equações (2.7) e (2.9) são satisfeitas. Combinando (2.8), (2.10) e (2.11), temos:

$$\vec{E}(\vec{r}) = \vec{E}(z) \exp[i\vec{k} \cdot \vec{r}] \quad (2.12)$$

onde $\vec{E}(z) = \vec{G}(z - z_0) \cdot \vec{P}$

$$\vec{G}(z) = \vec{G}_0(z) - 4\pi \hat{z}\hat{z} \delta(z) \quad (2.13)$$

$$\vec{G}_0(z) = 2\pi i \tilde{\omega}^2 \omega_0^{-1} [(\hat{s}\hat{s} + \hat{p}_{o+}\hat{p}_{o+}) \Theta(z) \exp(i\omega_0 z) + (\hat{s}\hat{s} + \hat{p}_{o-}\hat{p}_{o-}) \Theta(-z) \exp(-i\omega_0 z)]$$

e $\Theta(z)$ é a função degrau usual:

$$\Theta(z) = \begin{cases} 0, & z < 0 \\ 1, & z > 0 \end{cases} \quad (2.14)$$

Desde que (2.13) satisfaz as equações (2.1) e (2.3) e tem comportamento adequado em $z \rightarrow \pm\infty$, é a solução das equações de Maxwell procurada. Para um potencial de polarização da forma:

$$\vec{P}(\vec{r}) = \vec{P}(z) \exp(i\vec{k} \cdot \vec{r}) \quad (2.15)$$

temos a generalização:

$$\vec{E}(z) = \int \vec{G}(z - z') \cdot \vec{P}(z') dz' \quad (2.16)$$

Assim, para o nosso caso temos, para a componente de Fourier da rugosidade \vec{k} :

$$\vec{E}(\vec{k}, z) = \vec{E}_0(\vec{k}, z) + \int \vec{G}(z - z') \cdot \vec{P}(\vec{k}, z') dz' \quad (2.17)$$

$$\text{onde } \vec{G}(z - z') = \vec{G}_0(z - z') - 4\pi \hat{z}\hat{z} \delta(z - z') \quad (2.18)$$

$$\vec{G}_0(z - z') = \vec{g}_+(\vec{k}) \Theta(z - z') \exp[i\omega_0(z - z')] +$$

$$\begin{aligned}
 & + \vec{g}_-(\vec{k}) \theta(z' - z) \exp[-i\omega_0(z' - z)] \\
 \text{e } \vec{g}_\pm(\vec{k}) & = 2\pi i \omega_0^{-1} \tilde{\omega}^2 (\hat{s}\hat{s} + \hat{p}_{0\pm}\hat{p}_{0\pm}) \\
 \hat{s} & = \hat{k} \times \hat{z} \\
 \omega_0 & = (\tilde{\omega}^2 - k^2), \text{ Re } \omega_0, \text{ Im } \omega_0 \geq 0 \\
 \hat{p}_{0\pm} & = \tilde{\omega}^{-1}(k\hat{z} \mp \omega_0\hat{k})
 \end{aligned} \tag{2.19}$$

Na expressão (2.17), $\vec{E}(\vec{k}, z)$ é a transformada de Fourier da solução da parte homogênea de (2.1) e corresponde ao campo incidente. Contudo, se o "selvedge" não é desprezado, o campo incidente não é apenas $\vec{E}_0(\vec{k}, z)$; deve-se incluir o campo do "selvedge", que é representado em (2.17) pelo termo com a função de Green. A função de Green diádica identifica explicitamente as componentes polarizadas s e p, geradas em cada \vec{k} pela polarização da onda original [33].

Para um campo incidente vindo de $z = +\infty$, temos:

$$\vec{E}_0(\vec{k}, z) = \vec{E}_0(\vec{k}) \exp[-i\omega_0 z] \tag{2.20}$$

onde $\vec{E}_0(\vec{k})$ pode ter componentes \hat{s} e \hat{p}_{0-} , correspondendo às ondas polarizadas s e p, respectivamente.

Temos, então, para o campo no "selvedge", três contribuições distintas: a primeira é o campo elétrico no meio 1 devido à polarização do "selvedge" ($z' > 1$); a segunda contribuição é dada pela própria polarização do "selvedge" ($0 < z' < 1$), enquanto a terceira se deve à polarização do meio 2, induzida pela polarização do "selvedge" ($z' < 0$).

A primeira contribuição é dada, então, pela polarização do meio 1, que, por sua vez, é induzida pela polarização do "selvedge", e pode ser expressa como:

$$\int_{z'=l}^{\infty} \vec{G}(z - z') \cdot \vec{P}(\vec{k}, z') dz' \tag{2.21}$$

Como estamos interessados em calcular o campo elétrico no "selvedge", temos $0 < z < l$ e, portanto, $z' - z > 0$. Usando esse resultado nas equações (2.18) e (2.19) e substituindo em (2.21), temos, para o campo gerado no "selvedge" pela polarização do meio 1:

$$\exp[-i\omega_0 z] \overleftrightarrow{g}_-(\vec{k}) \overrightarrow{Q}_1(\vec{k}), \text{ com } \overrightarrow{Q}_1(\vec{k}) = \int_{z'=l}^{\infty} \overrightarrow{P}(\vec{k}, z') \exp[i\omega_0 z'] dz' \quad (2.22)$$

Em relação ao meio 2, se este for caracterizado por uma susceptibilidade χ , temos:

$$\overrightarrow{P}(\vec{r}) = \chi(\vec{r}) \overrightarrow{E}(\vec{r}) \quad (2.23)$$

e o campo incidente efetivo no meio 2 ($z < 0$) toma a forma:

$$\overrightarrow{E}'_0(\vec{k}, z) = \exp[-i\omega_0 z] \overrightarrow{E}'_0(\vec{k}) \quad (2.24)$$

$$\text{com } \overrightarrow{E}'_0(\vec{k}) = \overrightarrow{E}_0(\vec{k}) + \overleftrightarrow{g}_-(\vec{k}) \overrightarrow{Q}_2(\vec{k}) \quad (2.25)$$

$$\text{e } \overrightarrow{Q}_2(\vec{k}) = \int_{z'=0}^l \exp[i\omega_0 z'] \overrightarrow{P}(\vec{k}, z') dz' \quad (2.26)$$

Em (2.25), o primeiro termo corresponde ao campo que se propaga no "selvedge", proveniente de $z = +\infty$; o segundo termo se refere ao campo gerado pela polarização do "selvedge".

A resposta do meio a esse campo incidente é:

$$\overrightarrow{E}(\vec{k}, z) = \exp[-i\omega z] \overleftrightarrow{t}(\vec{k}) \overrightarrow{E}'_0(\vec{k}) \quad (z < 0) \quad (2.27)$$

onde a matriz $\overleftrightarrow{t}(\vec{k})$ envolve os coeficientes de Fresnel para a transmissão de luz polarizada s e p, e:

$$\omega = (\tilde{\omega} \epsilon - k^2)^{1/2}, \quad \epsilon = 1 + 4\pi\chi \quad (2.28)$$

Por sua vez, a contribuição da polarização do meio 2 para o campo elétrico no "selvedge" é dada por:

$$\exp[i\omega_0 z] \overleftrightarrow{r}(\vec{k}) \overrightarrow{E}'_0(\vec{k}) \quad (2.29)$$

onde a matriz $\overleftrightarrow{r}(\vec{k})$ envolve os coeficientes de reflexão de Fresnel para luz polarizada s e p.

Portanto, das equações (2.17), (2.22) e (2.27) temos, para o campo elétrico no "selvedge", a expressão final:

$$\vec{E}(\vec{k}, z) = \vec{E}_0(\vec{k}) \exp[-i\omega_0 z] + \exp[-i\omega_0 z] \vec{g}_-(\vec{k}) \vec{Q}_1(\vec{k}) + \quad (2.30)$$

$$+ \vec{r}(\vec{k}) \vec{E}'_0(\vec{k}) \exp[i\omega_0 z] + \int_{z'=0}^e \vec{G}(z - z') \cdot \vec{P}(\vec{k}, z') dz' \quad (0 < z < 1)$$

ou

$$\vec{E}(\vec{k}, z) = \vec{E}'_0(\vec{k}, z) + \exp[i\omega_0 z] \vec{r}(\vec{k}) \vec{g}_-(\vec{k}) \vec{Q}_2(\vec{k}) + \quad (2.31)$$

$$\exp[-i\omega_0 z] \vec{g}_-(\vec{k}) \vec{Q}_1(\vec{k}) + \int_{z'=0}^e \vec{G}(z - z') \vec{P}(\vec{k}, z') dz'$$

$$\text{com } \vec{E}'_0(\vec{k}, z) = \vec{E}_0(\vec{k}) \exp[-i\omega_0 z] + \vec{r}(\vec{k}) \vec{E}_0(\vec{k}) \exp[i\omega_0 z] \quad (2.32)$$

O primeiro termo de (2.30) dá o campo que se propaga no "selvedge", proveniente de $z=+\infty$; o segundo termo se deve à polarização do meio 1, enquanto o terceiro dá o campo devido à polarização do meio 2; o quarto termo corresponde à polarização do próprio "selvedge".

Introduzindo agora uma relação para polarização o campo elétrico no "selvedge", optamos pela forma mais simples:

$$\vec{P}(\vec{r}) = \chi_s(\vec{r}) \vec{E}(\vec{r}) \quad (0 < z < 1) \quad (2.33)$$

$$\text{onde } \chi_s(\vec{r}) = \chi_s b(\vec{r}), \quad b(\vec{r}) = 0, 1 \quad (2.34)$$

O valor da função $b(\vec{r})$ pode ser 0 ou 1 dependendo se tratamos, respectivamente, da região não preenchida por material, no "selvedge", ou da região ocupada.

As equações (2.30), (2.33) e (2.34) permitem determinar a polarização no "selvedge". Para isso, seria necessário procurar uma solução auto-consistente para a polarização.

Contudo, estamos interessados em analisar somente as características qualitativas do modelo de campos espalhados. Por isso, podemos considerar resultados padrões para a forma da polarização, baseados nos trabalhos sobre espalhamento de luz por superfícies rugosas [34-35].

Temos, então, que se não houvesse material na região do "selvedge", o campo elétrico nessa região seria $\vec{E}_s = \vec{E}_i + \overleftrightarrow{r} \cdot \vec{E}_i$, onde \vec{E}_i é o campo incidente e \overleftrightarrow{r} a matriz dos coeficientes de reflexão de Fresnel. Na menor ordem do parâmetro de expansão $1/\lambda$, a polarização em pontos do "selvedge" onde há material presente é dada por:

$$\vec{p} = \overleftrightarrow{\gamma} \cdot \vec{E}_i \quad (2.35)$$

onde o tensor resposta $\overleftrightarrow{\gamma} = \gamma_z \hat{z}\hat{z} + \gamma_t (\hat{x}\hat{x} + \hat{y}\hat{y})$ tem componentes γ_z e γ_t que são funções das constantes dielétricas dos meios envolvidos no problema. O tratamento feito por Sipe et al [26] para o cálculo da polarização resultou em correções nas expressões de γ_z e γ_t , como veremos mais adiante.

Construindo uma solução aproximada que leve em conta a forma da rugosidade superficial, notamos, primeiramente, que, exceto por sua variação no plano xy, $\vec{E}_i(\vec{r})$ [que é a transformada de Fourier de $\vec{E}_i(\vec{k}, z)$ - está no espaço real] pode ser tomado como uniforme sobre o "selvedge" no limite $\tilde{\omega} l \ll 1$ e $kl \ll 1$, ou seja, no limite de um "selvedge" de espessura muito menor que o comprimento de onda da radiação incidente e com k não muito grande. Assumimos, então, uma polarização do "selvedge" da forma:

$$\vec{P}_s(\vec{r}) = \vec{p}b(\vec{r}) \quad (2.36)$$

para pontos no "selvedge", onde \vec{p} é o vetor dado por (2.35) e que acompanha a variação de $\vec{E}_i(\vec{r})$ no plano xy.

Adotamos ainda um modelo para a rugosidade superficial mostrado na figura 2.3 e dado por:

$$b(\vec{r}) = b(\vec{\rho}) \quad (2.37)$$

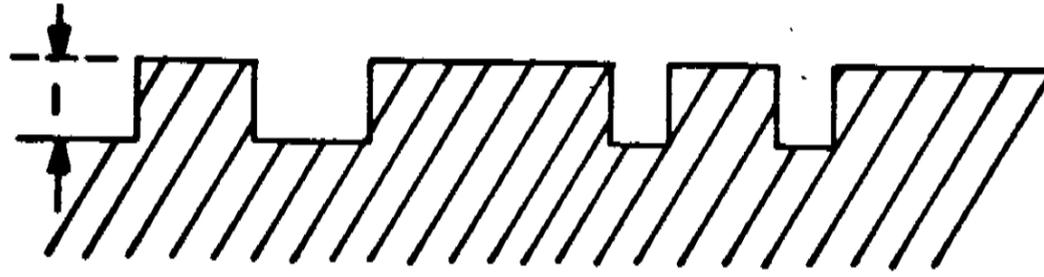


Figura 2.3 - Modelo simples para a rugosidade superficial.

Considerando l_t como um comprimento de correlação transversal, ou seja, o comprimento de correlação da rugosidade no plano xy , temos que o resultado padrão para o tensor resposta no limite $l_t/l \gg 1$ (no caso, para uma interface vácuo-material tipo lâmina) é [26]:

$$4\pi\gamma_z = (\epsilon - 1)/\epsilon \quad e \quad 4\pi\gamma_t = \epsilon - 1 \quad (2.38)$$

Sipe et al [26] estenderam este tratamento para considerar correções de campo local que são importantes quando $l_t/l \lesssim 1$. Ainda no caso de uma interface rugosa vácuo-material com o meio 2 com a mesma constante dielétrica do "selvedge", porém no limite $l_t/l \lesssim 1$, temos:

$$4\pi\gamma_z = (\epsilon - 1) (\epsilon - (1 - F)(\epsilon - 1) [a(s) + Ra_I(s)])^{-1},$$

$$4\pi\gamma_t = (\epsilon - 1) (1 + (1/2)(1 - F)(\epsilon - 1) [a(s) - Ra_I(s)])^{-1} \quad (2.39)$$

onde $s = l_t/l$, $R = (\epsilon - 1)/(\epsilon + 1)$, $F = \langle b(\vec{\rho}) \rangle$ é a fração do "selvedge" preenchida por material (fator de preenchimento) e:

$$a(s) = (s^2 + 1)^{1/2} - s,$$

$$a_I(s) = (1/2) [(s^2 + 4)^{1/2} + s] - (s^2 + 1)^{1/2} \quad (2.40)$$

Pela concordância dos resultados acima citados com as medidas experimentais [27], vemos que a expressão da polarização dada por (2.35) e (2.36) é adequada ao problema por nós encarado. Não estamos

interessados na forma exata das componentes do tensor $\overleftrightarrow{\gamma}$ mas somente no que a existência do "selvedge" pode acarretar, pela sua polarização, quando da incidência de radiação eletromagnética.

Uma vez que a polarização no "selvedge" é conhecida, o campo por ela gerado no meio 2 é facilmente determinado pela expressão (2.17). Esse campo interfere com o campo refratado usual (ordem zero) levando à deposição inhomogênea de energia.

Olhamos agora mais atentamente como se dá essa deposição inhomogênea de energia nas proximidades do plano $z=0$. Das equações (2.35), (2.36) e (2.37), temos:

$$\vec{P}(\vec{\rho}) = b(\vec{\rho}) \overleftrightarrow{\gamma} \cdot \vec{E}_i(\vec{\rho}) \quad (2.41)$$

onde $\overleftrightarrow{\gamma} = \gamma_z \hat{z}\hat{z} + \gamma_t (\hat{x}\hat{x} + \hat{y}\hat{y})$

$$\text{e } \vec{E}_i(\vec{\rho}) = \vec{E}_i \exp[i\vec{K}_i \cdot \vec{\rho}] \quad (2.42)$$

Aqui \vec{K}_i é a componente do vetor de onda incidente no "selvedge" paralelo à superfície e:

$$\vec{E}_i = [U + r(K_i)] \cdot \vec{E}_0 \quad (2.43)$$

é obtido da equação (2.32), dentro dos limites $k \ll 1$ e $\tilde{\omega} \ll 1$, sendo U o tensor unitário. Assumimos uma onda plana por simplicidade (ou seja, onda com coerência temporal - monocromaticidade - perfeita). Consideramos, primeiramente, apenas uma componente de Fourier da função de rugosidade $b(\vec{k})$ e colocamos:

$$b(\vec{\rho}) = b(\vec{k}) \exp[i\vec{k} \cdot \vec{\rho}] + b^*(\vec{k}) \exp[-i\vec{k} \cdot \vec{\rho}] \quad (2.44)$$

em (2.41). Juntamente com as equações (2.42), obtemos:

$$\vec{Q}_2(\vec{\rho}) = \vec{Q}_+ \exp[i\vec{k}_+ \cdot \vec{\rho}] + \vec{Q}_- \exp[i\vec{k}_- \cdot \vec{\rho}] \quad (2.45)$$

com $\vec{Q}_+ = b(\vec{k}) \overleftrightarrow{\gamma} \cdot \vec{E}_i$

$$\text{e } \vec{Q}_- = b^*(\vec{k}) \overleftrightarrow{\gamma} \cdot \vec{E}_i, \quad \vec{k}_\pm = \vec{K}_i \pm \vec{k} \quad (2.46)$$

da equação para $\vec{Q}_2(\vec{k})$, dada na expressão (2.26), tomada no limite

$$\omega l \ll 1, \quad kl \ll 1.$$

Das equações (2.25), (2.26) e (2.27), juntamente com (2.45), podemos achar o campo elétrico no meio 2:

$$\vec{E}(\vec{r}) = \vec{E}^{(0)}(\vec{r}) + \vec{E}^{(1)}(\vec{r}) \quad (2.47)$$

onde

$$\begin{aligned} \vec{E}^{(0)}(\vec{r}) &= \vec{t}(\vec{K}_i) \vec{E}_0 \exp[i\vec{K}_i \cdot \vec{\rho}] \exp[-i\omega(\vec{K}_i)z] \\ &\equiv \vec{E}_t \exp[i\vec{K}_i \cdot \vec{\rho}] \exp[-i\omega(\vec{K}_i)z] \end{aligned} \quad (2.48)$$

é o feixe refratado que estaria presente sem o "selvedge", e:

$$\begin{aligned} \vec{E}^{(1)}(\vec{r}) &= \vec{E}_+ \exp[i\vec{k}_+ \cdot \vec{\rho}] \exp[-i\omega(\vec{k}_+)z] + \\ &+ \vec{E}_- \exp[i\vec{k}_- \cdot \vec{\rho}] \exp[i\omega(\vec{k}_-)z] \end{aligned} \quad (2.49)$$

é o campo do "selvedge", onde:

$$\vec{E}_\pm = \vec{t}(\vec{k}_\pm) \cdot \vec{g}_\pm(\vec{k}_\pm) \vec{Q}_\pm = 2\pi \tilde{\omega} \vec{h}(\vec{k}_\pm) \vec{Q}_\pm \quad (2.50)$$

A energia disponível para absorção é proporcional a $A(\vec{r}) = |\vec{E}(\vec{r})|^2$. Assumindo que o campo do "selvedge" é uma pequena perturbação, tomamos $|\vec{E}^{(1)}| \ll |\vec{E}^{(0)}|$ e:

$$A(\vec{r}) \simeq 2 \operatorname{Re}[\vec{E}^{(0)*}(\vec{r}) \cdot \vec{E}^{(1)}(\vec{r})] \quad (2.51)$$

é a parte inhomogênea de $A(\vec{r})$. Em $z=0^-$, esta se reduz a:

$$A(\vec{\rho}) = 4\pi \tilde{\omega} \operatorname{Re}(b(\vec{k}) [v(\vec{k}_+) + v^*(\vec{k}_-)] \exp[i\vec{k} \cdot \vec{\rho}]) \quad (2.52)$$

$$\text{onde } v(\vec{k}_\pm) \equiv \vec{E}_t^* \vec{h}(\vec{k}_\pm) \cdot \vec{E}_i \quad (2.53)$$

De (2.52) temos, então, que o módulo de $A(\vec{\rho})$ é proporcional a $|b(\vec{k}) [v(\vec{k}_+) + v^*(\vec{k}_-)]|$. Para uma soma dos vários componentes de Fourier da rugosidade, obtemos:

$$A(\vec{k}) \propto \eta(\vec{k}, \vec{K}_i) |b(\vec{k})| \quad (2.54)$$

onde a função resposta que descreve a eficiência para a deposição inhomogênea na superfície em \vec{k} , devido ao feixe incidente caracterizado por \vec{K}_i , é dado por:

$$\eta(\vec{k}, \vec{K}_i) = 2\pi |v(\vec{k}_+) + v^*(\vec{k}_-)| \quad (2.55)$$

enquanto $b(\vec{k})$ é a medida da amplitude da rugosidade superficial em \vec{k} . A função $\eta(\vec{k}, \vec{K}_i)$ é responsável pela modulação da intensidade na região $z=0$. Estudos feitos por Sipe et al [26] sobre as funções $h(\vec{k}_\pm)$ envolvidas no problema mostram que estas têm comportamento suave em quase todo o intervalo considerado, mas possuem máximos locais em valores de \vec{k} que satisfazem:

$$|\vec{K}_i \pm \vec{k}| = \tilde{\omega} \quad (2.56.a) \quad \text{e} \quad |\vec{K}_i \pm \vec{k}| = \tilde{\omega} n \quad (2.56.b)$$

onde a equação (2.56.a) é válida para materiais com grandes índices de refração, enquanto a (2.56.b) se aplica a materiais com $n \approx 1$. Isto está de acordo com os resultados experimentais obtidos com materiais diversos, não-biológicos, com diferentes constantes dielétricas e, portanto, diferentes índices de refração [27]. Na teoria proposta por Sipe et al [26], assume-se que ocorre dano nos pontos onde a deposição inhomogênea é maior, ou seja, nos pontos de máximo da função $\eta(\vec{k}, \vec{K}_i)$. Nesses locais, para intensidades incidentes no material suficientemente altas, pode ocorrer a fusão que levará então ao aparecimento das estruturas espacialmente periódicas observadas experimentalmente na superfície dos materiais irradiados.

Com relação ao interesse de nosso trabalho, vemos que o fenômeno físico de deposição inhomogênea de energia em superfícies com micro-rugosidades depende exclusivamente do termo inhomogêneo da intensidade dado por (2.51). Da equação (1.29), vemos que a intensidade associada a esta distribuição de campo elétrico pode ser expressa em função da parte real do grau complexo de coerência entre os campos elétricos $\vec{E}^{(0)}(\vec{r})$ e $\vec{E}^{(1)}(\vec{r})$. Se houver correlação entre os dois campos, esse termo será diferente de zero, produzindo os efeitos físicos descritos anteriormente. Se a correlação entre eles for nula, temos que

$|\gamma_{12}(\theta)| \rightarrow 0$ e a distribuição de intensidade será aproximadamente constante sobre a superfície considerada.

No capítulo seguinte, levantamos alguns aspectos sobre superfícies biológicas (membranas celulares). Consideramos viável a existência de fenômenos físicos como os descritos neste capítulo em material biológico, uma vez que, como veremos a seguir, as superfícies celulares se adaptam ao modelo de superfície considerado.

CAPÍTULO 3:

MEMBRANAS BIOLÓGICAS

O conceito de membrana biológica evoluiu bastante com o desenvolvimento e uso de novos métodos para estudos morfológicos e químicos. Aceita-se, atualmente, que uma biomembrana é um arranjo ordenado de moléculas de proteínas, fosfolípides e colesterol, com aproximadamente 10 nm de espessura. É interessante notar que, por suas dimensões, as biomembranas ocupam uma escala no espaço-tempo muito grande para se tratar quanticamente e muito pequena para a aplicação da mecânica contínua.

Os lípides encontrados na membrana variam com a espécie. A membrana do eritrócito humano (célula vermelha do sangue) está bem caracterizada e serve como exemplo. Aproximadamente 99% dos lípides é colesterol ou um dos fosfolípides; destes, a maioria é de fosfoglicérides, que são moléculas assimétricas de forma alongada. Há um grupo polar num extremo e uma cadeia de hidrocarbonos no outro. O grupo polar é estável quando em contato com moléculas de água, também polares. Tais grupos são chamados hidrofílicos. As cadeias de hidrocarbonos são instáveis quando associadas com água e, assim, são chamadas hidrófobas. A molécula como um todo é chamada anfipática.

As características físicas das moléculas lípides da membrana produzem efeitos que são fatores centrais na estrutura da membrana. Estes efeitos são amplamente revelados no comportamento de monocamadas dessas moléculas, um arranjo tridimensional com a espessura de uma mo-

lécua e que se pode formar, por exemplo, quando os lípidos são espalhados numa interface ar-água. As cabeças polares se associam com a água e as caudas hidrófobas se orientam lado a lado na direção do ar, ficando mais ou menos em ângulo reto com a superfície. Essa monocamada pode sofrer compressão lateral até que a conformação de um grupo de moléculas ocupe uma área mínima. Gorter e Grendel (1925) [38] mediram essa área mínima para lípidos extraídos de células vermelhas sanguíneas e encontraram que esta era aproximadamente o dobro da área da membrana da célula. Concluíram, então, que os lípidos, na membrana celular, estão arranjados em estruturas de bicamadas, ou seja, camadas com espessura de duas moléculas.

Posteriormente, Davson e Danielli (1943) [38] sugeriram que esta bicamada lipídica era estabilizada por uma fina camada de proteínas de cada lado da bicamada (modelo "sanduíche"). A idéia de que a barreira essencial ao movimento de substâncias através da membrana celular é uma camada lipídica recebeu corroboração da observação que substâncias lipo-solúveis penetravam mais facilmente na membrana que substâncias não lipo-solúveis.

Tornou-se claro, nos últimos anos, que a maioria das proteínas intrínsecas da membrana celular penetram a bicamada lipídica, não estando simplesmente espalhadas ao longo de seus planos polares. Vários fatores dão evidência disso: a tensão superficial aparente numa interface água-membrana não é inteiramente consistente com uma interface água-proteína; algumas membranas não incluem lípidos suficientes para a área observada se o lípido está na forma de bicamada. Além desses fatores, o aparecimento da técnica de "freeze-etching", ou criofratura, permitiu a confirmação morfológica dessa hipótese. Esse pro-

cesso começa pelo congelamento da amostra, que é então quebrada de forma a expor duas superfícies. Um metal pesado, geralmente ouro ou platina, é aplicado por evaporação de forma a recobrir os contornos das superfícies. Esta é, então, coberta com carbono, normalmente, e a réplica resultante, solta da amostra original é examinada no microscópio eletrônico. A variação na deposição do metal pesado produz diferenças na opacidade aos elétrons que correspondem ao contorno ao longo da superfície. Uma das dificuldades desse método é eliminar a presença da água, que, por se expandir durante a fase de congelamento, poderia ser responsável pelo aspecto rugoso da superfície observado no microscópio eletrônico. Para tanto, mostramos, na figura 3.1, duas imagens, obtidas pelo processo de "freeze-etching", que se referem às superfícies hidrófobas da biomembrana. Vemos, então, mesmo onde a presença da água é reduzida, que as superfícies lisas das monocamadas lipídicas são interrompidas por projeções, dando às superfícies um aspecto rugoso.

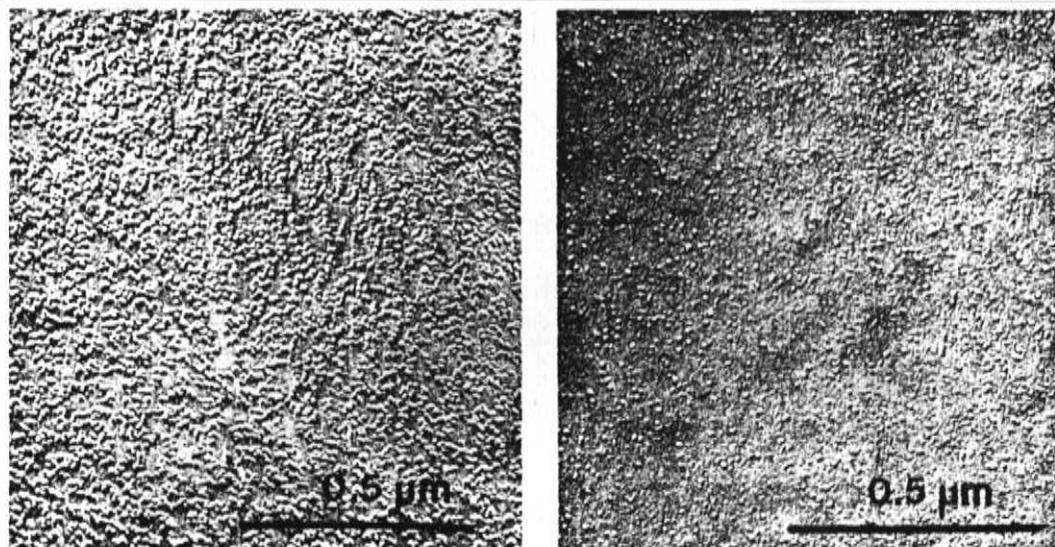


Figura 3.1 - Imagens obtidas pelo processo de criofratura das superfícies hidrófobas das monocamadas interna - face citoplasmática - (esquerda) e externa - face extracelular (direita) [38].

Pequenas partículas são vistas se projetando de ambas as faces, especialmente do interior. Há fortes evidências que estas partículas sejam moléculas de proteínas. Por exemplo, o tratamento de membranas que remove as proteínas intrínsecas também reduz o número de partículas visualizadas pela técnica de criofratura. Singer e Nicolson (1972) [38] sugeriram então que as partes não polares dessas moléculas de proteínas estão embebidas no ambiente não polar formado pelas cadeias de hidrocarbonos das moléculas lipídicas, enquanto suas seções polares se projetam da membrana no ambiente polar proporcionado pelo meio aquoso em cada lado da membrana (figura 3.2).

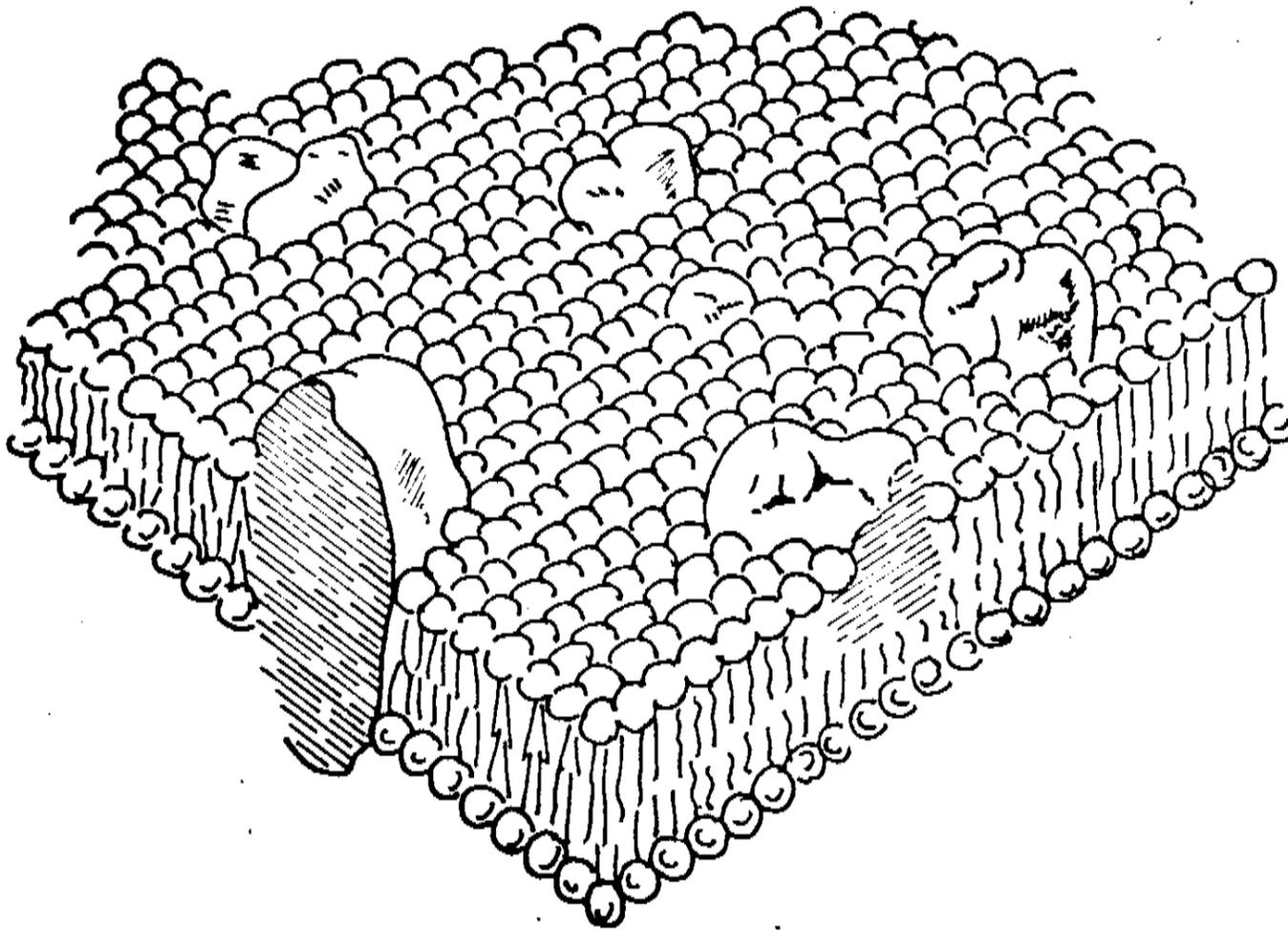


Figura 3.2.a - Modelo tridimensional para biomembrana proposto por Singer e Nicolson.

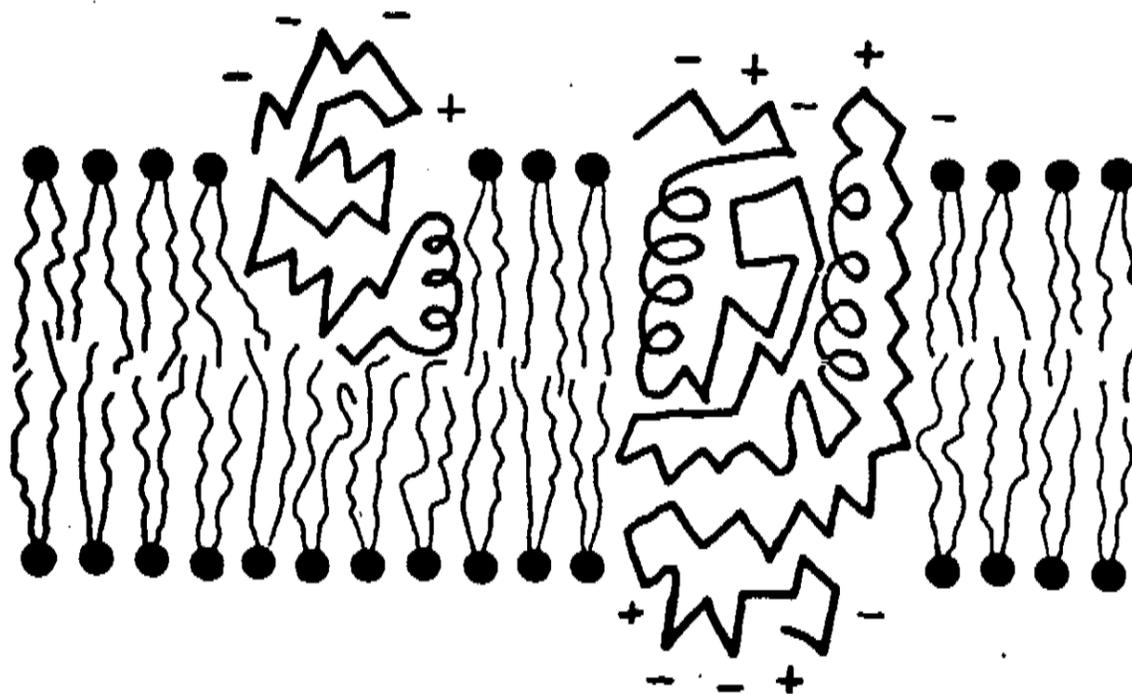


Figura 3.2.b - Esquema do modelo para biomembrana proposto por Singer e Nicolson.

Singer e Nicolson viram a membrana como um mosaico onde uma variedade de moléculas de proteínas têm diferentes funções. Há evidência que algumas dessas moléculas são capazes de se mover no plano da membrana, e, assim, a estrutura mostrada na figura 3.2 tornou-se conhecida como o modelo do mosaico fluido. Para o nosso trabalho, convém salientar aqui que, de acordo com esse modelo, o mais aceito atualmente, uma biomembrana pode ser considerada, do ponto de vista morfológico, como uma superfície dotada de micro-rugosidades.

Quanto à fisiologia da célula, é importante notar que algumas das moléculas de proteína da membrana podem agir como sítios específicos onde substâncias específicas podem se ligar temporariamente ou serem transportadas através da membrana. Estes sítios localizados podem realizar, então, transporte ativo, isto é, com gasto de energia metabólica da célula - quebra de ATP, através da membrana. Uma das "bombas" desse tipo mais estudadas é a bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$. Certas proteínas fazem o transporte acoplado de Na^+ para o exterior e K^+ para o interior da célula. As experiências mostram que, para cada 3 íons Na^+ que saem da célula, 2 íons K^+ entram. Assim, a bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ é eletrogênica, contribuindo fortemente para o aparecimento de uma diferença de potencial através da membrana celular. Essa ddp é conhecida como potencial de repouso (entre 60 e 100 mV) e se deve, assim, a gradientes eletroquímicos existentes entre o lado intra e extracelular, no equilíbrio. Além da bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, existem outros mecanismos semelhantes para outros tipos de íons. Essas "bombas" são responsáveis, então, pela própria funcionabilidade da célula, pois controlam a permeabilidade da membrana. Associadas aos processos de difusão e osmose, são os canais de entrada para as substâncias necessárias à manutenção

da célula, ao mesmo tempo que exportam os produtos resultantes de seu metabolismo.

Apesar dessas "bombas" terem sido constatadas nas chamadas células excitáveis (neurônios e fibras musculares), evidências mais recentes mostram que o bombeamento de Na^+ existe também em células de tecidos não-excitáveis [42]. Assim, pode-se esperar que a teoria de Hodgkin-Huxley de geração e propagação de potenciais elétricos nas membranas de células excitáveis [39] se aplique também a outros tipos de células. Nessa teoria, basicamente, temos uma região de instabilidade elétrica na membrana. Se o potencial de repouso, por alguma razão, alcança um valor limiar, surge um potencial de ação (figura 3.3): há uma despolarização da membrana, seguida de uma repolarização, após 2 a 3 msec. Pode ocorrer também uma pequena hiperpolarização. O potencial de ação (PA) se propaga, então, pela fibra nervosa ou muscular, sem atenuação. É regenerado por meio de correntes que fluem da região ativa para a região de repouso despolarizando esta última e causando a propagação do PA. Na região ativa, a despolarização associada ao PA muda as condutâncias do Na^+ e do K^+ , alterando assim a permeabilidade de equilíbrio da membrana celular e, conseqüentemente, o estado fisiológico da célula (figura 3.4).

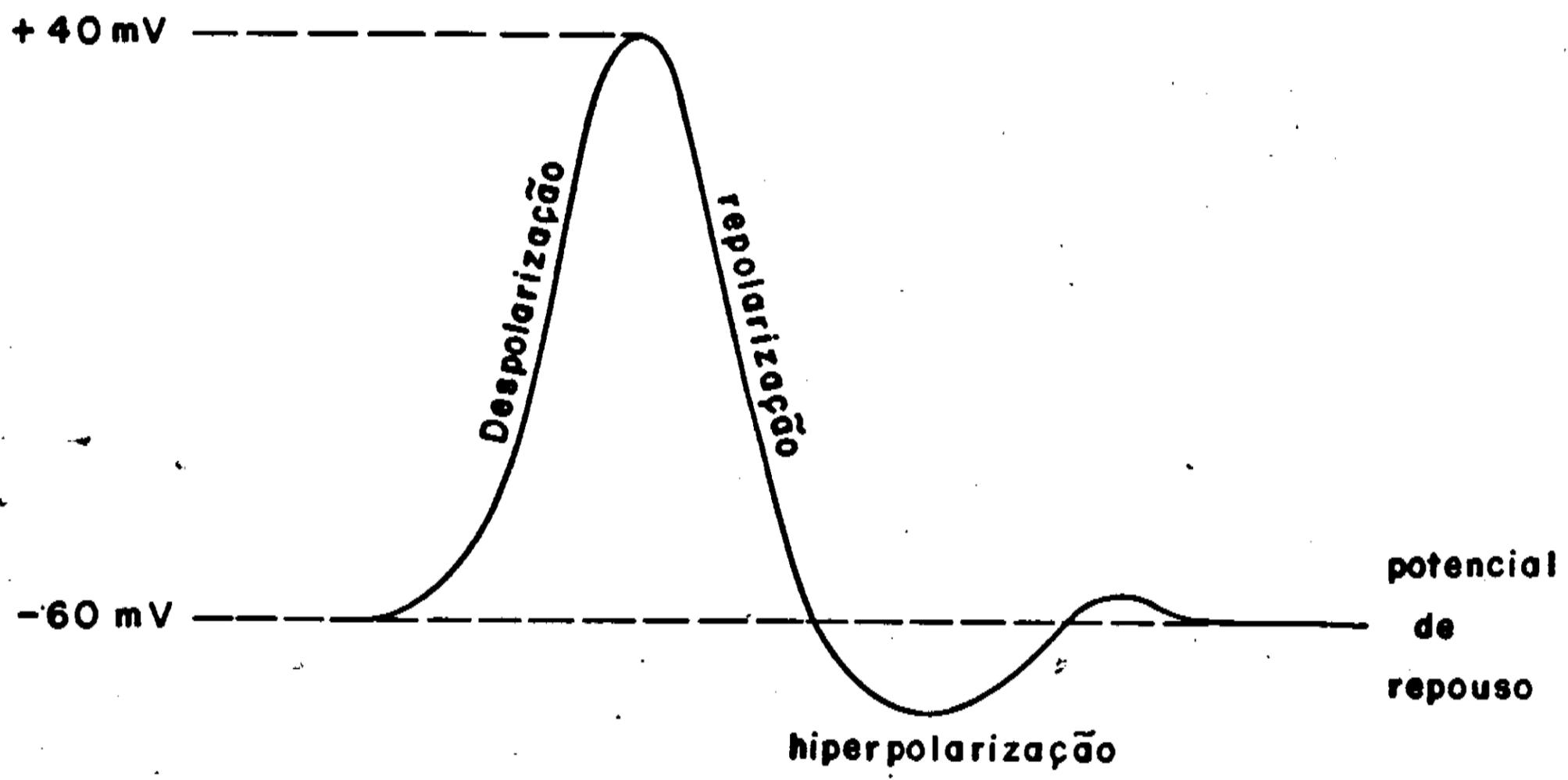


Figura 3.3 - Fases do potencial de ação.

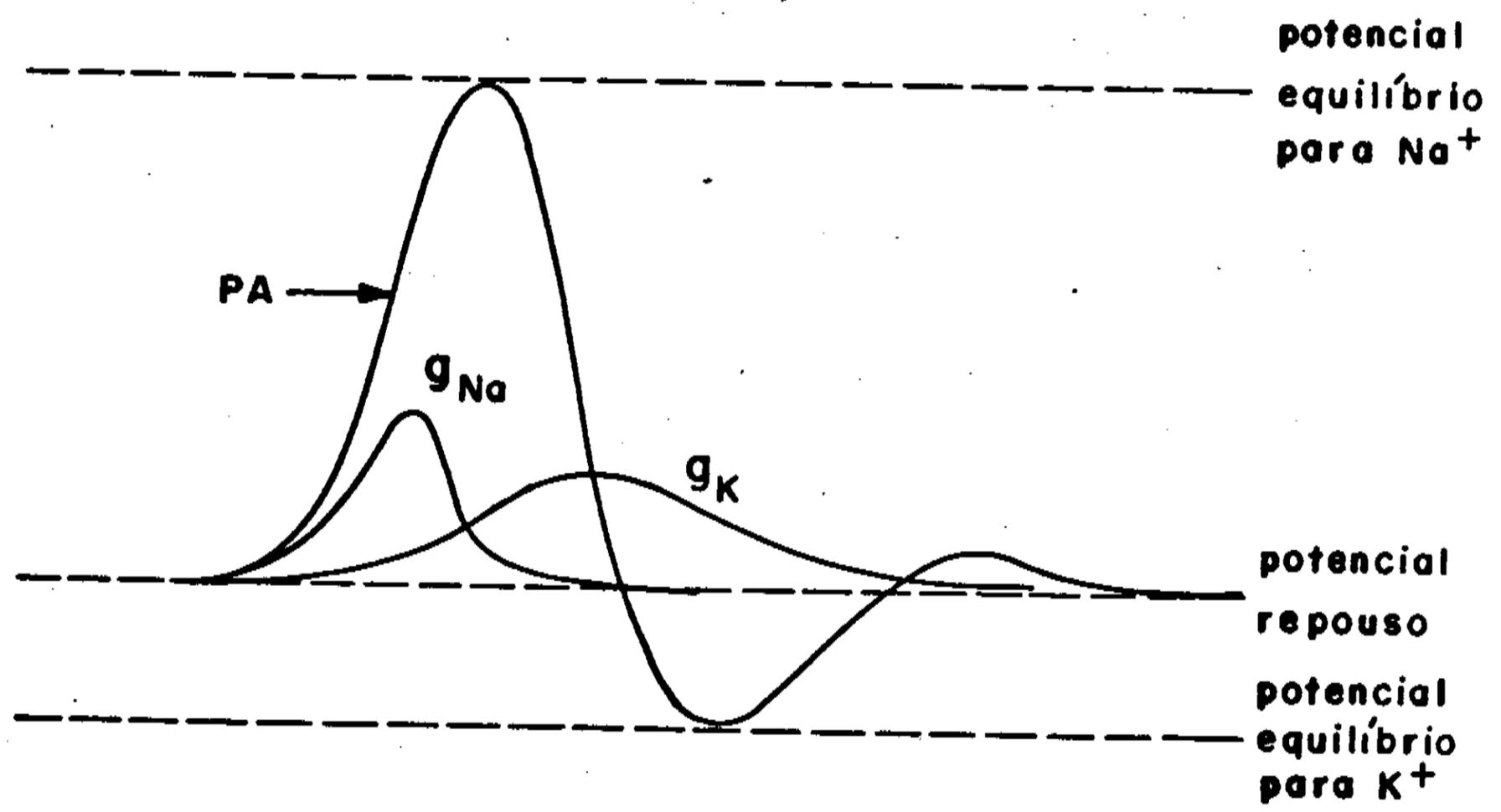


Figura 3.4 - Alteração das condutâncias de Na^+ e K^+ durante o potencial de ação.

Estuda-se, atualmente, se fenômenos semelhantes podem ser observados também em células não-excitáveis. Não é nosso intuito aprofundarmo-nos nesta discussão. Apenas queremos, dessa forma, salientar a importância de campos elétricos aplicados a uma membrana, pois estes podem interferir de alguma forma no controle elétrico natural exercido pela célula.

De um modo geral, trata-se uma biomembrana como um cabo condutor de propriedades elétricas bem definidas. Apresenta capacitância de aproximadamente $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$; sua resistividade varia de membrana para membrana, sendo, contudo, da ordem de $\text{k}\Omega/\text{cm}^2$; o valor de sua constante dielétrica ϵ está entre 2 e 3 (a constante dielétrica do líquido adjacente tem valor próximo a 80). Trabalhos mais recentes [36-37] tem levado em conta a influência da rugosidade nos parâmetros elétricos de membranas de bicamadas lipídicas.

Outra característica importante é o fato da biomembrana estar sujeita a um campo elétrico da ordem de 10^7 V/m , valor próximo ao campo elétrico associado ao feixe laser. Este último pode ser obtido fazendo-se um cálculo simples para o módulo do campo elétrico associado a uma densidade de energia de $1 \text{ J}/\text{cm}^2$, que é o valor por nós utilizado experimentalmente.

Este conjunto de características, associado a trabalhos de outros pesquisadores, nos levou a relacionar os efeitos não térmicos observados com o uso de lasers de baixa potência à alterações na permeabilidade da membrana celular. No próximo capítulo pretendemos dar idéias de como pode se processar esse tipo de interação.

CAPÍTULO 4:**MODELO FÍSICO TENTATIVO PARA OS EFEITOS NÃO-TÉRMICOS**

Nosso objetivo, como apresentamos no início desta dissertação, é o de dar idéias físicas sobre fenômenos observados no campo da biologia e/ou medicina. Obviamente não nos compete explicar como se processa esse fenômeno, pois, para que isto aconteça ainda é necessário ampliar muito nosso conhecimento dentro da biofísica. Pouco se conhece sobre o estímulo, controle e regulação de diversos fenômenos biológicos. Um exemplo disso é a base da pesquisa em câncer: apesar de conhecido o processo de divisão celular, ainda não se sabe o que estimula e controla este processo, ou seja, que tipo de sinal faz com que uma célula comece a se dividir, e o que a faz parar.

Estudando os efeitos não-térmicos da radiação laser, vemos que um dos principais, mais observados até agora, é o de aceleração da cicatrização de lesões, o que implica numa aceleração de processos de divisão celular. Vemos, assim, que estamos lidando com um conjunto de fenômenos biológicos ainda não totalmente explicados pela própria biologia. Nesses casos, o primeiro passo na pesquisa consiste em delimitar quais são os parâmetros importantes envolvidos direta e/ou indiretamente no problema, e como podem ser relacionados.

Por isto, nesse trabalho, dentro da hipótese levantada inicialmente, pretendemos testar a importância da coerência da radiação laser na ocorrência de efeitos não térmicos. Na introdução, citamos trabalhos da literatura especializada que nos levaram a este tipo de

hipótese, enquanto nos capítulos anteriores tratamos independentemente do efeito físico produzido por radiação coerente sobre uma superfície rugosa ideal, e da descrição de uma superfície biológica sob o ponto de vista de seus parâmetros físicos macroscópicos, como sua constante dielétrica, e microscópicos, como sua rugosidade. Ressaltamos ainda a importância de campos elétricos localizados na funcionabilidade da célula. A tentativa de explicar fenômenos observados por vários autores, além de nós mesmos, na ação de lasers de baixa potência sobre tecidos vivos depende de como podemos relacionar tais conclusões, obtidas independentemente, numa forma adequada, dentro das características em comum exibidas pelos sistemas analisados. Temos que:

- 1 - a radiação coerente provoca efeitos diferentes dos produzidos por radiação não coerente em superfícies rugosas;
- 2 - as superfícies de membranas celulares apresentam micro-rugosidades
- 3 - a funcionabilidade de algumas células - comprovadamente, a célula nervosa e a muscular - é regida por fenômenos elétricos que ocorrem a nível da membrana celular.

Baseados nesses aspectos, podemos supor que radiação coerente sobre uma célula pode causar efeitos diferentes dos provocados por radiação não coerente. Com base em alguns trabalhos de outros autores [8] e num trabalho elaborado pela Faculdade de Ciências Médicas/UNICAMP, supomos também que a radiação coerente provoque alterações a nível de potencial de membrana. Este último trabalho citado, realizado por pesquisadores ligados ao Departamento de Otorrinolaringologia da FCM/UNICAMP, consistiu no tratamento de faringites crônicas inespecíficas com laser de CO_2 , usando densidades de energia de 0.4 a 0.6 J/cm^2 , dentro, portanto, do intervalo utilizado na literatura e abaixo

da mínima dose reativa - que é a menor densidade de energia, tabelada para os diversos tipos de tecidos e lasers, capaz de provocar uma reação térmica detectável (por exemplo, hiperemia) na região irradiada [40]. Foram obtidos bons resultados na cura dessa patologia com o uso do laser. Isto, além de aumentar o número de efeitos biológicos relacionados à aplicação de lasers de baixa potência, nos levou também a pensar se este efeito não estaria relacionado a alterações na permeabilidade da membrana celular, uma vez que a faringite se resume, essencialmente, a uma alteração na permeabilidade vascular da área afetada. Dada a estreita relação entre esta e o potencial de membrana, temos então base circunstancial para nossa hipótese. O potencial elétrico da membrana está também relacionado ao processo de divisão celular, como mostra o trabalho de C.D.Cone [42].

Avançando um pouco em nossas suposições, podemos considerar que, se um padrão de interferência como o descrito no capítulo 2 para o caso de uma superfície rugosa ocorrer numa membrana celular, teremos regiões dessa membrana sujeitas a um campo elétrico oscilante com mesma magnitude que o campo natural da própria célula, enquanto outras regiões estarão sujeitas a valores de campo elétrico próximos a zero. No entanto, se os efeitos observados se devem à presença do campo elétrico, ou à diferença na intensidade da radiação entre diversas regiões da célula - considerando então a absorção, é algo que se encontra muitos passos à frente de nossa pesquisa e qualquer afirmação neste sentido se aproximaria de mera especulação.

É interessante notar ainda que, por tratarmos de material biológico, o efeito da radiação, ou de outros tipos de agentes físicos, não ocorre necessariamente apenas na região onde esta incide. A

comunicação entre células é bem conhecida, como por exemplo a de espécie química que ocorre na sinapse, ou a inibição da divisão celular pelo contato entre as células [41]. Isto pode explicar porque observamos efeitos semelhantes para comprimentos de onda com graus de absorção pelo tecido diferentes, ou seja, com grau de transmissão variável pelos tecidos atingidos. Pode também se relacionar ao fato da coerência da radiação transmitida no tecido diminuir, devido a múltiplos espalhamentos.

Qualquer tentativa de aprofundar esta discussão a fim de se montar uma teoria plausível para a explicação dos efeitos observados esbarraria numa série de problemas, principalmente do ponto de vista experimental. A nível dos diferentes grupos envolvidos na realização do trabalho experimental relatado no próximo capítulo, ainda não é possível a medida de possíveis modificações de potencial de membrana produzidas pela irradiação laser. Assim, qualquer teoria levantada aqui, que não teria plena validade sem comprovação experimental adequada, somente viria engrossar o rol de teorias sobre processos celulares. Por outro lado, a elaboração de uma teoria desse tipo exigiria um grau de aprofundamento na área da biologia maior que o desejável para um trabalho na área de física.

Assim, o procedimento experimental adotado visou, basicamente, a verificar a validade de considerarmos relevante, nos processos biológicos considerados, a coerência da radiação incidente num tecido vivo. Esse seria o primeiro passo de uma série de experimentos que podem ser realizados, posteriormente, para verificar nossas suposições. Vamos nos dedicar, então, à descrição do trabalho experimental, bem como dos resultados obtidos, tarefa esta que será realizada no restan-

te desta dissertação.

CAPÍTULO 5:

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Dentro das limitações impostas por um trabalho interdisciplinar, onde a estrutura envolvida no suporte da área experimental de nosso trabalho requer participação da Medicina, objetivamos um teste simples para nossa hipótese, ou seja, da relevância da coerência nos processos biológicos considerados.

Estudando a literatura conseguida nas áreas de biologia e medicina sobre os efeitos não-térmicos, fizemos uma análise das características em comum destes trabalhos. Assim, notamos que o tipo de efeito macroscópico mais estudado e observado por diversos pesquisadores é o de aceleração da cicatrização de lesões provocadas artificialmente na pele de animais [5-7], ou em lesões cutâneas de pacientes, em estudos clínicos [2-4]. Desse modo, resolvemos escolher um animal de experimentação, provocar a lesão e irradiá-la com fontes de luz com grau de coerência distinto, acompanhando então a evolução do processo cicatricial com registro fotográfico.

5.1 - FONTES DE LUZ

O primeiro passo consistiu em determinar quais fontes seriam envolvidas no problema. Uma delas já estava previamente determinada: um laser de He-Ne, não-polarizado, tanto devido ao alto grau de coerência da radiação emitida bem como pelo fato de ser amplamente utilizado em estudos de efeitos não-térmicos, de acordo com a literatura obtida.

Quanto à outra fonte, pensamos inicialmente em usar uma lâmpada associada a um monocromador, limitando a radiação num intervalo de comprimento de onda próximo ao do laser de He-Ne. No entanto, trabalhos utilizando esse tipo de equipamento já haviam sido realizados em culturas de células [10-13]. Optamos, portanto, pelo uso do mesmo laser de He-Ne, acoplado a um dispositivo ótico que diminuísse seu grau de coerência. Este consistiu num disco de vidro fosco colocado em movimento à frente do feixe laser. Conforme discutimos no capítulo 1, este dispositivo afeta a coerência da luz laser, transformando-o numa fonte de luz quase-térmica. Para a obtenção do vidro fosco, consideramos dois processos: corrosão por ácido e jateamento de areia. Este último se revelou mais eficiente. Jateamos um disco de vidro com $\phi = 100$ mm, com grãos de areia com dimensões da ordem de μm . Acoplamos o disco a um motor, alimentado por fonte DC, que permitiu sua rotação. Por meio de luz estroboscópica, detectamos 2400 rpm para o conjunto disco-motor, na velocidade por nós escolhida mediante a observação dos padrões de interferência. Isto implicou numa velocidade angular $\omega \approx 251$ Hz e velocidade escalar para o ponto onde incide o feixe

laser de aproximadamente 8.8 m/s (a distância deste ponto ao eixo de rotação é de 35 mm).

Para se estimar o grau de coerência da luz obtida nesse tipo de montagem, fizemos um levantamento fotográfico dos padrões de interferência obtidos com o vidro fosco parado e em movimento. Com o vidro parado (velocidade de rotação zero), observa-se (fig. 5.1) um padrão de "speckle", onde as regiões de contraste claro-escuro mostram que a luz ainda mantém seu grau de coerência original, ou seja, apesar de defasados, os componentes que formam a onda ótica guardam uma relação de fase entre si fixa no tempo, sendo portanto coerentes. Com o vidro em movimento (para as condições citadas acima), o padrão torna-se bem mais impreciso; as zonas de contraste intenso desaparecem, e a luz resultante é a de uma fonte de luz quase-térmica. Este padrão encontra-se na figura 5.2. Nestes registros foram utilizadas duas lentes, como no esquema da fig. 5.3.b. As fotos foram obtidas com o uso de uma máquina PENTAX, sem o conjunto de lentes de focalização. Utilizamos filme ASA 32, com tempo de exposição para a fotografia de 1/500 s.

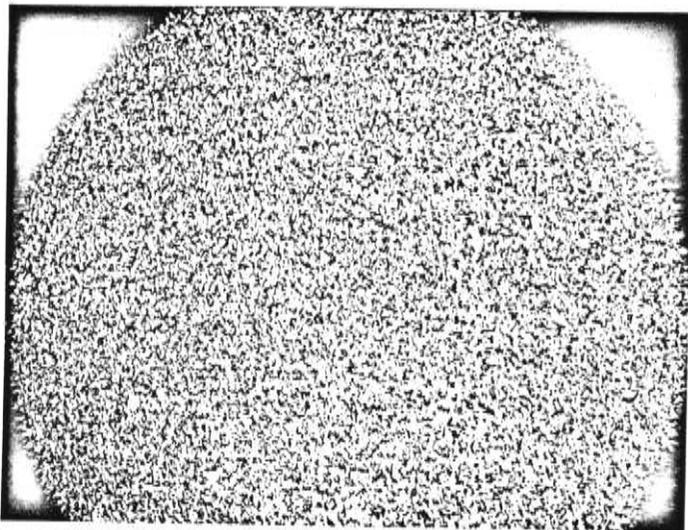


Figura 5.1 - Fotografia do padrão de interferência com o vidro fosco parado.

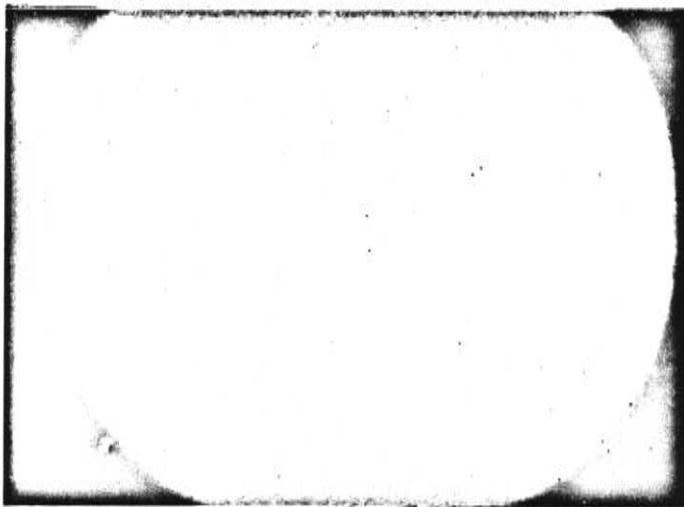


Figura 5.2 - Fotografia do padrão de interferência com o vidro fosco em movimento.

Assim, para a posterior irradiação das lesões, fizemos a seguinte montagem:

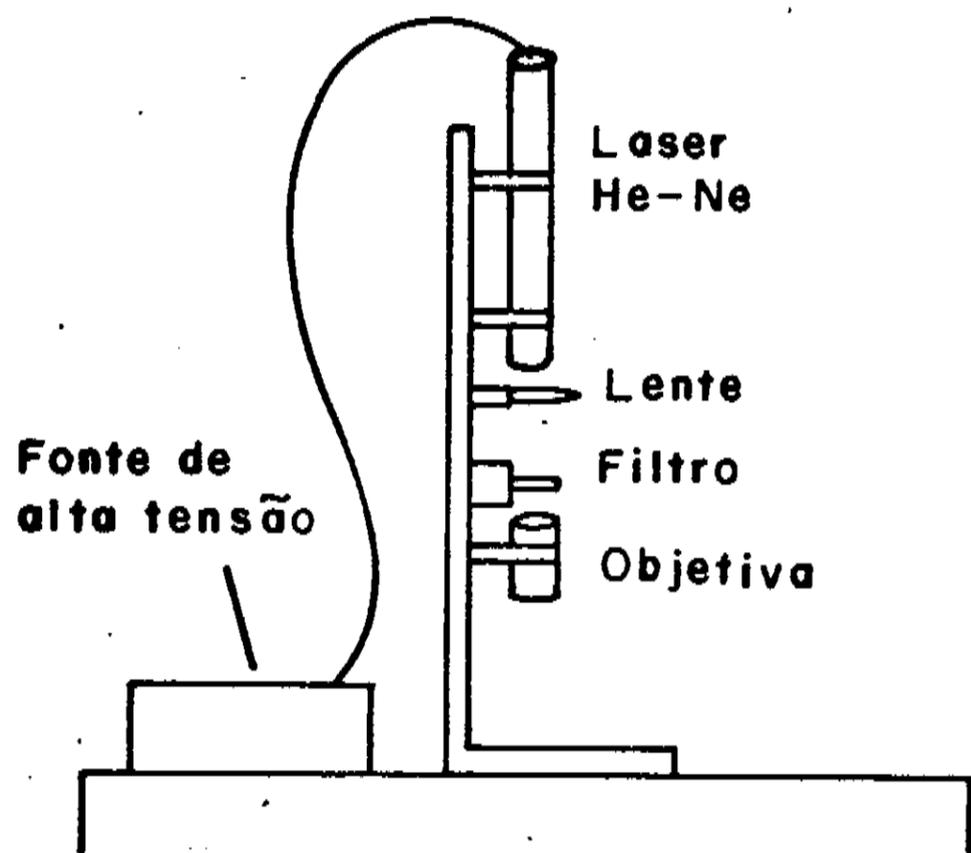


Fig. 5.3.a - Radiação coerente (laser)

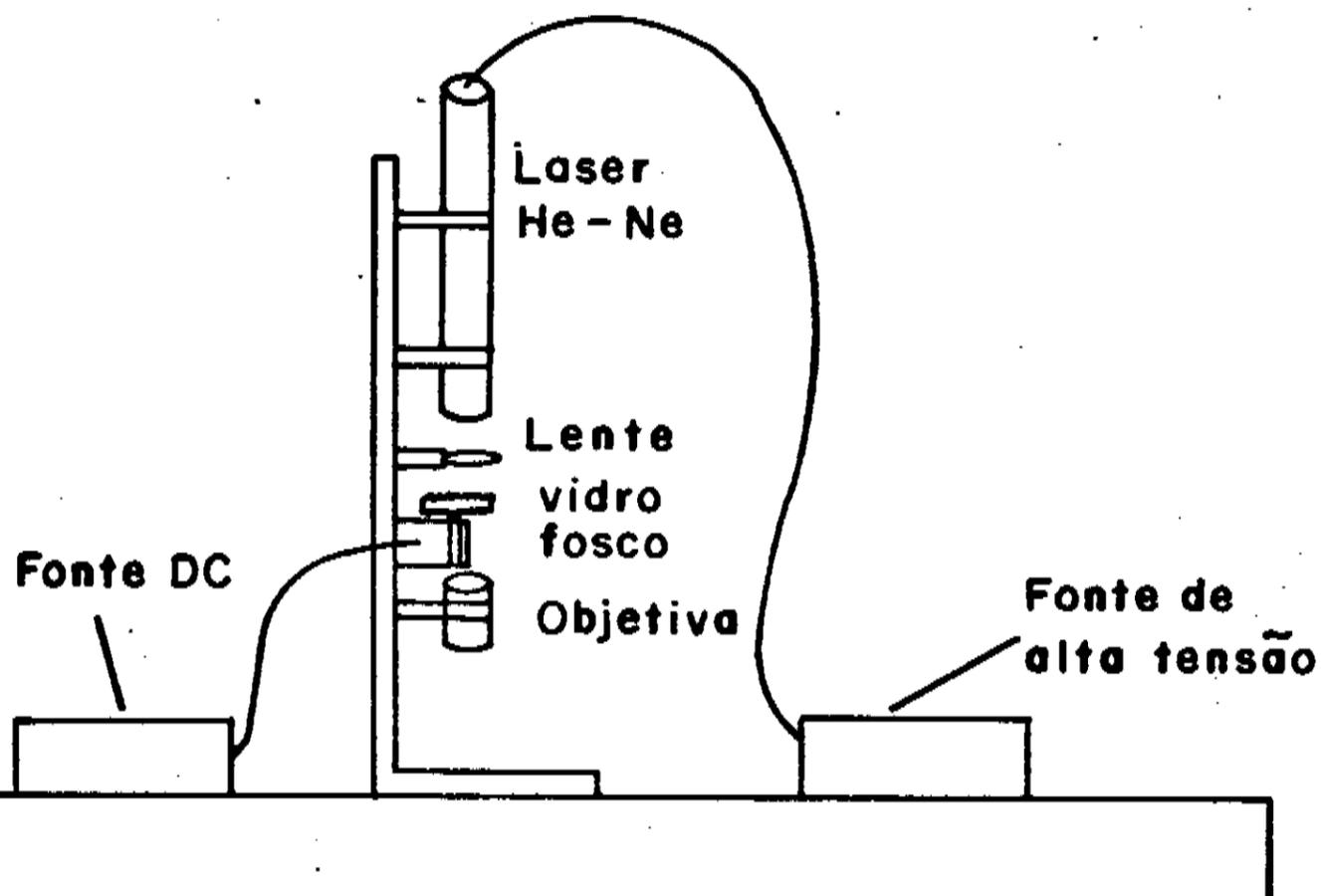


Fig. 5.3.b - Radiação laser com grau de coerência diminuído pelo uso do vidro fosco em movimento.

Utilizamos um laser de He-Ne, potência de saída 6.6 mW, luz não polarizada. A montagem foi feita na vertical para que fosse possível a irradiação de animais anestesiados, que não podem ser colocados na vertical devido à ocorrência de depressão respiratória.

Fez-se necessário que a potência de saída após o sistema de lentes da objetiva fosse aproximadamente igual em ambas as montagens, para que o tempo de exposição das lesões dos animais à radiação de ambas as montagens fosse o mesmo. Embora a potência de saída do laser fosse de 6.6 mW, o uso do vidro fosco fez com que essa potência, no caso da montagem da fig. 5.3.b, caísse para aproximadamente 0.6 mW após a objetiva. Essa diminuição de cerca de 10 vezes na potência exigiu o uso de um filtro de densidade neutra nº 1 na montagem mostrada na fig. 5.3.a. Desse modo, fizemos uma montagem fixa para o laser, a lente e a objetiva, à qual se podia acoplar tanto o suporte do motor com o vidro fosco, obtendo-se a montagem da fig. 5.3.b, como o suporte para o filtro, para a montagem da fig. 5.3.a.

5.2 - DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS BIOLÓGICOS

Na área médico-biológica, a primeira providência foi a de escolher o animal a ser utilizado. A escolha recaiu sobre o rato, tanto pela facilidade de obtenção, como pelo fato de grande parte dos trabalhos de outros pesquisadores na área médica utilizar este animal.

O trabalho foi desenvolvido, dentro da FCM/UNICAMP, nas dependências do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental. Lá foram obtidos ratos Wistar, nos quais seriam criadas lesões para posterior irradiação.

Assim, o segundo passo consistiu na criação e padronização das lesões. Decidiu-se criar uma lesão inflamatória, semelhante à gerada na faringite crônica, que serviu de base para trabalho anterior, nessa área, da FCM/UNICAMP, e que foi comentado no capítulo 4. Vários agentes químicos e físicos foram testados para a criação de lesões no dorso do rato, após conveniente tricotomia e anestesia: tri-cloro acético, nitrato de prata (estes dois em concentrações variadas), escamação e corte por bisturi, e queimadura com N_2 líquido. Este último método foi o que apresentou melhores resultados, com a vantagem de não interferir na bioquímica do tecido animal, o que aconteceria com o uso de agentes químicos.

Padronizamos a lesão pela aplicação de N_2 líquido, no animal anestesiado, por 5 segundos, duas vezes consecutivas, com intervalo de tempo de 5 minutos entre elas. A aplicação foi repetida por 3 dias consecutivos, sendo a primeira irradiação feita após a última aplicação de N_2 líquido.

A área da lesão, determinada pela área do recipiente em contato com a pele do animal, é circular com diâmetro $\phi = 0.6$ cm. A padronização foi confirmada por biópsias levadas ao Departamento de Patologia da FCM/UNICAMP, que determinou, por meio de exames histológicos, o alto grau de repetibilidade na obtenção das lesões.

Além de determinar a forma de criação da lesão, acompanhamos também sua evolução natural, isto é, o processo natural de cicatrização da lesão, para posterior comparação com as lesões irradiadas. Assim, podemos afirmar que a lesão provocada é um processo superficial e que não deixa maiores sequelas: num período de 2 meses o dorso do rato, onde são criadas as lesões, encontra-se perfeitamente recomposto.

Tomados todos os procedimentos relatados acima passamos então à fase de irradiação e acompanhamento da cicatrização das lesões provocadas.

5.3 - IRRADIAÇÃO DAS LESÕES E RESULTADOS

Baseados na literatura, optamos por uma série de 4 irradiações, aplicadas até duas vezes por semana, utilizando densidade de energia de 1 J/cm^2 . Para uma lesão circular, $\phi = 6 \text{ mm}$, e potências de luz incidente na lesão de 0.6 mW , temos um tempo de exposição de aproximadamente 8 min 20 seg. Como dissemos na seção 5.1, o motivo da colocação do filtro de densidade neutra à frente do feixe laser (montagem da fig. 5.3.a) é, então, fazer com que o tempo de exposição da lesão às duas fontes de luz utilizadas seja o mesmo. Isto porque alterar o tempo de exposição significa alterar outro parâmetro, além da coerência, e principalmente num sistema biológico isto pode mascarar o resultado.

Feitas estas considerações, partimos para a irradiação de um animal piloto, em cujo dorso foram provocadas 4 lesões por N_2 líquido, dentro do esquema referido na seção 5.2. As lesões foram criadas na região próxima às patas dianteiras, onde evidenciamos menor formação de crostas. Um esquema das lesões está mostrado na fig. 5.4.

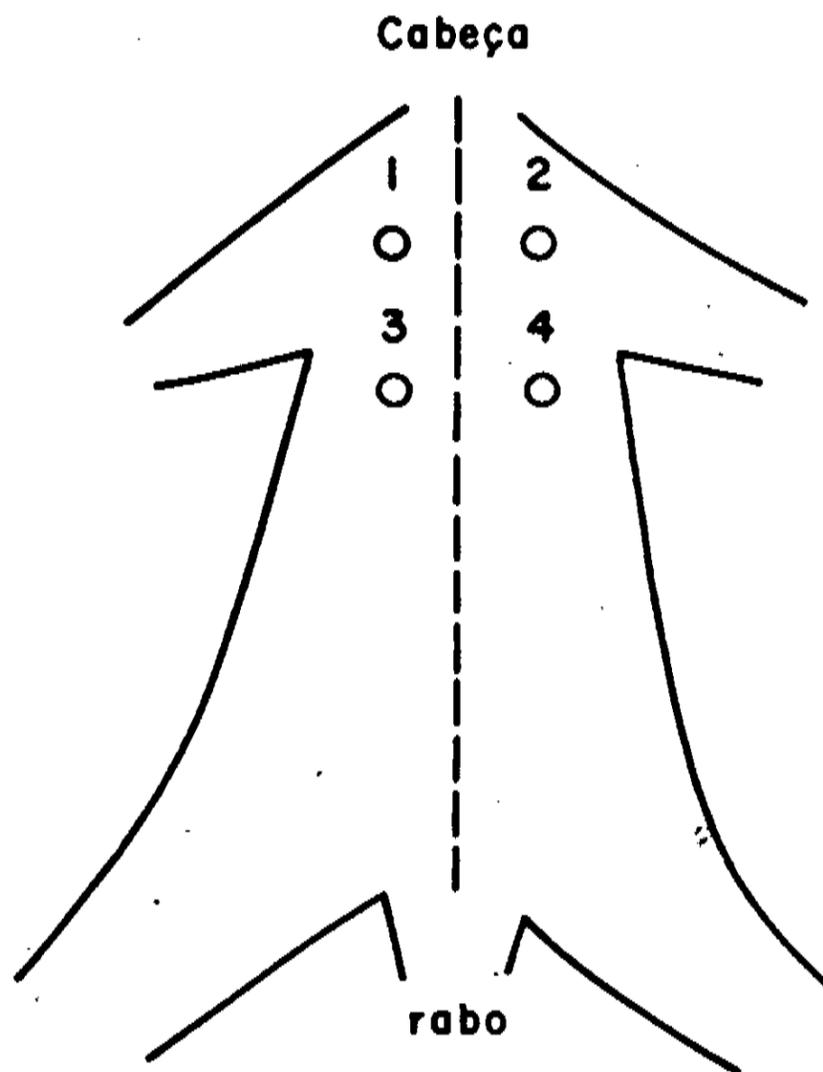


Figura 5.4 - Esquema das lesões criadas com N_2 líquido no animal piloto.

A irradiação foi feita na seguinte ordem:

Lesão nº 1 - 4 irradiações com laser de He-Ne, 8 min 20 seg cada uma
(densidade de energia = 1 J/cm^2)

Lesão nº 3 - lesão controle da lesão nº 1

Lesão nº 2 - 4 irradiações com laser de He-Ne com grau de coerência
diminuído, 8 min 20 seg cada uma (densidade de energia =
 1 J/cm^2)

Lesão nº 4 - lesão controle da lesão nº 2

Ao final da sequência de 4 irradiações, a lesão nº 1 encontrava-se totalmente cicatrizada (a cicatrização total foi alcançada 3 dias após a terceira irradiação). A lesão nº 2 ainda apresentava cros-

ta em aproximadamente 1/3 de sua área original. As lesões controle nº 3 e 4 diferiam entre si. A lesão nº 3 apresentava grau de evolução mais adiantado em relação à lesão nº 4, que estava dentro dos padrões por nós determinados da evolução natural das lesões. Desse animal notamos então que, apesar da lesão irradiada com laser ter evoluído mais depressa, a lesão nº 2 também apresentou aceleração em relação ao seu controle. Observamos também que o controle nº 3 poderia ter sido influenciado pela irradiação; assim, resolvemos mudar a localização da lesão controle e usar apenas uma, ao invés de duas, como neste piloto.

Mais dois animais serviram para nossa amostragem, pois perdemos vários devido a motivos explicados mais adiante. Nestes, as lesões foram criadas de acordo com os esquemas das figuras 5.5 e 5.6:

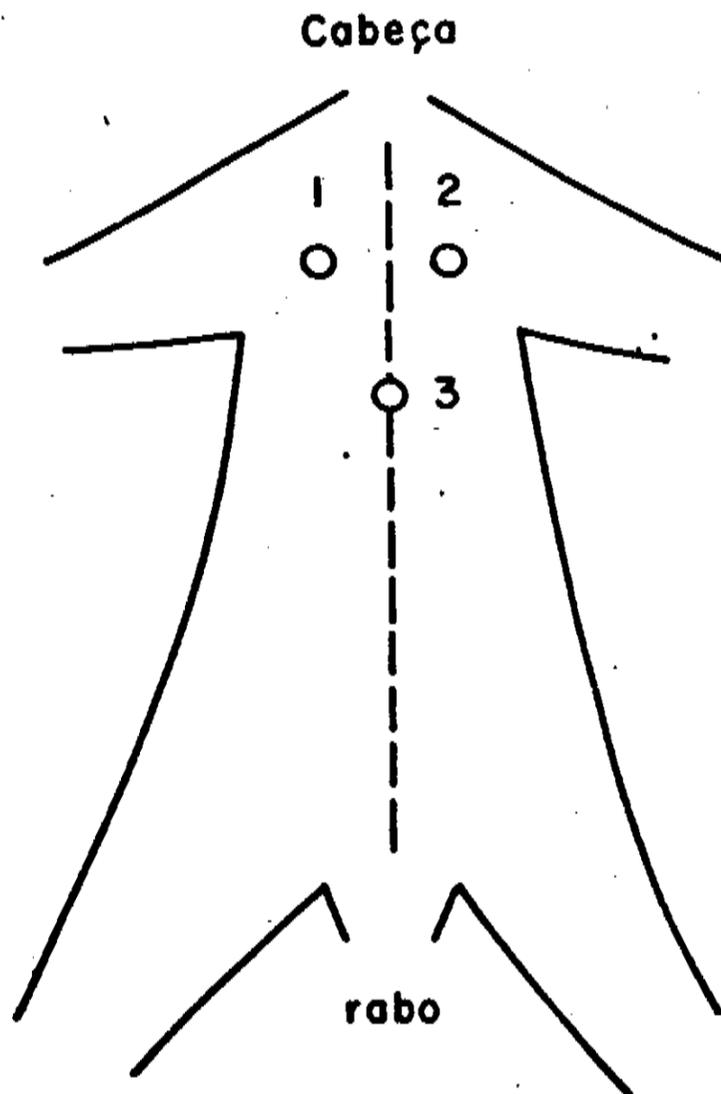


Fig. 5.5 - Animal com lesões irradiadas:

Lesão nº 3 - 4 irradiações com laser de He-Ne com grau de

coerência diminuído; 8 min 20 seg cada uma
(densidade de energia = 1 J/cm^2)

Lesão nº 2 - 4 irradiações com laser do He-Ne; 8 min 20 seg
cada uma (densidade de energia = 1 J/cm^2)

Lesão nº 1 - controle (não irradiada)

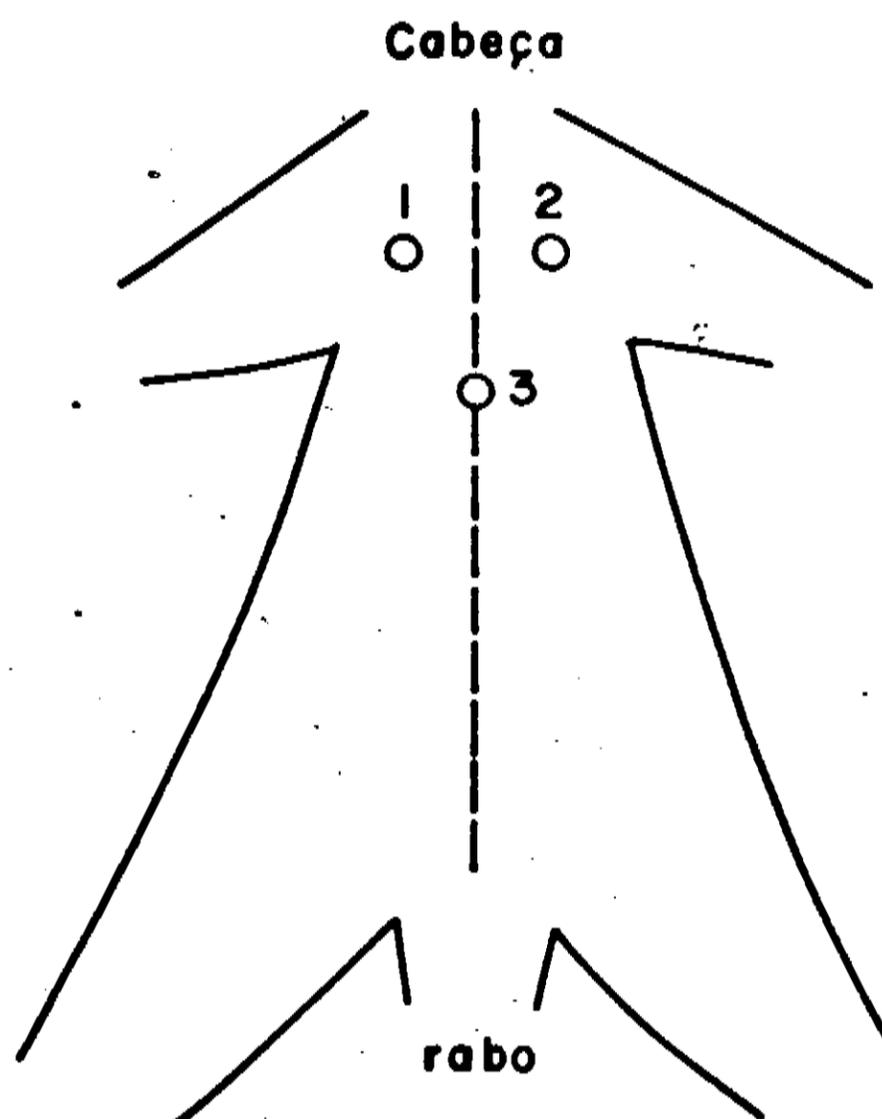


Fig. 5.6 - Animal com lesões irradiadas:

Lesão nº 1 - 4 irradiações com laser do He-Ne; 8 min 20 seg
cada uma (densidade de energia = 1 J/cm^2)

Lesão nº 2 - 4 irradiações com laser de He-Ne com grau de
coerência diminuído; 8 min 20 seg cada uma
(densidade de energia = 1 J/cm^2)

Lesão nº 3 - controle (não irradiada)

Nestes dois animais foram observadas evoluções semelhantes ao

do animal piloto. No animal retratado na fig. 5.6, contudo, a quarta irradiação não chegou a ser completada, pois o animal morreu por excesso de anestesia. Apesar disso, pudemos notar que a lesão irradiada com laser (nº 1) apresentava área bem menor que a de nº 2. Além disso, notamos que, em todos os animais, ambas as lesões irradiadas apresentavam aceleração da cicatrização em relação ao controle, não irradiado.

É importante salientar aqui que a dificuldade envolvida num estudo com animais é muito grande; muitos fatores estão além do controle do laboratório. Alguns deles, que encontramos no decorrer de nosso trabalho, são:

- animais (ratos) com dermatite de contato (sarna), que causa lesões na pele, tirando os animais de nossos padrões para a criação da lesão a ser irradiada;
- animais com maior sensibilidade à anestesia (éter) que outros; isto ocasionou a perda de vários deles durante o experimento, pois os animais ficavam anestesiados cerca de meia hora consecutiva por vários dias, durante um período de 3 semanas, em média. Isto também exigiu um número mínimo de lesões por animal, para que o tempo de anestesia fosse o menor possível, implicando num menor aproveitamento dos animais;
- em alguns animais, a tricotomia não resistia tempo suficiente para a observação da evolução das lesões, obrigando-nos a desconsiderar o animal.

Por todos estes fatores, e considerando também que este trabalho está sendo feito na área de física, achamos suficiente, em comum acordo com os médicos que acompanharam o trabalho, os resultados obti-

dos com estes três animais. Estes resultados se mostraram favoráveis ao prosseguimento do trabalho, utilizando, porém, um maior número de animais e métodos mais elaborados para o acompanhamento da evolução da lesão (entre estes, métodos bioquímicos que poderão rastrear melhor a interação da radiação com o tecido animal e dar, portanto, informações sobre o "status" da célula antes e depois de irradiada). Este procedimento, por ser de área estritamente biológica, deverá ser realizado por aluno de pós-graduação da FCM/UNICAMP, cabendo o acompanhamento dos resultados a físicos do IFGW/UNICAMP, para posterior avaliação conjunta do modelo teórico esboçado neste trabalho.

5.4 - REGISTROS FOTOGRÁFICOS

Nesta seção, apresentamos algumas das fotografias tiradas para o acompanhamento do trabalho experimental. Estas fotos, originalmente "slides", foram batidas por fotógrafo da seção de Audio-visual da FCM/UNICAMP.

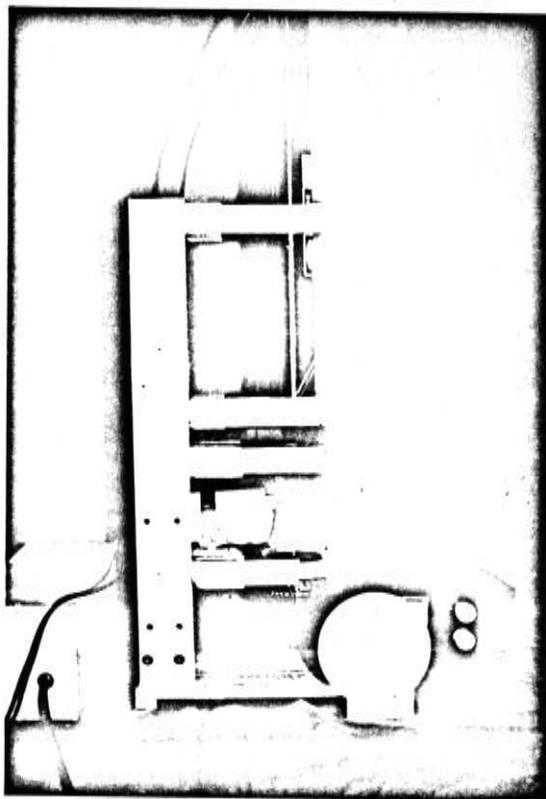


Figura 5.7 - Montagem utilizada para a irradiação dos animais. No suporte vertical, encontra-se o filtro (cf. fig. 5.3.a). Aparecem na foto também a fonte de alta tensão para alimentação do laser (esquerda) e o suporte motor-vidro fosco, bem como a fonte DC que alimenta o motor (direita).



Figura 5.8 - Animal anestesiado, preso à mesa e tricotomizado, estando, portanto, preparado para a criação de lesões.



Figura 5.9 - Aspecto da lesão logo após a primeira aplicação de N_2 líquido.



Figura 5.10 - Aspecto das lesões após a terceira aplicação de N_2 líquido.

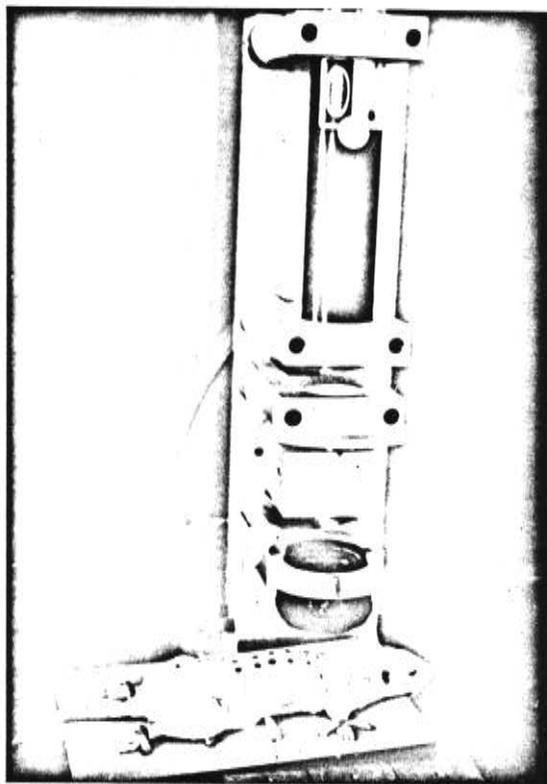


Figura 5.11 - Irradiação das lesões, num animal teste - em que só foi feita uma aplicação - com radiação do laser com grau de coerência diminuído (cf. fig. 5.3.b).

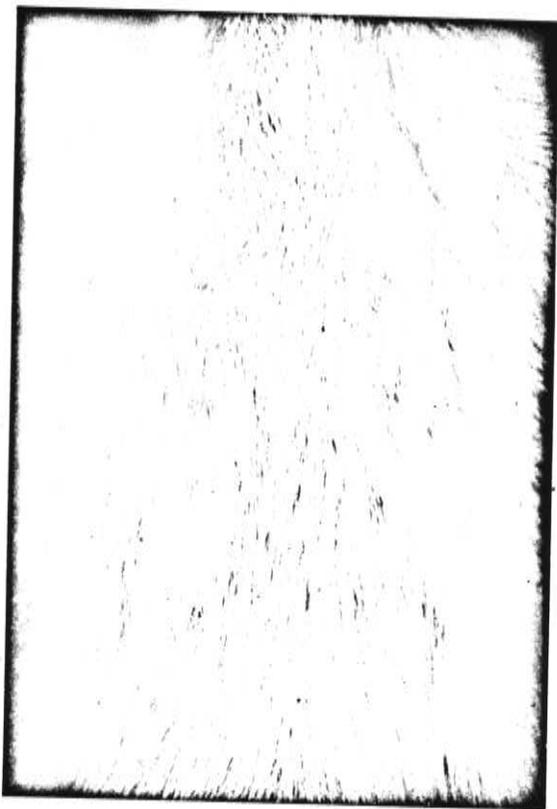


Figura 5.12 - Aspecto das lesões cerca de 1 mês após sua criação no dorso do animal.



Figura 5.13 - Aspecto das lesões cerca de 2 meses após sua criação: o dorso do rato encontra-se completamente reconstituído.

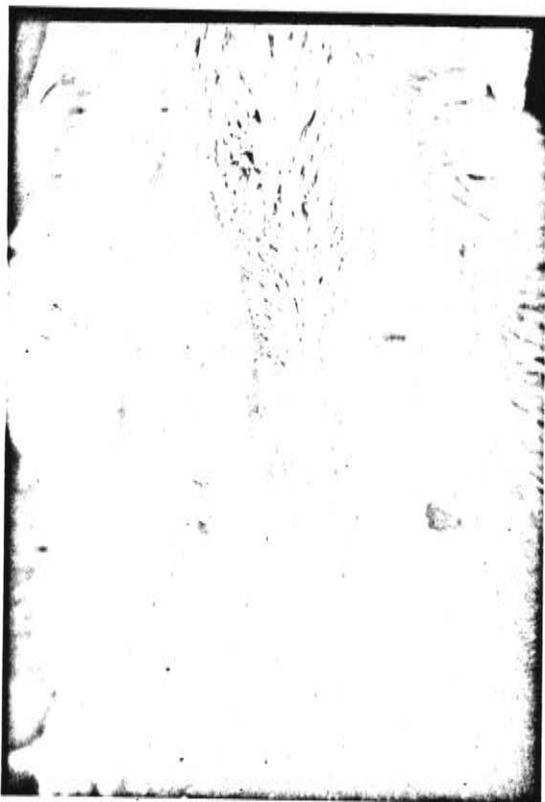


Figura 5.14 - Aspecto das lesões no animal piloto (cf. fig. 5.4) 2 dias após a quarta irradiação das lesões.

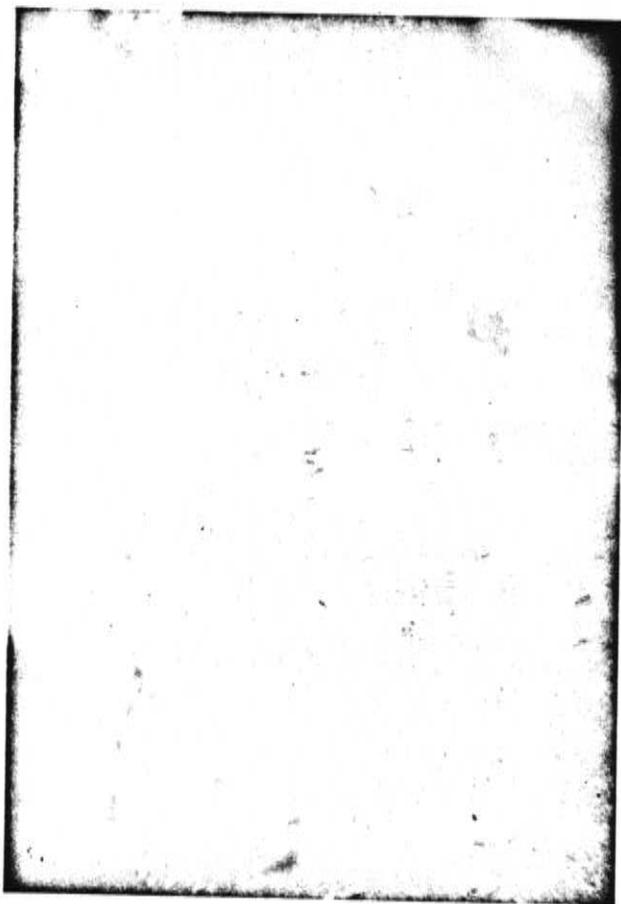


Figura 5.15 - Aspecto das lesões, no animal esquematizado na fig. 5.5, após a terceira aplicação de N_2 líquido e antes da primeira irradiação.

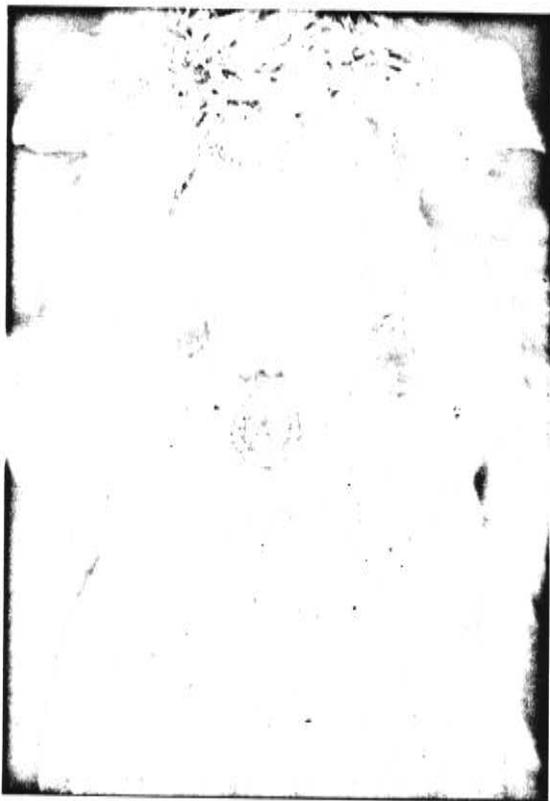


Figura 5.16 - Aspecto das lesões, no animal esquematizado na fig. 5.5, momentos antes da segunda irradiação.

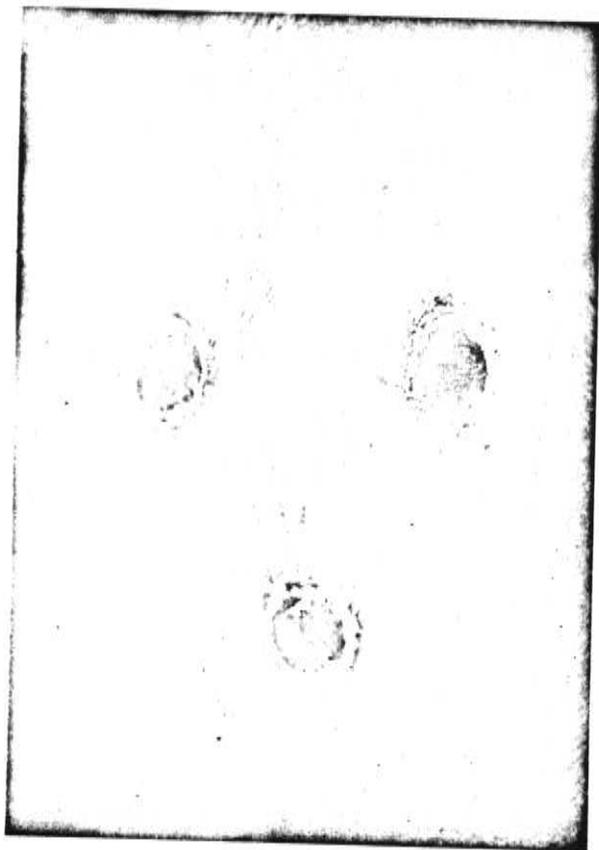


Figura 5.17 - Aspecto das lesões, no animal esquematizado na fig. 5.5, momentos antes da terceira irradiação.



Figura 5.18 - Aspecto das lesões, no animal esquematizado na fig. 5.5, momentos antes da quarta irradiação.



Figura 5.19 - Aspecto das lesões, no animal esquematizado na fig. 5.5, 3 dias após a quarta irradiação das lesões. Nota-se a lesão irradiada com luz laser completamente cicatrizada.

CONCLUSÕES E COMENTÁRIOS

O caráter interdisciplinar desta monografia impossibilita uma apresentação de conclusões na forma convencional. Porém, os resultados obtidos com animais, descritos no capítulo 5, são animadores para o prosseguimento de pesquisas relacionadas ao estudo de efeitos não-térmicos. Embora ainda seja necessário percorrer um longo caminho para se afirmar conclusivamente a importância da coerência nos processos biológicos considerados demos aqui o primeiro passo que dará suporte a pesquisas mais detalhadas e específicas no que diz respeito à área médica.

Nossos resultados parecem apontar também para o fato dos fenômenos não-térmicos não se relacionarem somente à propriedade de coerência da luz laser. As lesões irradiadas com fonte quase-térmica, obtida pelo difusor em movimento, apresentam aceleração na cicatrização se comparadas às lesões não-irradiadas. Este é um ponto a ser explorado nas próximas etapas desta pesquisa, pois não o encontramos relatado em nenhum outro trabalho anterior. Outro dado importante foi mostrado numa referência recentemente obtida [13], que trata da comparação dos efeitos laser x luz térmica considerando também a polarização, apesar dos trabalhos na área médica não se preocuparem com este aspecto, usando luz não polarizada. Consta que, com luz térmica polarizada, Mester e seus colaboradores conseguiram 80% dos resultados obtidos com linfócitos com laser de He-Ne polarizado, enquanto luz não polarizada não resultou em efeito aparente. Estes dados mostram, mais uma vez, que ainda há muito por fazer até que a possível explicação para a

classe de fenômenos que estamos investigando seja alcançada.

Seria interessante comentar também sobre os dois objetivos deste trabalho: um de natureza acadêmica, no sentido de complementação da formação e conhecimentos básicos; outro, usando resultados práticos na área pouco explorada, pelo menos em nosso meio, da "interface" Física-Medicina.

Quanto ao primeiro objetivo, acreditamos que tenha sido alcançado através dos três primeiros capítulos desta dissertação. Com relação ao segundo, embora nossos resultados não sejam conclusivos se olhados do ponto de vista estritamente biológico, o modelo por nós proposto representa um elo entre o fenômeno físico. "luz coerente" e outras propriedades biológicas, especificamente de biomembranas, abrindo assim uma porta para novas experiências. O dispositivo experimental que elaboramos parece ser apropriado para estudos comparativos da ação da luz, com diferentes graus de coerência, sobre tecidos vivos. Existem trabalhos nessa linha já em andamento na FCM, sendo o nosso, portanto, o início de uma nova linha de pesquisa na UNICAMP.

REFERENCIAS:

- 01 - YO-CHENG, Z. "An advanced clinical trial with laser acupuncture anesthesia for minor operations in the oro-maxillofacial region."
Lasers in Surgery and Medicine, 1984, 4:297-303
- 02 - RIBARI, O. "The stimulating effect of low power laser rays: experimental examinations in otorhinolaryngology."
Revue de Laryngologie, 1981, 102:531-533
- 03 - GAMALEYA, N.F. "Laser biomedical research in the USSR." In:
WOLBARSH, M.L., ed. "Laser Applications in Medicine and Biology"
New York, Plenum Press, 1977
- 04 - MESTER, E.; MESTER, A.F. & MESTER, A. "The biomedical effects of laser applications."
Lasers in Surgery and Medicine, 1985, 5:31-39
- 05 - MESTER, E.; SPIRY, T.; SZENDE, B. & TOTA, J.G. "Effect of laser rays on wound healing."
The American Journal of Surgery, 1971, 122:532-535
- 06 - KOVACS, I.B.; MESTER, E. & GOROG, P. "Laser-induced stimulation of the vascularization of the wound healing. An ear-chamber experiment."

Experientia, 1974, 30:341-343

- 07 - KOVACS, I.B.; MESTER, E. & GOROG, P. "Stimulation of wound healing with laser beam in the rat."

Experientia, 1974, 30:1275-1276

- 08 - YEW, D.T.; WONG, S.L.L. & CHAN, Y. "Stimulating effect of the low dose laser - A new hypothesis."

Acta Anatomica, 1982, 112:131-136

- 09 - KUBASOVA, T.; KOVACS, L.; SOMOSY, Z.; UNK, P. & KÓKAI, A. "Biological effects of He-Ne laser: investigations on functional and micromorphological alterations of cell membranes, in vitro."

Lasers in Surgery and Medicine, 1984, 4:381-388

- 10 - KARLANDER, E.P. & KRAUSS, R.W. "The laser as a light source for the photosynthesis and growth of Chlorella variabilis."

Biochimica Biophysica Acta, 1968, 153:312-314

- 11 - BERKI, T.; NÉMETH, P. & HEGEDOS, J. "Effect of low-power, continuous-wave He-Ne laser irradiation on in vitro cultured lymphatic cell lines and macrophages."

Studia Biophysica, 1985, 105:141-148

- 12 - TOMBERG, V.T. "Non-thermal biological effects of laser beams."

Nature, 1964, 204:868-870

- 13 - MESTER, E.; NAGYLUCSKAY, S.; WAIDELICH, W.; TISZA, S.; GREGUSS, P.; HAINA, D. & MESTER, A. - "Effects of direct laser radiation on human lymphocytes." -

Archives of Dermatological Research, ~~1978~~, 263:241-245 ()

- 14 - GARBUNY, M. "Optical Physics"

New York, Academic-Press, 1965

p.302-325

- 15 - FRANÇON, M. "Optical Interferometry"

New York, Academic Press, 1966

p.1-34, 162-189

- 16 - FRANÇON, M. "Diffraction - Coherence in Optics"

Oxford, Pergamon Press, 1966

p.53-97

- 17 - DAINTY, J.C., ed. "Laser Speckle and Related Phenomena"

Berlin, Springer-Verlag, 1975

(Topics in Applied Physics, vol.9)

- 18 - YOUNG, M. & DREWES, P.L. "Spatial coherence of gas laser light."

Optics Communications, 1970, 2:253-254

- 19 - MARTIENSSEN, W. & SPILLER, E. "Coherence and fluctuations in light beams."

American Journal of Physics, 1964, 32:919-926

- 20 - MARTIENSSEN, W. & SPILLER, E. "Fluctuation measurements in mixed light fields."

Physical Review, 1966, 145:285-287

- 21 - ARECCHI, F.T. "Measurement of the statistical distribution of gaussian and laser sources."

Physical Review Letters, 1965, 15:912-916.

- 22 - BERAN, J. & PARRENT, B. "Theory of partial coherence"

S.L., The Society of Photo-optical Instrumentation Engineers, 1974.

- 23 - ASAKURA, T. "Spatial coherence of laser light passed through rotating ground glass."

Opto-Electronics, 1970, 2:115-123

- 24 - ESTES, L.E.; NARDUCCI, L.M. & TUFT, R.A. "Scattering of light from a rotating ground glass."

Journal of the Optical Society of America, 1971, 61:1301-1306

- 25 - LOWENTHAL, S. & JOYEUX, D. "Speckle removal by a slowly moving diffuser associated with a motionless diffuser."

Journal of the Optical Society of America, 1971, 61:847-851

- 26 - SIPE, J.E.; YOUNG, J.F.; PRESTON, J.S. & VAN DRIEL, H.M. "Laser-

induced periodic surface structure. I. Theory."

Physical_Review_B, 1983, 27:1141-1154

- 27 - YOUNG, J.F.; PRESTON, J.S.; VAN DRIEL, H.M. & SIPE, J.E. "Laser-induced periodic surface structure. II. Experiments on Ge, Si, Al, and brass."

Physical_Review_B, 1983, 27:1155-1172

- 28 - VAN DRIEL, H.M.; SIPE, J.E. & YOUNG, J.F. "Laser-induced periodic surface structure on solids: a universal phenomenon."

Physical_Review_Letters, 1982, 49:1955-1958

- 29 - VAN DRIEL, H.M.; SIPE, J.E. & YOUNG, J.F. "Laser-induced coherent modulation of solid and liquid surfaces."

Journal_of_Luminescence, 1985, 30:446-471

- 30 - YOUNG, J.F.; SIPE, J.E.; PRESTON, J.S. & VAN DRIEL, H.M. "Laser-induced periodic surface damage and radiation remnants."

Applied_Physics_Letters, 1982, 41:261-264

- 31 - SIPE, J.E. "Bulk-selvedge coupling theory for the optical properties of srfaces."

Physical_Review_B, 1980, 22:1589-1599

- 32 - SIPE, J.E. "The ATR spectra of multipole surface plasmons."

Surface_Science, 1979, 81:75-105

- 33 - SIPE, J.E. "The dipole antenna problem in surface physics: a new approach."
Surface Science, 1981, 105:89-504
- 34 - KROGER, E. & KRETSCHMANN, E. "Scattering of light by slightly rough surfaces or thin films including plasma resonance emission"
Zeitschrift für Physik, 1970, 237:1-15
- 35 - MARADUDIN, A.A. & MILLS, D.L. "Scattering and absorption of electromagnetic radiation by a semi-infinite medium in the presence of surface roughness."
Physical Review B, 1975, 11:1392-1415
- 36 - PASECHNIK, V.I. "Influence of roughness on the optical parameters and capacitance of bilayer lipid membranes."
Biophysics, 1983, 28:261-267
- 37 - BODROVA, N.B. & PASECHNIK, V.I. "Study of the electric fields in biological membranes using models."
Biophysics, 1985, 30:285-290
- 38 - BECK, J.S. "Biomembranes - Fundamentals in Relation to Human Biology"
Washington, Hemisphere Publishing Corporation, 1980
- 39 - AIDLEY, D.J. "The Physiology of Excitable Cells"
Indiana, Cambridge University Press, 1978

p.13-70

40 - NICOLA, E.M.D. "Caracterização de micro-lesões produzidas por laser de CO , na mucosa oral de cães, em função da variação de parâmetros intrínsecos do equipamento."

Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas - FCM,
1984

41 - BURGER, M.M. & NOONAN, K.D. "Surface membrane alterations and relevance to cell-cell interaction and growth control in tissue culture." In: JAENICK, R. & HELMREICH, E., ed. "Protein-Protein Interactions"

Berlin, Springer-Verlag, 1972.

42 - CONE JR., C.D. "The role of the surface electrical transmembrane potential in normal and malignant mitogenesis."

Annals of the New York Academy of Sciences, 1974, 238:420-435