UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FFCLRP- DEPARTAMENTO DE GEOLOGIA, FÍSICA E MATEMÁTICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA APLICADA À MEDICINA E BIOLOGIA

"EFEITOS DA RADIOFREQÜÊNCIA E GRADIENTES DE CAMPOS MAGNÉTICOS, NA MUCOSA PALATINA E TECIDO EPITELIAL DA PLANTA DO PÉ DE FETOS DE RATO."

SISSIANE APARECIDA TOVO ABUD

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA À FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO - USP, COMO PARTE DAS EXIGÊNCIAS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM CIÊNCIAS - ÁREA: FÍSICA APLICADA À MEDICINA E BIOLOGIA

RIBEIRÃO PRETO - SP

ORIENTADOR: JOSÉ ENRIQUE RODAS DURAN

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE SISSIANE APARECIDA TOVO ABUD, APRESENTADA A FACULDADE DE FILOSOFIA, CIENCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, NO DIA 25 DE NOVEMBRO DE 1992.

COMISSAO JULGADORA:

Prof.Dr. JOSE ENRIQUE RODAS DURAN

Prof. Dr. ADEMILSON ESPENCER EGEA SOARES

Prof.Dr. ANTONIO CARLOS MARCONI STIPP

À DEUS,

PELA VIDA,

PELO AMOR,

PELA FELICIDADE,

E POR TUDO QUE CONQUISTEI ...

DEDICO ESTE TRABALHO

Ao meu companheiro Alfredo, meu melhor amigo...

Sempre incentivou-me com amor e carinho;

À minha filha, que está proporcionando-me o desfrutar

dos momentos mais ricos e divinos da minha vida;

Aos meus queridos pais, Rosa e Altino(In memorian)

pelo exemplo de vida, luta, amor e dedicação aos filhos;

Aos meus avós que se foram, Altélia e Jacintho, que possamos seguir o maravilhoso exemplo de vossa força;

> À Dna. Dulce, Sr. Fuad e vó Angelina, pessoas maravilhosas, que souberam acolher- me com carinho em todos os momentos;

Aos meus irmãos Sandegi, Carla, Fabiana e Patrícia, sobrinhos e cunhados, criaturas valiosas que enriquecem cada minuto da minha vida;

OFEREÇO ESTE TRABALHO

Prof. Dr. José Enrique Rodas Duran,

Por tudo que ensinou-me, pelos conselhos recebidos pela orientação sempre tão segura, e principalmente pela amizade sincera.

A você o meu mais profundo agradecimento e minha sincera

homenagem.

Prof. Dr. Antônio Carlos Marconi Stipp,

Por apoiar-me em todos os momentos, acolher-me de uma forma tão carinhosa e transmitir tantos ensinamentos,

a minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

- Ao técnico do Depto. de Geo. Fís. e Mat. da F.F.C.L.R.P. -USP, Sérgio Oliveira Bueno da Silva pela grande ajuda nas medidas laboratoriais.

- Aos técnicos do laboratório de Morfologia, FOB- USP, pela manufatura das lâminas.

- Ao técnico do NIPEM-FORP-USP June Tadeu de Moraes, pela editoração em computador.

- Aos Profs. e funcs. do Depto de Geo. Fis. e Mat. da F.F.C.L.R.P - USP, pela oportunidade de realizar este trabalho.

- Ao Depto. de Morfologia da FOB - USP, pelo apoio recebido.

- À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de mestrado cedida.

- À Valéria Cristina Castaldoni, FOL, pela digitação de parte do meu trabalho.

- Ao Dr. Nicácio Garcia Hernandez, diretor da FOL e ao Dr. Joaquim de Miranda Rosa Filho, diretor geral do I.A.L.I.M. pelo apoio dispensado.

- Ao Prof. Dr. Heitor Panzeri, FORP-USP, por ceder o computador.

- À supervisora educacional do I.A.L.I.M. Arlene Magda Charantola pelo apoio e amizade.

- Às minhas colegas de trabalho, Nancy, Rita e Shila pela amizade e força recebida.

- Ao Sr. e Sra. Bittencourt da Igreja Metodista de Lins, pela grande atenção e apoio.

- Ao biotério geral da USP - Ribeirão Preto por ceder os animais.

- Ao Depto de Biologia da F.F.C.L.R.P.- USP, por ceder o laboratório onde os animais ficaram alojados.

- À toda a minha família, e a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuiram para a realização deste trabalho.

Aos animais que foram parte integrante em meu trabalho, o meu profundo respeito. Sem eles não seria possível acrescentar estes benefícios à ciência e ao homem.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. TEORIA BÁSICA	
2.1. CAMPO MAGNÉTICO DE UMA BOBINA CILÍNDRICA	13
2.2. POTÊNCIA ELETROMAGNÉTICA	15
2.3. GRADIENTE DE CAMPO MAGNÉTICO DAS BOBINAS DE MAXWELL	
2.4. ESTEREOLOGIA	18
3. PROPOSIÇÃO	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	
4.1. TRATAMENTO DOS ANIMAIS	
4.2. SISTEMA DE IRRADIAÇÃO	
4.3. MEDIDAS DOS CAMPOS MAGNÉTICOS DAS BOBINAS	
4.4. TÉCNICA HISTOLÓGICA	
4.5. MÉTODOS MORFOMÉTRICOS	
4.6. TRATAMENTO ESTATÍSTICO	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	
5.1. CAMPO MAGNÉTICO DA BOBINA DE RF	
5.2. CAMPO MAGNÉTICO DA BOBINA DE RF ACOPLADA AS DE MAXWELL	41
5.3. DETERMINAÇÃO DA POTÊNCIA ELETROMAGNÉTICA	48
5.4. RESULTADOS MORFOLÓGICOS	49
5.5. RESULTADOS MORFOMÉTRICOS	50
6. CONCLUSÕES	56
7. RESUMO - SUMMARY	57

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
9. APÊNDICE	. 62
9.1. TABELAS REFERENTES AO EPITÉLIO PALATINO	64
9.2. TABELAS REFERENTES AO EPITÉLIO DA PLANTA DO PÉ	77

1. INTRODUÇÃO

A Radiação Eletromagnética (REM) na faixa de rádio- freqüência (rf) que ocupa de 300 KHz a 300 MHz no espectro eletromagnético, é utilizada atualmente para inúmeros fins industriais, médicos e científicos. A técnica de imagem por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)⁽²⁶⁾ é uma das aplicações mais recentes da radiação de rf em diagnósticos médicos e em pesquisas com sistemas biológicos. Numa tomografia por RMN, o paciente experimenta basicamente os efeitos de um campo magnético estático muito intenso, de gradientes de campos magnéticos e de radiação de rf⁽²⁵⁾.

Desde a II Guerra Mundial, o número de fontes de rf vem aumentando no mundo inteiro. Rádios comerciais, estações de televisão, radares, fornos microondas, aparelhos diatérmicos e uma variedade de equipamentos e utensílios contribuem para a exposição a estas radiações da população em geral.

A partir da década de 50, pesquisadores relataram alguns efeitos atribuídos a esta REM. Foram apresentados resultados de observações de muitos casos de defeitos de nascimento e retardamento no desenvolvimento de crianças cujas mães foram expostas à alta intensidade da radiação de rf e microondas em tratamentos diatérmicos^{(8),(14),(27)}.

Também foi observado que a exposição à rf de mulheres grávidas pode ou não resultar em aborto⁽³⁹⁾. Outros fatores como irregularidade no ciclo menstrual ou decréscimo na lactação em mães já foram relatados^{(35),(38)}.

O número de cientistas preocupados com possíveis efeitos da rf vem aumentando consideravelmente. Tratando-se de uma REM que ao interagir com materiais biológicos pode ser transmitida, absorvida e refletida em vários graus; pode resultar tanto em efeitos benéficos medicinais ou danos biológicos⁽²⁰⁾.

Um caminho prático para quantificar os danos biológicos e estabelecer padrões de segurança ao homen é através de experimentos com animais ou irradiação de espécimes biológicos in vitro. Como é possível, extrapolar estes efeitos observados, para o homem, é um ítem importante que será analisado e discutido posteriormente.

Os efeitos da rf nos sistemas biológicos podem ser classificados dentro de duas áreas maiores, uma envolvendo efeitos térmicos, resultado do alto nível de potência de rf e efeitos de baixo nível de potência que podem provocar ou não um efeito térmico. Os efeitos térmicos existem quando a absorção de energia da REM pelo animal, ou Taxa de Absorção Específica (SAR), é elevada em relação à sua taxa metabólica⁽⁴⁾. Muitos dos efeitos biológicos estudados são atribuídos à uma ação do aquecimento do tecido biológico. Vários estudos foram realizados para relacionar-se a exposição às radiações de microondas ou de rf com o desenvolvimento de cataratas. Experimentos realizados com coelhos na faixa de 200 MHz a 10.000 MHz^{(31),(33)}, envolvendo várias técnicas, mostram que a aplicação de densidades de potência acima de 100 mW/cm por uma hora ou mais, aparenta ser o fator limite de tempo e

potência para o desenvolvimento de cataratas. Em outras espécies de animais como cachorros e primatas(não humanos), o limite experimental para indução de catarata é mais alto⁽³²⁾. Todos os efeitos relatados podem ser explicados com base no aumento de temperatura do tecido.

Foi observado que a exposição de ratos à radiação de rf, produz um aumento de câncer endócrinos. Quando os campos magnéticos são da ordem de 5 Hz, foram notadas mudanças histológicas nas glândulas tiróides dos ratos expostos a esta radiação; também foram descritas evidências sugerindo que campos magnéticos de mesma frequência (com o animal a 3 mT ou menos) podem alterar o rítmo cardíaco⁽³⁶⁾.

Outra experiência importante foi a irradiação de ratos com ondas de 50 Hz, 6mT e 400 Hz, 6 mT alternados por 30 minutos, a fim de observar-se o efeito celular no fígado. Após 12 horas foi feita hepactomia parcial. Os ratos que foram submetidos à exposição regeneraram seus fígados mais rapidamente que os controles⁽³⁴⁾.

Variações ou mudanças de comportamento em animais (ratos e maçaços) durante a exposição da rf e microondas também é uma área amplamente estudada^{(13),(29)}. Os efeitos são atribuídos à mudança no rendimento de tarefas treinadas. Muitos destes estudos indicam que a exposição da energia de rf pode ser um fator de repressão destas tarefas e que a densidade de potência/dose e tempo de duração da exposição são fatores limiares para existir a repressão^{(30),(42)}.

Devido à grande porcentagem de pessoas que trabalhando com aparelhos que emitem rf são expostos a estas radiações, foram feitos experimentos com animais com o objetivo de testar-se a função reprodutiva⁽⁵⁾. Neste trabalho concluiu-se que a radiação de rf em 27,12 MHz pode alterar a fertilidade de ratos quando submetidos à exposição de rf antes do acasalamento.

Outor fator de extrema importância relacionado à reprodução seria os possíveis efeitos que a radiação de rf provocaria em embriões ou seja que interações ocorreria com a radiação de rf e tecidos ainda em formação e desenvolvimento.

É bem estabelecido que o crescimento de organismos em desenvolvimento está associado à mudanças de baixos campos elétricos⁽³⁾ e que os campos eletromagnéticos afetam o crescimento é sugerido pela cicatrização e regeneração observados em experimentos^{(2),(28)}.

Cameron em 1985⁽⁶⁾, fez experimentos para avaliar a influência de campos eletromagnéticos no desenvolvimento embrionário do peixe <u>Oryzias latipes</u>. Seu objetivo era investigar os efeitos da exposição de ovos fertilizados a campos elétricos, e magnéticos combinados. Os embriões expostos a campo elétrico de 60 Hz não sofreram qualquer influência no seu desenvolvimento. Porém os grupos que foram expostos a campos magnéticos de 1,0 gauss, inclusive o combinado com campos elétricos, sofreram um retardamento significativo no desenvolvimento dos embriões. Os efeitos da rf de 27,12 MHz em fetos de ratos também foram pesquisados⁽²²⁾. Para tal utilizou-se oito grupos de ratas prenhas que foram expostos ao campo de alta intensidade no 1º, 3º, 5º, 7º, 9º, 11º, 13º, ou 15º dia de gestação. A exposição durava de 20 a 40 minutos, tempo necessário para que a temperatura colônica das ratas alcançasse 43ºC. Foram mais de 200 anormalidades encontradas nos fetos tratados. O grupo de ratas irradiadas no 9º dia de gestação foi o que apresentou maior porcentagem de fetos com malformações. Entre os diversos efeitos teratogênicos, os que mais ocorreram foram microftalmia, anoftalmia, exencefalia, língua protusa, micrognatia mandibular e maxilar, microcefalia, fenda palatina, perda de vértebra sacral e outros.

Outro trabalho similar envolvendo a mesma frequência de 27,12 MHz foi feito por Dietzel⁽¹⁰⁾, que relatou além de um aumento significativo de perdas de pós implantação, malformações ósseas caudais.

Tendo em vista que muitos trabalhos que relataram malformações grosseiras estavam relacionados com aumento de temperatura das ratas, foram realizados experimentos em que a temperatura das ratas, permanecia nos limites fisiológicos normais. Para estudar-se os efeitos nos fetos, da radiação de baixo nível de rf, três grupos das ratas prenhas foram expostos continuamente em 27,12 MHz (0,1 mw/cm) durante diferentes períodos de gestação⁽⁴³⁾. Os resultados obtidos foram: aumento na porcentagem total de reabsorção, redução do peso do corpo nas ratas tratadas e ossificação cranial incompleta de seus fetos.

De um outro ponto de vista, existe um número grande de pesquisadores que não encontraram algum efeito em embriões submetidos à exposição de rf e campos magnéticos de baixa potência.

Foram feitos trabalhos com ovos fertilizados de rā, <u>Rana pipiens</u>, com o objetivo de observar-se se a exposição por imagem de RMN influenciaría na clivagem e formação de brotos caudais dos girinos. Não houve evidências que a exposição à imagem de RMN em 0,5 T ou 4,5 T afetasse o desenvolvimento dos embriões⁽³⁷⁾.

Em um outro trabalho, com campos magnéticos de baixa frequência, aplicou-se uma sucessão de pulsos de campos magnéticos de 0-5 ms de duração, com o fluxo de campo magnético a 1 mT em ovos de galinha fertilizados que foram encubados por 48 horas. Não foi encontrada nenhuma alteração nos embriões quando comparados aos controles⁽²⁴⁾

Enfim existem muitos outros trabalhos que assemelham-se ou confrontam-se quanto aos resultados obtidos. Existe várias tendências para a interpretação destes resultados.

2. TEORIA BÁSICA

2.1 CAMPO MAGNÉTICO DE UMA BOBINA CILÍNDRICA

A bobina de rf funciona como um condutor enrolado em forma helicoidal (solenóide), utilizado para produzir um campo magnético intenso e uniforme numa região de seu espaço interior. Devido a esta geometria, as linhas do campo são aproximadamente paralelas ao eixo axial do cilindro, resultando portanto um campo magnético forte e uniforme. Fora do solenóide, as linhas de campo são menos densas, divergem de uma extremidade e convergem para a outra.

Considerando-se o campo magnético \vec{B} muito intenso e uniforme no interior do solenóide e muito fraco fora deste, podemos utilizar a lei de "Biot e Savart" para determinar uma expressão analítica para \vec{B} . No caso de uma espira circular que conduz uma corrente I, aplicando-se a lei de Biot e Savart à espira mostrada na figura 1, teremos que a expressão de B (no sistema de unidades MKSA) no ponto P ao longo do eixo axial da espira, será:

$$B(y) = \frac{\mu_0 I}{4\pi} \cdot \frac{a^2}{(a^2 + y^2)^{3/2}} \vec{j}$$
(1)

onde: I = Corrente através da espira

> = Raio da espira а

y

= Distância do ponto O a P = $4 \pi \times 10^{-7}$. N/A (permeabilidade do ar) μo

= Vetor unitário na direção y 7



Figura 1. Campo Magnético axial de uma espira circular.

Para o caso de um solenóide de N espiras uniformemente enroladas sob uma forma cilíndrica de raio a e comprimento L, tal como é mostrado esquematicamente na figura 2; o cálculo de B num ponto y sobre o eixo do solenóide será feito a partir da equação 1, ou seja:

B (y) =
$$\mu_0 NI = a^2 \int_0^L \frac{dy}{[(y_0 - y)^2 + a^2]^{3/2}}$$

onde I, é a corrente que passa através do solenóide.



Figura 2. Secção longitudinal de um solenóide de N espiras.

Em função dos ângulos $\alpha_1 e \alpha_2$ definidos na figura 2, teremos:

$$B(y) = \frac{\mu_0 NI}{L} \left(\frac{\cos \alpha_1 + \cos \alpha_2}{2} \right)$$
(2)

esta equação (2) nos permite estimar a magnitude de \vec{B} em qualquer ponto P ao longo do eixo axial do solenóide. Certamente para pontos localizados perto dos extremos do solenóide, a utilização da equação (2) para o cálculo de \vec{B} nos dariam resultados com uma certa margem de erro.

A figura 3 ilustra o comportamento de \vec{B} sobre o eixo de um solenóide, mostrando que o campo no interior da bobina é aproximadamente constante independente da posição sobre o eixo, exceto nas regiões próximas às extremidades.



Figura 3. Representação aproximada da magnitude de B ao longo do eixo axial de um solenóide.

2.2 POTÊNCIA ELETROMAGNÉTICA

Quando uma bobina de indutância L, e resistência interna r está sendo excitada por uma voltagem alternada da forma $E(t) = \xi_0 \cos \omega t$, tal como está mostrado na figura 4: a impedância deste circuito será da forma:

$$\mathbf{Z}=|\mathbf{Z}| e^{\mathbf{I}\theta};$$

onde θ , é a diferença de fase entre a voltagem E e a corrente I

O módulo da impedância será:

$$|\mathbf{Z}| = \sqrt{\mathbf{r}^2 + (\omega L)^2}$$
(3)

 $\omega = \text{frequência da voltagem alternada (fig 4)}.$

A diferença de fase entre a voltagen e a corrente é determinada pela relação:

$$\theta = \underline{\mathrm{tg}^{-1}\omega L}_{\mathrm{r}} \tag{4}$$

quando $\theta > 0$, diz-se que a corrente está atrasada em relação a voltagem, ou seja, a corrente alcança uma fase específica depois da voltagem. Se a corrente através da bobina é da forma I(t) = I₀ cos(ω t- θ), sua intensidade I₀ sera:

$$I_{o} = \underbrace{\xi_{o}}{|Z|}$$
(5)



Figura 4. Bobina de indutância L e resistência interna r.

Para o caso do circuito mostrado na figura 4, a potência eletromagnética liberada, será uma potência média P, onde a média é tomada sobre um período completo ou sobre um tempo muito longo (muitos períodos). Então,

$$\mathbf{P} = \frac{1}{2} |\mathbf{I}_0| |\xi_0| \cos\theta$$
(6)

O fator 1/2 na equação (6), é devido à média no tempo de função sen² ω t ou cos² ω t. O termo cos θ é frequentemente denominado fator de potência de um circuito de corrente alternada.

2.3 GRADIENTE DE CAMPO MAGNÉTICO DAS BOBINAS DE MAXWELL

Como mostrado na figura 5, as bobinas de Maxwell apresentam uma configuração similar às bobinas de Helmholtz. Consiste em um par de bobinas circulares do mesmo raio a com um eixo comum, separados por uma distância d, escolhida de maneira conveniente. As bobinas possuem N espiras cada uma e a corrente I entre as bobinas têm sentidos opostos



Figura 5. Bobinas de Maxwell com N espiras cada uma, e com eixo axial na direção x.

Utilizando-se a equação (1) para o caso de uma bobina de N espiras, encontraremos que a componente Bx do campo magnético B, tem o seguinte valor no ponto P :

$$B_{x}(x) = \frac{N}{2} \mu_{0} Ia^{2} \{ (x^{2} + a^{2})^{-3/2} - [(d - x)^{2} + a^{2}]^{-3/2} \}$$
(7)

desta equação (7), podemos verificar que a componente Bx satisfaz as seguintes condições:

$$B_{x}(O) = -B_{x}(d) = \frac{N}{2} \mu_{0} I [a^{-3} - (d^{2} + a^{2})^{-3/2}]$$

 $B_{x}(d/2)=0$

Para determinar-se a componente do gradiente de campo magnético na direção x, calculamos a derivada da equação (7) com respeito a x,asim teremos a expressão:

$$G_{x}(x) = \frac{dB_{x}}{dx} = \frac{-3}{2} \mu_{0} \operatorname{NI} a^{2} \qquad \frac{x}{(x^{2} + a^{2})^{5/2}} + \frac{(d - x)}{[(d - x)^{2} + a^{2}]^{5/2}}$$
(8)

A função gradiente dada pela equação (8), tem os seguintes valores particulares no centro das bobinas e no ponto médio do eixo axial,

$$G_{\mathbf{x}}(\mathbf{o}) = G_{\mathbf{x}}(\mathbf{d}) = \frac{-3}{2} \mu_{0} \operatorname{NI} \quad \frac{\mathrm{da}^{2}}{(\mathrm{d}^{2} + \mathrm{a}^{2})^{5/2}}$$

$$G_{\mathbf{x}}(\mathrm{d}/2) = \frac{-3}{2} \mu_{0} \operatorname{NI} \quad \frac{\mathrm{da}^{2}}{[(\mathrm{d}/2)^{2} + \mathrm{a}^{2}]^{5/2}} \qquad (9)$$

ou seja, a equação (8), nos representa uma função simétrica em torno do ponto x = d/2, a forma desta função vai depender da relação (d/a).

Se calcularmos a derivada de Gx com respeito a x e a igualarmos a zero, encontraremos que:

$$\frac{4d(d-2x)}{(4x^2-a^2)} + 1 = \left\{ \frac{d(d-2x)}{(x^2+a^2)} + 1 \right\}^{\frac{1}{2}}$$

Concluimos que o gradiente Gx, tem um valor absoluto máximo em x = d/2

Fazendo uma análise da função $G_x(x)$ para diversos valores de (d/a), encontramos que o gradiente $G_x(x)$ apresenta uma maior uniformidade na direção x, quando (d/a) = $\sqrt{3}$, ou d = a $\sqrt{3}$. A forma da função $G_x(x)$ para este caso, está apresentada na figura 6.



Figura 6. Gráfico do valor absoluto do gradiente $G_x(x)$ em função de x, para o caso $d = a\sqrt{3}$. Para fazer-se este gráfico foi foi feito na equação (8) a mudança de variaveis: X = x/a e D = d/a.

Se na equação (9) substituimos o valor $d = a\sqrt{3}$, obtemos

 $G_x(d/2) = -0.64 \,\mu_0 \,\text{NI/a}^2$

esta equação (10) nos permite fazer uma estimativa aproximada do valor de Gx, ao longo do eixo axial x, quando são conhecidos às características físicas das bobinas de Maxwell. Fica claro que esta uniformidade de Gx, está limitada ao intervalo de valores de x mostrado na figura (6).

2.4 ESTEREOLOGIA

A estereologia basicamente se constitui num conjunto de procedimentos geométrico-estatísticos com a finalidade de se obter informações sobre estruturas tridimensionais a partir de imagens bidimensionais, geralmente obtidos de preparados para microscopia de luz ou eletrônica⁽¹²⁾

Dentre as várias exigências dessa metodologia, a amostragem é de importância fundamental para a validade e confiabilidade dos resultados. Como os epitélios constituem estruturas organizadas e os métodos estereológicos baseiam-se em distribuições aleatórias, contornou- se o problema através da estratificação da amostra⁽¹⁾.

As estimativas da densidade de volume Vvi, do núcleo e citoplasma das células da camada basal e espinhosa, como também aquelas referentes aos componentes da lâmina própria, foram calculados através do método de Chalkley⁽⁷⁾, segundo as indicações de Weibel⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁵⁾.

Esse método fundamenta-se no princípio enunciado por Delesse⁽⁹⁾, o qual afirma que a densidde de volume Vviocupada por um objeto num contimente é diretamente proporcional a fração de área Aai que o mesmo ocupa num plano seccional ao acaso neste continente. Glagoleff⁽¹⁶⁾, em base a esse princípio demonstra que a fração de área Aai de um determinado plano pode ser estimada a partir de pontos coincidentes Ppi, com área considerada, utilizando-se uma grade com pontos distribuidos regularmente. Assim Vvi = Aai = Ppi

Com a aplicação desses princípios, associados as medidas avaliadas diretamente (em nosso caso foi o diâmetro nuclear) foi possível obter-se os dados que permitiram a descrição em base numérica das estruturas analisadas no presente trabalho.

3. PROPOSIÇÃO

Estudar morfologicamente e morfometricamente os possíveis efeitos da radiofreqüência em 20MHz e gradientes de campos magnéticos na mucosa palatina e epitélio da planta do pé de fetos de ratos, cujas mães foram expostas diariamente à radiação de baixa intensidade e curto período de tempo.

Estudar o comportamento e a intensidade do campo eletromagnético no interior da bobina de radiofrequência e bobinas de Maxwell.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. TRATAMENTO DOS ANIMAIS

4.1.1. PREPARAÇÃO DOS ANIMAIS

Fêmeas de rato, da linhagem Wistar, virgens, de aproximadamente 4 meses de idade, 180 gramas de massa, foram colocadas para acasalamento com machos de mesma linhagem na proporção de 4 fêmeas para 1 macho, sempre ao final da tarde. A verificação do coito era feita, constatando-se a presença de espermatozóides no esfregaço vaginal, coletado na manhã seguinte. As fêmeas positivas eram separadas, pesadas e este era considerado o dia zero da gestação.

Antes e durante a irradiação dos animais, era necessário que as fêmeas ficassem imobilizadas. Para tal, foram confeccionados sacos plásticos em forma de funil, onde os animais eram colocados, ficando livre somente a cabeça da rata. Este método imobilizava totalmente, sem que o animal aparentemente experimentasse qualquer agressão física.

4.1.2 IRRADIAÇÃO DOS ANIMAIS

As fêmeas foram irradiadas diariamente, durante dez minutos, no mesmo horário, no período do 1º ao 20º dia de gestação. O grupo de fêmeas controles, foi submetido ao método de imobilização tal qual usado para a irradiação do grupo tratado, porém com os aparelhos desligados.

4.1.3. SACRIFÍCIO E FIXAÇÃO DOS ANIMAIS

No vigésimo dia de gestação, as fêmeas eram pesadas e sacrificadas por inalação de éter sulfúrico.

A incisão do abdome da fêmea foi feita por laparatomia exploradora, os fetos foram retirados, contados e lavados em solução salina 0,9% e fixados em solução de Bowin por 12 horas. Posteriormente os fetos foram imersos em álcool 70%. Este procedimento foi realizado para 6 fêmeas do grupo tratado e 6 fêmeas do grupo controle.

4.2 - SISTEMA DE IRRADIAÇÃO

Na figura 7 está representado esquematicamente, como as bobinas de Maxwell e de rf estão acopladas às suas fontes de alimentação. Também estão representados os equipamentos necessários para amplificar os sinais de alimentação das bobinas, assim como, o sistema de detecção dos campos de rf e gradientes de campo



Figura 7. Esquema de alimentação das bobinas de rf e de Maxwell.

O animal é colocado no interior da bobina de rf, que está localizada simetricamente entre as bobinas de Maxwell. A alimentação do circuito ressonante (figura 8) que contém a bobina de rf, foi feito da seguinte maneira:

a) O gerador de ondas foi sintonizado em 45 KHz (22,2 μ s), para produzir pulsos de -2 V de amplitude e 4 μ s de largura.

b) O oscilador de VHF foi sintonizado em 20 MHz, produzindo pulsos com amplitude de algumas centenas de mV.

c) Um sistema de atenuadores de alta precisão foram ligados em série, para manter os pulsos com uma amplitude de 140 mV.

d) O amplificador de rf, finalmente gerou uma potência de rf da ordem de 1 W, que será a utilizada para alimentar o circuito ressonante.

O circuito ressonante é constituido por dois capacitores variáveis e uma bobina de rf (onde o animal é colocado). Na figura 8 mostramos como estão ligados os componentes, deste circuito.



Figura 8 - Circuito ressonante LC, os capacitores C1 e C2 são variáveis. Neste trabalho fixamos C2 para aproximadamente 20 pF enquanto que C1 era calibrado para valores entre 180 e 200 pF. A bobina de rf, tinha uma indutância de $18 \,\mu$ H.

A bobina de rf, foi construída com fio de cobre de 3.55 mm de diâmetro, tendo um formato cilíndrico de 8,21 cm de diâmetro e 9,35 cm de altura. O número de espíras da bobina foi de 14,5 existindo uma pequena separação entre elas. A indutância desta bobina foi medida com um aparelho marca TELMES, modêlo TR- 2152 de fabricação húngara. O fator-Q da bobina foi determinado experimentalmente como tendo um valor de 3,12.

O sinal final da rf após ter percorrido todo o circuito e perdido parte de sua energia inicial, foi observado num osciloscópio; tendo sua forma mostrado na figura 9. A otimização deste sinal de saída, foi conseguida mudando-se a capacitância do condensador C1, dentro do intervalo de valores destacados na figura 8.



Figura 9 - Sinal final da rf observado em um osciloscópio.

Com relação às bobinas de Maxwell, estas foram construídas para produzir gradientes da ordem de 1,5 a 2,0 gauss/cm. Então de acordo com a equação (10), e respeitando a condição de d = a $\sqrt{3}$; nossa bobina de raio a = 7cm foi separada por uma distância d = 14 cm e alimentada com pulsos de corrente da ordem de 20 Amperes de amplitude. Possui um total de N = 14 espiras e o fio utilizado para sua construção foi de cobre de 1 mm de diâmetro.

A alimentação das bobinas de Maxwell foi feita com um amplificador de potência e da seguinte maneira:

a) O gerador de ondas foi sintonizado em 100 Hz (10 ms), para produzir pulsos positivos de 1 V de amplitude e 2ms de largura.

b) O amplificador de potência para gradientes de campo é alimentado por um sistema de quatro baterias de 12 Volts cada uma. Obtendo-se pulsos de corrente com amplitude em torno dos 20 A, que alimentará as bobinas de Maxwell.

4.3 - MEDIDAS DOS CAMPOS MAGNÉTICOS DAS BOBINAS

Com o objetivo de fazer-se um mapeamento do campo magnético no interior das bobinas de rf e de Maxwell, foi utilizado uma bobina de prova construída com fio de cobre de 0,1 mm de diâmetro, de 20 espiras enroladas compactamente, com um formato circular de 10,9 mm de diâmetro. Esta bobina foi fixada no extremo de uma placa retangular fina de acrílico de 15 cm de largura. A bobina de prova foi ligada diretamente a um osciloscópio, obtendo-se assim, uma leitura que é proporcional à intensidade do campo no ponto onde localiza-se a bobina de prova.

As direções x,y e z com relação as bobinas estão definidas nas figuras 10a e 10b.



Figura 10. a) Vista lateral da bobina de rf. A direção y coincide com o eixo axial do cilindro, as direções x e z encontram-se num plano perpendicular a y.

b) Vista frontal das bobinas de Maxwell e de rf. A direção x coincide com a direção entre os centros das bobinas de Maxwell.

Para determinar-se as coordenadas do centro da bobina de prova, o extremo livre da placa de acrílico foi fixado a um suporte, que se movimentava sobre um papel milimetrado.

As medidas foram feitas em pontos separados 1 cm de distância, ao longo das 3 direções x, y e z; todos os pontos considerados estavam localizados no espaço interior da bobina de rf. Como está mostrado nas figuras 10. a e b, o ponto(000) coincide com o centro da bobina de rf, portanto teremos valores positivos e negativos para x, y, z.

As medidas dos campos magnéticos foram realizadas primeiro com as bobinas de Maxwell desligadas e depois com estas ligadas. Em ambos os casos, a bobina de rf estava sendo alimentada nas mesmas condições utilizadas para irradiar os animais. Com esta metodologia foi possível, obter-se um mapeamento do campo no interior das bobinas.

4.4 - TÉCNICA HISTOLÓGICA

Após a fixação, os fetos foram limpos, lavados, as placentas e cordões retirados, e então pesados. Foi feito uma análise macroscópica sobre os fetos a fim de investigar malformações grosseiras; posteriormente iniciou-se a dissecção. A cabeça foi separada e na altura da região mediana, fez-se uma secção transversal de modo a separar em duas hemi-faces. A pata direita traseira também foi separada e seccionada longitudinalmente. As amostras foram desidratadas e incluídas em parafina com a porção seccionada voltada para baixo. Os cortes transversais obtidos foram semi-seriados, desprezando- se 5 e corando-se 1, por hematoxilina-eosina.

Cada lâmina foi montada com aproximadamente 5 cortes. Utilizou-se 5 amostras de cada grupo.(Tratado e controle). A escolha de cada feto foi feita com base na posição em que ocupava no útero materno. Foram utilizados os fetos que ocupavam a parte media do lado direito do útero das ratas.

4.5. MÉTODOS MORFOMÉTRICOS

4.5.1. REGIÕES ESTUDADAS

Primeiramente foi feita uma pré escolha das lâminas dos grupos tratado e controle, com o objetivo de trabalhar-se num mesmo nível de profundidade de corte. No epitélio palatino a grade foi focalizada entre as 2^{a} , 3^{a} e 4^{a} rugas do epitélio. no conjuntivo do palato, a focalização era feita ao redor destas regiões.

Na planta do pé, efetuou-se as medidas do epitélio na região mediana da planta do pé. Foram feitas medidas em 25 campos para os dois epitélios.

4.5.2. DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE DE VOLUME(Vvi)

Como já citado no ítem 2.4., é possível estimar-se a densidade de volume ou fração de volume (Vvi) ocupada por uma estrutura i, pois esta estrutura é diretamente proporcional a fração de área(Aai) ocupada.

A fração de área (Aai) pode ser determinada colocando- se sobre a amostra uma grade de pontos arranjados regularmente e contando o número de pontos de pontos (Ppi) que coincidem sobre a estrutura. Existe uma proporcionalidade direta entre o n° de pontos coincidentes e a área em questão, ou seja Ppi = Aai.

Deste modo utilizando-se de uma grade, através da contagem dos pontos é possível estimar-se a densidade de volume, através da proporção:

$$Vv_i = \underline{Pp_i}_{\mathbf{p}}$$

onde Vv_i = Densidade de volume da estrutura

 $Pp_i = N^{o}$ de pontos coincidentes sobre a estrutura

 $P = N^{o}$ total de pontos quantificados

Para estudos estereológicos a espessura do corte é um fator de extrema importância, uma vez que sua magnitude deve ser próxima ao diâmetro médio da estrutura que se vai quantificar; aumentando a probabilidade do equador dos mesmos estar contido no corte, evitando assim a medida de transecções que não representam o verdadeiro diâmetro da estrutura considerada. De acordo com estudos preliminares, a espessura de 7μ m seria aceitável para os nossos objetivos.

Assim, em cortes histológicos com essa espessura, a grande maioria das imagens de núcleos representam transecções nucleares envoltas por citoplasma e aparece corada mais densamente, causando portanto, uma sobreestimativa da densidade de volume do núcleo. Esse efeito da superposição de imagens, com a perda da imagem da estrutura menos corada, foi descrita inicialmente por Holmes, ⁽¹⁹⁾ e recebeu posteriormente o nome de efeito "Holmes". ⁽¹⁷⁾, ⁽¹⁸⁾.

A correção desta sobrestimativa é possível quando o objeto é esférico, utilizando-se para tanto a seguinte relação.

$$K_{o} = 1 + \frac{3t}{2D}$$

onde $K_0 = fator de correção$

t = espessura do corte

D = diâmetro médio do núcleo

Deste modo, é possível obter-se, por exemplo a densidade de volume de núcleo corrigida (Vv_n) da célula epitelial, dividindo a fração de volume do núcleo obtida em cada contagem, pelo fator de correção K_0

4.5.3. SISTEMA-TESTE UTILIZADO NAS AVALIAÇÕES MORFOMÉTRICAS

Na avaliação dos parâmetros morfométricos primários, tanto para os epitélios do palato e planta do pé como para a lâmina própria do palato, utilizou-se de um retículo, ou grade de integração II Zeiss, colocado em uma ocular de compensação Kpl 8x Zeiss.

De acordo com a figura 11, o sistema teste está constituido por 10 linhas paralelas dentro de uma área quadrangular. Sobre as linhas existe um total de 100 pontos distribuídos simetricamente.



Figura 11 : Retículo de integração II Zeiss

No sistema óptico utilizado, com objetiva Zeiss de 100X as dimensões do sistema teste valem

a) cada lado do quadrado	Ξ	128,83 μm;
b) área do sistema teste	=	$16468,59 \mu { m m}^2;$
c) comprimento de cada linha	_ =	116,70µm;
d) comprimento total das linhas	=	1167,00µm;
c) distância entre as linhas	=	11,67µm;
f) número de pontos em cada linha	=	10;
g) número total de pontos	=	100.

4.5.4. DENSIDADES DE VOLUME CORRIGIDAS DO NÚCLEO E DO CITOPLASMA DA CÉLULA EPITELIAL, E RELAÇÃO NÚCLEO/CITOPLASMA

Como já citado no ítem 4.5.2. a densidade de volume do núcleo corrigida (Vv_{nc}) da célula epitelial, é calculada a partir da densidade de volume do núcleo (Vv_n), de acordo com a relação:

$$Vv_{nc} = \underline{1}_{K_o} \cdot Vv_n$$

onde Ko, é o fator de correção definido na secção 4.5.2..

Portanto a densidade de volume corrigido do citoplasma (Vv_{cc}) será dado pela relação:

 $Vv_{cc} = 1 - Vv_{nc}$

Para a obtenção da relação núcleo- citoplasma (N/C) das células epiteliais das diferentes camadas, é suficiente encontrar-se a relação entre as densidades de volumes corrigidas do núcleo e do citoplasma, ou seja:

 $\frac{N}{C} = \frac{V v_{nc}}{V v_{cc}}$

4.5.5. DETERMINAÇÃO DA ESPESSURA DO EPITÉLIO

A espessura do epitélio e suas respectivas camadas foram estimadas através da planimetria por pontos. Para tanto utilizou-se um microscópio Leitz com o retículo de integração II Zeiss (Fig.11), colocado em uma ocular 8 x e objetiva Leitz 25 x para as regiões consideradas do palato e da planta do pé.

Com o auxilio de uma lâmina calibrada Leitz, a área total do retículo para o aumento considerado foi calculada em 16.468,59 μ m² e seu lado em 128,33 μ m.

A espessura média (Ec) do epitélio das regiões do palato e planta do pé, podem ser então avaliadas a partir da área ocupada por ele $(Ac) em (mm^2)$ e a extensão do lado do retículo (1) em (mm), portanto:

 $Ec(mm) = Ac(mm^2)$ 1 (mm)

Com o mesmo raciocínio é possível estimar-se a espessura de cada camada particular relativas aos tecidos epiteliais.

4.5.6. DETERMINAÇÃO DO RAIO MÉDIO DOS NÚCLEOS DAS CÉLULAS DA CAMADA BASAL E ESPINHOSA DOS EPITÉLIOS DO PALATO E PLANTA DO PÉ.

Para obtenção das medidas dos diâmetros nucleares foi utilizado um microscópio Leitz, com ocular micrométrica Olympus, de filamento descolavel, tipo RAMSDEN, de aumento 10x e objetiva de imersão Leitz, 100x. Essa ocular possui um retículo com duas linhas perpendiculares entre si, na qual a estrutura a ser mensurada deverá ficar tangente em um ponto pré-estabelecido. A partir daí movimenta-se as linhas até que estas tangenciem a outra extremidade, fazendo-se neste ponto a anotação da medida.

Devido ao fato da unidade de medida da ocular micrométrica ser arbitrária, teve-se o cuidado inicial de calcular um fator de conversão para que as medidas tivessem valores em micrômetros. Cada divisão do tambor da ocular com objetiva 100 x corresponde à 0,060241 um que multiplicado aos valores dos diâmetros medidos fornece os diâmetros em micrômetros.

Dada à pequena variabilidade da amostra, o teste de homogeneidade garante que as medidas de 20 núcleos já seria suficiente para a análise estatística. Foram medidos os diâmetros de 25 núcleos da camada Basal e Espinhosa do epitélio palatino e posteriormente o da planta do pé.

Com a obtenção dos diâmetros, o raio médio foi calculado a partir da média geométrica dos diâmetros ortogonais:

$$r = \frac{\sqrt{D_1 \cdot D_2}}{2}$$

onde D₁ e D₂ são os diâmetros ortogonais

4.5.7. DETERMINAÇÃO DO VOLUME MÉDIO NUCLEAR, CITOPLASMATICO E CELULAR DAS CAMADAS ESPINHOSA E BASAL NOS EPITÉLIOS DO PALATO E PLANTA DO PÉ.

Considerando-se como estruturas esféricas os núcleos das células das camadas espinhosa e basal, o volume nuclear médio é dado por

$$V_n = \frac{4}{3}\pi r^3$$

onde r = raio do núcleo

Conhecendo-se a densidade do volume do núcleo (Vv_n) , e do citoplasma (Vv_c) da célula epitelial (item 3.5.4.) e o volume médio absoluto do núcleo (Vn) determinou-se diretamente o volume médio citoplasmático $(Vc) em \mu m^3$, aplicando-se a seguinte relação

$$V_{c} = \frac{V_{n}.V_{v_{c}}}{V_{v_{n}}}$$

O volume absoluto médio da célula epitelial, para cada amostra foi obtido a partir da simples soma do volume médio do núcleo e do citoplasma, ou seja:

volume celular $(em \mu m^3) = V_n + V_c$

4.5.8. DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE CÉLULAS POR mm3 NO EPITÉLIO DAS CAMADAS ESPINHOSA E BASAL DO PALATO E PLANTA DO PÉ.

O número de células por unidade de volume pode ser avaliado a partir da densidade de volume do núcleo (Vv_n) e o volume médio do núcleo (V_n) . Para isto, transformamos a unidade de volume considerada (no caso mm³) na mesma unidade de medida que esta expressa o volume nuclear (um³), mantendo-se a relação:

número de células ------densidade de volume do núcleo(Vvn)

 $1,0 \ge 10^9 \ \mu m^3$ -----Volume médio do núcleo(V_n) (μm^3)

Então:

número de células /mm³ = $\frac{1 \times 10^9 \text{ .Vv}_n}{\text{V}_n}$

4.5.9. ESTIMATIVA DA DENSIDADE DE VOLUME DAS DIFERENTES ESTRUTURAS DA LÂMINA PRÓPRIA DA MUCOSA PALATINA.

A fração de volume, ou densidade de volume ocupada pelas diferentes estruturas do tecido conjuntivo foi avaliada através da volumetria de pontos, de maneira semelhante à descrita anteriormente no ítem 4.5.2..

Utilizou-se, nesta análise, o microscópio Leitz com o retículo de integração II Zeiss (fig 11) colocado em uma ocular Kpl 8x e objetiva 100 x. Assim, a imagem do retículo foi superposta aos campos microscópicos, sendo anotados quantos pontos coincidiram sobre vasos sanguíneos e núcleos de fibrosblastos.

Foram estimados 20 campos microscópicos por amostra o que determinou uma contagem de 2.000 pontos para cada amostra.

A densidade de volume de cada estrutura (Vvi) foi então calculada, dividindo o número de pontos coincidentes sobre cada estrutura (Ppi) pelo número total de pontos (P); ou seja:

$$Vv_i = \frac{Pp_i}{P}$$

Não foi considerado o efeito Holmes uma vez que é possível sua correção ao tratarse de estruturas esféricas. Admitiu-se portanto um erro de 5% (0,05%) na avaliação da densidade de volume de vasos sangüineos e núcleos de fibroblastos.

4.5.10. AVALIAÇÃO DO NÚMERO ABSOLUTO DE FIBROBLASTOS NA LÂMINA PRÓPRIA DA MUCOSA DO PALATO.

A quantificação da população de fibroblastos da lâmina própria da mucosa do palato foi feita pelo método II de Aherne⁽¹⁾ utilizando-se do mesmo microscópio, retículo de integração II Zeiss colocado em uma ocular Kpl 8x Zeiss e objetiva 100x tomando-se 20 campos microscópicos ao acaso para cada amostra.

O número de células presente em uma unidade de volume processada histológicamente é dado por:

$$N = 2n x Vp A (id + 2t)$$

onde N = n° de células por unidade de vol. de tecido processado.

n = número de núcleos encontrados na área A;

Vp = volume processado $(1,0 \times 10^9 \mu m^3)$

- A = área total examinada (área do retículo multiplicada pelo número de campos, ou seja, 16.568,59 μ m² x 20);
- i = c/n (onde c = numero de "crosses");
- d = distância entre as linhas do retículo $(11,67 \,\mu \text{m})$
- t = espessura do corte = $7 \,\mu$ m.

O número de 20 campos microscópicos por amostra, utilizado para a avaliação do número de células na lâmina própria da mucosa do palato, foi determinado após aplicação do teste estatistico de homogeneidade (Gomes)⁽¹⁶⁾.

4.6. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

4.6.1 PROVA U DE MANN-WHITNEY

Além dos testes estatísticos utilizados para determinação do número de amostras e das medidas necessárias para aplicação dos métodos morfométricos, as comparações dos resultados obtidos foram levados a efeito através da aplicação do teste não paramétrico de Mann-Whitney, uma vez que este teste não tem exigência quanto à distribuição e tamanho das amostras analisadas.

A prova U de Mann-Whitney⁽⁴¹⁾ é uma das mais poderosas provas não paramétricas, para comprovar a hipótese de duas amostras independentes extraídas de uma mesma população.

Esta prova constitui uma alternativa de prova paramétrica t, e é aplicável em medidas que possam ser colocadas em escala ordinal, admitindo amostras bastante pequenas. Primeiramente, deve-se ordenar as duas amostras, conjuntamente, e em ordem crescente, atribuindo-se postos aos valores ordenados.

Chamam-se R_1 e R_2 à soma dos postos das amostras de tamanho n₁ e n₂ respectivamente.

Para o cálculo de U, a formula a ser utilizada é:

Admitindo-se serem as duas amostras provenientes de uma mesma população, estabelece-se a hipótese de nulidade, H_0 , sendo hipótese alternativa H_1 , quando se diz ser uma das amostras provenientes de uma população de valores maiores que os valores da outra, aceita-se ou não Ho, comparando-se o menor valor calculado de U com valores de U tabelados. Sempre que o valor de U Calculado for menor ou igual ao U tabelado, a hipótese de nulidade, ${\rm H}_0$ é rejeitada.

4.6.2. CÁLCULO DO EPM (ERRO PADRÃO DA MÉDIA)

O cálculo do erro padrão da média (EPM) foi realizado através da seguinte fórmula:

EPM =
$$\sqrt{\frac{S^2}{N}}$$

onde : S = desvio padrão

N = número de exemplares de cada grupo.

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. CAMPO MAGNÉTICO DA BOBINA DE RADIOFREQUÊNCIA

As medidas da intensidade do campo magnético nas direções definidas na figura 10, para o caso em que a bobina de rf estava sendo alimentada por uma corrente, estão apresentadas nas Tabelas 1, 2, 3, 4 e 5.

y X	3	2	1	0	-1	-2	-3
4	27.0	21.0	20.5	22.0	24.0	29.5	46.0
3	30.0	22.0	20.5	21.5	24.0	30.0	47.0
2	27.5	20.0	19.0	20.0	22.0	26.0	42.0
- 1	24.0	18.0	17.5	18.0	19.0	22.5	36.0
	21.5	17.0	15.0	15.0	16.0	18.0	30.0
-1	19.0	14.5	13.0	12.5	13.0	14.0	23.0
-2	18.0	13.0	11.5	10.5	10.0	10.0	15.5
-2	16.0	12.0	10.0	8.5	7.5	8.0	11.5
-0.	17.0	12.5	10.0	8.0	6.0	6.0	8.5
-4	17.0	12.5	10.0	8.0	6.0	6.0	0.5

Voltagem (mV) no plano Z = 0

Os valores de X e Y estão em cm

Tabela 1. Valores de voltagens observados no osciloscópio, obtidos através da movimentação da bobina de prova no interior da bobina de rf no plano Z = 0.

V X	3	2	1	0	-1	-2	-3
4	33.5	24.0	22.0	23.0	26.0	32.0	62.5
3	33.0	25.0	22.5	23.0	25.2	32.0	58.0
2	30.0	23.0	21.0	21.0	23.5	28.0	52.0
1	27.0	21.0	19.0	19.0	20.0	24.0	43.0
. 0	25.0	18.5	16.5	18.0	17.0	19.0	36.5
-1	21.0	16.5	14.0	16.5	13.5	15.5	28.0
-2	19.0	14.0	12.0	11.0	10.5	11.5	19.0
-3	17.5	13.0	11.5	9.0	8.0	8.0	12.5
-4	19.0	14.5	11.5	9.0	7.0	6.0	9.0
1			2		And a subscription of the local division of		

Voltagem (mV) no plano Z = 1

Os valores de X e Y estão em cm

Tabela 2. Valores de voltagens observados no osciloscópio, obtidos através da movimentação da bobina de prova no interior da bobina de rf no plano Z = 1.

v X	3	2	1	0	-1	-2	-3
4		27.5	23.0	23.5	26.0	31.0	45.0
3		28.0	23.0	23.0	25.5	30.0	44.0
2		26.5	21.5	21.0	23.0	27.0	38.0
1		23.0	20.0	19.0	20.0	23.0	33.5
0		22.0	17.0	16.5	16.5	18.5	23.0
-1		18.5	15.0	14.0	13.5	15.0	22.5
-2		16.5	12.5	12.0	12.0	12.0	18.0
-3		15.0	11.5	10.0	9.0	9.5	14.0
-4		15.0	11.5	9.5	8.0	8.0	10.0

Voltagem (mV) no plano Z = -1

Os valores de X e Y estão em cm

Tabela 3. Valores de voltagens observados no osciloscópio, obtidos através da movimentação da bobina de prova no interior da bobina de rf no plano Z = -1

y X	3	2	1	0	-1	-2	-9 -9
4		37.0	34.0	30.5	32.5	46.5	
3		35.5	34.0	31.0	33.5	48.5	
2		33.5	33.5	28.5	31.0	41.0	
1		34.0	26.0	24.0	26.5	29.0	
0		26.0	25.5	22.0	22.5	30.0	
-1		21.5	20.0	17.0	17.5	22.0	
-2	٠	19.0	17.0	14.0	14.5	17.5	
-3		18.0	15.5	12.5	12.0	13.5	
-4		20.5	17.5	12.5	10.0	10.0	

Voltagem (mV) no plano Z = 2

Os valores de X e Y estão em cm

.

Tabela 4 Valores de voltagens observados no osciloscópio obtidos através da movimentação da bobina de prova no interior da bobina de rf no plano Z = 2
v X	3	2	1	0	-1	-2	-3
4			33.0	31.5	34.0	46.5	
3			35.0	31.0	33.5	46.0	
2			31.0	28.5	31.0	41.0	
1			28.5	25.5	27.0	38.0	
0			24.0	22.5	23.0	31.0	
-1			21.0	19.0	18.5	25.0	
-2			16.0	16.0	15.0	20.0	
-3			15.0	13.0	12.5	16.0	
-4			13.0	11.5	10.5	13.5	

Voltagem (mV) no plano Z = 2

Os valores de X e Y estão em cm

Tabela 5. Valores de voltagens observados no osciloscópio, obtidos através da movimentação da bobina de prova no interior da bobina de rf no plano Z = -2

Inicialmente, foi feito uma análise da variação da intensidade do campo magnético na direção y para os seguintes valores de x e z: (0, y, 1), (0, y, 0), (0, y, -1), (1, y, 1), (1, y, 0), (1, y, -1), (-1, y, 1), (-1, y, 0), (-1, y, -1). Os valores de V utilizados são as colunas de dados que estão em destaques nas tabelas 1, 2 e 3. A figura A, mostra o comportamento do campo magnético nas direções: (0, y, 1), (0, y, 0) e (0, y, -1). Estes gráficos são resultados de aplicar-se o método dos mínimos quadrados aos dados experimentais.



Figura A - Mapeamento do campo Magnético nas direções (0, y, 1), (0, y, 0) e (0, y, -1), mostrando seu comportamento ao longo do eixo central da bobina. Aplicou-se o método dos mínimos quadrados nos três gráficos.



Figura B. Mapeamento do campo magnético no interior da bobina de rf no plano Z = 0.



Figura C. Mapeamento do campo magnético no inteior da bobina de rf no plano Z = 1.



Figura D. Mapeamento do campo magnético no interior da bobina de rf no plano Z = -1.

O mapeamento do campo magnético em planos particulares, no interior da bobina de rf, também pode ser feito com os dados apesentados nas tabelas 1, 2, 3, 4, e 5. Nas figuras B, C, e D são apresentados respectivamente o mapeamento do campo magnético nos planos z = 0, z = 1 e z = -1.

Antes de ser feita uma discussão sobre as características do campo magnético no interior da bobina de rf, tentaremos mostrar, que de fato as leituras obvervadas no osciloscópio correspondem a quantidades proporcionais à intensidade B do campo magnético. Para isto, vamos considerar que nossa bobina de rf pode ser aproximada à um solenóide, como mostrado na figura 2. A equação (2) nos permite calcular o valor do campo magnético ao longo do seu eixo axial, utilizando- se os seguintes parâmetros que caracterizam a bobina de rf:

N: número de espiras = 14,5 L: comprimento da bobina = 9,35 $\times 10^{-2}$ m a: raio da bobina = 3,92 $\times 10^{-2}$ m

enquanto que a amplitude da corrente aplicada foi I = 1,54 A (uma explicação sobre a determinação deste valor. é apresentado na secção 5.3)

De acordo à figura E, pode-se considerar que os valores das intensidades (v) nos pontos (0, 1, 0), (0, 0, 0) e (0, -1, 0) são aproximadamente constantes, dentro de uma aproximação de 10% com relação ao valor no ponto (0, 0, 0).



Figura E. Comportamento do campo magnético ao longo do eixo central da bobina de rf para os pontos (0, 1, 0), (0, 0, 0) e (0, -1, 0). Foi aplicado o método dos mínimos quadrados no gráfico obtido.

Logo da equação (2) podemos concluir que: $B(1) = 226,6 \,\mu$ T (microTesla) $B(0) = 230,5 \,\mu$ T $B(-1) = 226,6 \,\mu$ T. Como estes valores são correspondentes aos observados no osciloscópio em mV, podemos concluir por comparação com os valores respectivos da figura E, que para transformar as leituras de mV do osciloscópio, em unidades de μ T, basta multiplicar pelo fator médio:

 $K = 15,32 \,\mu T/mV.$

Da figura A e da análise de outros gráficos similares pode-se observar que a intensidade do campo magnético é aproximadamente uniforme no espaço compreendido entre os pontos: (1, 2, 1), (-1, 2, 1), (1, 2, -1), (-1, 2, -1), (1, -2, 1), (1, -2, -1) e (-1, -2, -1), quecorresponde a um prisma retangular locallizado simetricamente ao eixo axial da bobina. Esteprisma tem um comprimento de 4 cm na direção do eixo axial e uma secção transversalquadrada de 2 cm de lado. Também notamos destas figuras e dos dados das tabelas 1, 2, 3, 4 e5, que perto das espiras da bobina, a intensidade do campo magnético experimenta um forteacréscimo em seus valores.

Já em torno da região que corresponde às bases do formato cilíndrico das bobinas, a intensidade do campo magnético tem pouca variação em relação aos valores na parte mais interna da bobina. Este comportamento da variação da intensidade do campo magnético no interior das bobinas de rf, é observada mais nitidamente, nos gráficos tri-dimensionais mostrados nas figuras B, C e D.

5.2 CAMPO MAGNÉTICO DA BOBINA DE RF ACOPLADA AS BOBINAS DE MAXWELL

Os valores das medidas observadas no osciloscópio ao movimentar-se a bobina de prova nas direções mostradas na figura 10, quando a bobina de rf mais as de Maxwell, estão sendo alimentadas por suas respectivas fontes; são apresentadas nas tabelas 6, 7, 8, 9 e 10

Neste caso também foi feito o mapeamento do campo magnético em planos particulares, no interior da bobina de rf. Utilizando-se os dados das tabelas 6, 7 e 8, as figuras f, G e H representam respectivamente o mapeamento do campo magnético nos planos z = 0, z = 1 e z = -1

Ao comparar-se os dados experimentais apresentados nas diversas tabelas e as figuras B com F, C com G e D com H, notamos que a distribuição das linhas de campo magnético no interior da bobina de rf é a mesma estando ou não acopladas às bobinas de Maxwell. As alterações nos valores das intensidades do campo magnético, em alguns pontos do interior da bobina, chega no máximo a um desvio de 5%. Assim para o cálculo da energia eletromagnética no interior das bobinas de rf e Maxwell, é suficiente considerar-se o campo produzido somente pela bobina de rf.

y X	3	2	1	0	-1	-2	-3
4	22.0	17.5	17.0	18.5	22.5	28.0	51.0
3	26.0	19.5	18.5	20.5	24.0	30.5	52.0
2	28.0	19.5	18.0	19.5	22.0	27.0	45.0
1	26.5	18.0	17.0	17.5	19.5	23.5	42.0
0	21.5	16.0	15.0	15.5	16.0	18.5	30.0
-1	19.5	19.0	13.0	12.5	13.0	15.0	22.0
-2	17.0	12.5	11.0	10.5	10.5	11.0	14.0
-3	16.5	12.5	10.5	9.0	7.5	7.0	9.0
-4	16.0	12.5	10.0	8.0	6.0	4.5	5.0

Voltagem (mV) no plano Z = 0

Os valores de X e Y estão em cm

Tabela 6. Valores de voltagens observados no osciloscóspio; obtidos através da movimentação da bobina de prova no interior no interior das bobinas de de rf e Maxwell no plano Z = 0.

y X	3	2	1	0	-1	-2	-3	
4	32.5	23.5	22.0	23.0	26.5	35.0	60.0	
3	42.0	26.0	24.0	25.5	28.5	38.0	70.0	
2	38.0	26.0	24.5	25.0	28.0	34.0	57.0	
1	36.0	24.5	23.0	23.0	26.0	30.0	48.0	
0	32.5	22.0	21.0	21.5	22.5	26.0	34.5	
-1	27.5	20.0	18.0	17.5	19.0	21.5	29.5	
-2	26.0	18.0	17.0	16.0	17.0	18.0	24.0	
-3	25.0	18.0	16.0	15.0	14.0	15.0	18.5	
-4	25.0	19.0	16.0	14.0	12.0	14.0	13.0	

Voltagem (mV) no plano Z = 1

Os valores de X e Y estão em cm

Tabela7. Valores de voltagens obervados no osciloscópio, obtidos através da movimentação da bobina de rf no interior das bobinas de rf e de Maxwell no plano Z = 1

×	3	2 .	1	0	-1	-2	-3
4	32.0	24.0	23.0	23.5	28.0	36.0	72.0
3	33.0	27.0	24.5	26.0	30.0	39.0	88.0
2	35.5	28.0	25.0	26.0	28.5	35.0	67.0
1	31.5	26.0	24.0	25.0	27.0	32.5	55.0
0	26.0	23.0	22.0	22.0	23.5	28.0	52.0
-1	25.0	22.0	19.5	20.0	21.0	24.0	44.0
-2	25.0	20.0	18.0	17.0	18.0	20.5	33.0
-3	22.5	19.5	16.5	15.0	15.5	16.5	24.0
-4	22.0	20.0	16.0	14.0	13.0	13.0	18.5

Voltagem (mV) no plano Z = -1

Os valores de X e Y estão em cm

Tabela 8. Valores de voltagens observados no osciloscópio, obtidos através da movimentação da bobina de prova no interior das bobinas de rf e Maxwell no plano Z = -1.

		-	• •	•			
×	3	2	1	0	-1	-2	-3
4		29.5	25.5	26.5	31.0	44.0	62.0
3		32.5	28.0	28.0	36.0	45.0	68.0
2		31.5	27.5	28.0	32.5	42.0	65.0
1		29.0	25.0	26.0	28.5	36.5	56.0
0		26.0	22.5	23.0	25.0	30.0	52.0
-1		22.5	20.0	20.0	21.0	25.5	38.0
-2		21.0	18.0	17.5	18.0	21.0	28.0
-3		20.5	17.0	15.5	15.0	16.0	22.0
-4		21.0	17.0	14.5	13.0	12.5	15.0

Voltagem (mV) no plano Z = 2

Os valores de X e Y estão em cm

Tabela 9. Valores de voltagens observados no osciloscópio, obtidos através da movimentação da bobina de prova no interior das bobinas de rf e Maxwell no plano Z = 2.

y X	3	2	1	0	-1	-2	-3	
4		32.0	27.0	28.0	33.0	53.0		
3		35.5	30.0	31.0	37.0	56.0		
2		36.5	30.5	31.0	35.0	54.0		
1		32.5	28.5	29.0	33.0	48.0		
0		31.0	26.5	26.5	38.5	42.0		
-1		28.5	24.0	23.0	27.0	36.0		
-2		24.0	22.0	20.5	22.0	31.0		
-3		21.5	20.0	17.5	18.0	23.5		
-4		20.0	19.0	16.0	15.5	20.0		

Voltagem (mV) no plano Z = -2

Os valores de X e Y estao em cm

Tabela 10. Valores de voltagens observados no osciloscópio, obtidos através da movimentação da bobina de prova no interiordas bobinas de rf e Maxwell no, plano Z = -2.



Figura F. Mapeamento do campo magnético no interior das bobinas de rf e Maxwell no plano Z = 0.



Figura G. Mapeamento do campo magnético no interior das bobinas de rf e Maxwell no plano Z = 1.



Figura H. Mapeamento do campo magnético no interior das bobinas de rf e Maxwell no plano Z = -1.

Com os dados das tabelas 6, 7 e 8 podemos fazer gráficos que nos mostrem a variação da intensidade do campo magnético na direção x, para alguns valores de y e z. Estes gráficos estão apresentados nas figuras I e J.



Figura I. Variação da intensidade do campo magnético na direção x nos eixos y = 0, y = 1 e y = -1, plano z = 0



Figura J. Variação da intensidade do campo magnético na direção x nos eixos z = 1 e z = -1, plano y = 0

Podemos observar dos gráficos mostrados nas figuras I e J, que a intensidade do campo magnético no interior da bobina de rf, é aproximadamente constante no intervalo compreendido entre x = -1 cm a x = 2 cm. Assim, o gradiente de campo magnético na direção x, devido às bobinas de Maxwell, ficará quase uniforme neste intervalo de valores de x, conforme verificado pelas medidas experimentais realizadas somente com as bobinas de Maxwell, antes de ser montado no sistema de irradiação. Em particular para a direção (x, 0, 0), a intensidade do campo magnético é aproximadamente constante dentro do intervalo -2 cm = x = 2 cm. Assim, o gradiente devido às bobinas de Maxwell será constante neste intervalo, o que estava previsto pela equação (10) e pela figura 6.

5.3 DETERMINAÇÃO DA POTÊNCIA ELETROMAGNÉTICA

A bobina de rf utilizada de indutância L, e consequentemente de impedância indutiva XL, (cujo valor depende da frequência da tensão aplicada à bobina), apresenta os seguintes valores para f = 45 KHz;

$$X_{L} = 5,5 \Omega \quad \text{com } L = 18 \,\mu \text{H}$$

Como a resistência interna da bobina é R = 0,0062 Ω , a intensidade da impedância desta bobina será,

 $|Z| = \sqrt{R^2 + X_{L2}} \approx 5.5 \,\Omega$

Por ser a tensão aplicada à bobina da forma,

$$E(t) = \xi_0 \exp(i\omega t)$$

onde, $\xi_0 = 8,5$ V e $\omega = 2 \pi f = 2,8 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$; então a intensidade da corrente através da bobina será

$$I_0 = \frac{\xi_0}{|Z|} = 1,54 \text{ A}$$

e, o ângulo que mede a diferença de fase entre corrente e a voltagem,

$$\theta = \text{tg}^{-1} (\underline{XL}) = \text{tg}^{-1} (887,1) = 89,93 \text{ graus}$$

portanto, a corrente e a voltagem tem uma diferença de fase de aproximadamente 90 graus. Por ser $\theta > 0$, a corrente está atrasada em relação a voltagem.

Conhecendo-se $\xi(t)$ e I(t) = I₀ exp (i ω t-i θ), podemos calcular a potência média \overline{P} , gerada no interior da bobina de rf, através da relação:

 $\overline{\mathbf{P}} = 1/2 |\mathbf{I}_0| |\xi_0| \cos\theta$

Substituindo-se os valores conhecidos, achamos que a bobina de rf funcionando nestas condições, gera uma potência média eletromgnética de

 $\bar{P} = 7,404 \text{ mW}$

este valor nos dá a quantidade de energia por unidade de tempo que incide sobre o animal.

Como o tempo de irradiação do animal foi de 10 minutos, então a energia média eletromagnética absorvida pelo animal é da ordem de

 $\overline{E} = \overline{P} x t = 7.404 x 10^{-3} W x 600 s = 4.44 J = 1,06 cal$

Para calcular a razão de absorção específica (SAR), ou seja a quantidade de energia por unidade de tempo depositada por unidade de peso, faremos o cálculo do SAR para a média do peso inicial do grupo de 5 ratas e da média do peso final;

SAR inicial = $7,404x10^{-3}W/180 x10^{-3}Kg = 40 mW/Kg$

SAR final = $7,404 \times 10^{-3} \text{ W}/315 \times 10^{-3} \text{Kg} = 20 \text{ mW/Kg}$

Com o propósito de usar o SAR em comparações com outros trabalhos, consideramos um SAR médio de 30 mW/Kg.

5.4 RESULTADOS MORFOLÓGICOS

O exame clínico a que foram submetidos os fetos durante a sua remoção uterina não evidenciou alterações visíveis. A tabela 1 nos mostra a média de ganho de peso das fêmeas dos grupos tratado e controle, como também a média do peso fetal, relativa a cada ninhada.

Não houve diferenças estatisticamente significantes a um nível de 5% para o ganho de peso entre os grupos tratado e controle, tanto para as fêmeas, como para os seus fetos.

	Tratado	Controle
Média do ganho das fêmeas	135,5 ±8,1	140,1 ±9,3
Média do peso fetal	4,4 ±0,1	4,5 ±0,1

Tabela1. Média do ganho de peso das fêmeas durante a gravidez; e média do peso fetal (em gramas. Cada média apresenta seu EPM(erro padrão da média)

5.5. RESULTADOS MORFOMÉTRICOS

Com a finalidade de facilitar a interpretação dos resultados morfométricos, somente estamos apresentando as médias dos resultados finais. Desta forma será possível uma visão geral da análise morfométrica do epitélio e lâmina própria do palato e do epitélio da planta do pé. Os resultados parciais correspondentes a cada exenplar (cinco do grupo tratado e cinco do grupo controle), encontram-se no apêndice deste trabalho.

Os resultados marcados com asteriscos nas tabelas a seguir indicam que houve diferença estatisticamente significantes a um nível de 5% entre os grupos tratado e controle. O EPM (erro padrão da média) também foi apresentado para cada resultado.

Ao confrontar os resultados apresentados na tabela 2, entre os grupos tratado e controle, tanto para a camada basal como espinhosa conclui-se que a densidade de volume nuclear, densidade de volume citoplasmático, volume nuclear, volume citoplasmático, volume celular, relação núcleo/citoplasma e número de células/mm3 não apresentaram diferenças estatisticamente significantes no epitélio palatino. A densidade de volume da camada espinhosa também não apresentou diferença relevante. Entretanto a camada basal apresentou sua densidade de volume com diferença estatisticamente significante quando comparou-se o grupo tratado e controle.

	Camada	a Basal	Camad espinho	a Dsa
	Tratado	Controle	Tratado	Controle
Densidade de volume da	0.26	0.29	0.59	0.58
camada	±0.01 *	±0.001 *	± 0.02	±0.01
Densidade de volume nuclear	0.61	0.64	0.38	0.38
	±0.02	±0.02	±0.02	±0.02
Densidade de volume	0.39	± 0.36	0.61	0.62
citopiasmatico	±0.02	±0.02	±0.02	±0.02
Volume nuclear da celula em μm^9	126.56	128.84	168.85	173.54
	±4.32	±5.42	±8.73	±5.28
Volume citopiasmatico da celuia	80.01	73.55	275.35	293.88
em μm³	<u>+</u> 6.33	±7.09	±28.89	±30.72
Volume celularem µm ³	206.57	202.39	444.21	467.41
	±8.24	±10.95	± 34.28	±34.37
Relacao núcleo citopiasma	1.62	1.79	0.63	0.62
	±0.13	±0.13	±0.06	±0.07
Número de células/mm³ (× 10 ⁵)	4.88	4.99	2.31	2.19
	±0.21	±0.26	±0.19	±0.18

Tabela 2. Resultados da análise morfométrica na camada basal e espinhosa do epitélio do palato. \pm EPM. (*A comparação estatística é significante a um nível de 5%).

A tabela 3 mostra a média dos valores para a densidade de volume de queratina e espessuras das camadas de queratina, basal, espinhosa, e epitelial do epitélio palatino.

	Tratado	Controle
Densidade de volume da	0.15	0.13
queratina	±0.01	± 0.01
Espessura da camada de	7.65	6.34
queratina emµm	±0.49	±0.49
Espessura da camada basal	12.82 *	14.02 *
em µm	±0.69	± 0.30
Espessura da camada	29.44	27.99
espinhosa emµm	±2.14	±0.56
Espessura total do Epitélio em µm	49.87 ± 2.61	48.26 ± 1.06

Tabela 3. Média dos valores calculados da espessura do epitélio palatino e suas camadas, como também da densidade de volume de queratina para os grupos tratado e controle. \pm EPM (*A comparação estatística é significante a um nível de 5 %).

Os valores obtidos, nos mostram que a densidade de volume de queratina não apresentou diferenças estatisticamente significantes quando comparou-se os dois grupos. A espessura da camada basal, apresentou-se alterada quando os valores dos dois grupos foram confrontados estatisticamente. As demais espessuras das camadas de queratina e espinhosa não sofreram alterações, como também a espessura total do epitélio.

A análise morfométrica da lâmina própria do epitélio palatino está mostrada na tabela 4. O número de células por unidade de volume de tecido processado, que na maioria são fibroblastos, não apresentou diferenças estatisticamente significantes, como também a densidade de volume de vasos sanguíneos existentes na região da lâmina própria da mucosa palatina.

	Tratado	Controle
Número de células por unidade	22,21	22,33
de tecido processado (x1000)	±1,87	±0,57
Densidade de volume de vasos	0,21	0,15
sangüíneos	±0,03	±0,01

Tabela 4. Média dos valores calculados do número de células/unidade de volume processado e densidade de área de vasos sangüíneos da lâmina própria do epitélio palatino. \pm EPM.

Em resumo, podemos observar que o comportamento do epitélio palatino após ter sido submetido às condições de irradiação já citados, foi o seguinte: a densidade de volume da camada basal sofreu alteração estatisticamente significante, implicando que a quantitade de volume da camada basal em relação ao tecido epitelial é diferentes. Apesar do teste não permitir quantificar esta diferença, a média dos valores de cada grupo, nos mostra que o grupo tratado apresenta um valor menor (0,26) que o grupo controle (0,29). Este resultado refletiu inclusive na espessura desta camada, que também apresentou a média dos valores calculados menor no grupo tratado(12,82 μ m) que no controle(14,02 μ m).

Se há a diminuição da espessura de uma camada celular, existe várias interpretações básicas para este quadro de resultados encontrados. Ou ocorre uma diminuição do número de células desta camada e, ou , uma diminuição no volume celular, de tal forma que possa interferir na espessura desta camada. Porém o teste estatístico não evidenciou nenhuma alteração nestes ítens. O número de celulas/mm³ da camada basal foram muito semelhantes: $4,88x10^{6}/mm^{3}$ para o grupo tratado e $4,99x10^{6}/mm^{3}$ para o controle (tabela 2). O volume celular também apresentou valores muito próximos; $206,57\mu$ m³ para o grupo tratado e 202,39 μ m³ para o grupo controle.

Resolveu-se então fazer-se o mesmo estudo morfométrico em outro tecido epitelial. Optou-se pelo tecido epitelial da planta do pé, que por apresentar uma maior espessura, pudesse então evidenciar com maior nitidez o comportamento de epitélios expostos a rf e gradientes de campos, durante sua formação.

A tabela 5 mostra os resultados da análise morfométrica realizada nas camadas basal e espinhosa do epitélio da planta do pé. A média dos valores calculados das espessuras do epitélio da planta do pé e suas camadas, como também da densidade de volume de queratina estão apresentados na tabela 6

	Camada Basal		Camad espinho	a osa
	Tratado	Controle	Tratado	Controle
Densidade de volume da	0.16	0.19	0.72	0.71
camada	± 0.01 *	±0.002 *	± 0.01	± 0.01
Densidade de volume nuclear	0.58	0.59	0.26	0.27
	± 0.01	±0.01	± 0.01	±0.01
Densidade de volume	0.42	0.41	0.74	0.73
citoplasmático	±0.01	±0.01	±0.01	±0.01
Volume nuclear da celula em μm^3	135.20	132.56	195.71	217.40
	± 8.07	±5.96	± 5.24	±10.99
Volume citoplasmático da célula	97.10	92.24	571.07	588.94
em μm ³	±6.90	±5.99	±51.28	±45.44
Volume celular em µm³	232.3	224.8	766.78	806.34
	± 13.83	±11.72	±54.71	± 50.60
Relação núcleo/citoplasma	1.40	1.45	0.35	0.38
	±0.07	±0.04	± 0.03	± 0.03
Número de células/mm³ (x 10°)	4.36	4.50	1.33	1.26
	± 0.24	±0.25	±0.09	±0.08

Tabela 5. Resultados da análise morfométrica realizada na camada basal e espinhosa do epitélio da planta do pé. ± EPM (* A comparação estatística é significante a um nível de 5%).

A densidade de volume da camada basal apresentou resultados estatisticamente diferentes, exibindo uma média de 0,16 para o grupo tratado e 0,19 para o controle. Resultado que refletiu também na espessura desta camada, que através das médias dos valores podemos observar que o grupo tratado também sofreu uma redução na sua espessura (13,78 μ m) comparado ao grupo controle (15,51 μ m), tabela 6.

	Tratado	Controle
Densidade de volume da	0.12	0.11
queratina	±0.01	±0.005
Espessura da camada de	9.92	8.65
queratina em µm	±0.91	±0.42
Espessura da camada basal.	13.78 *	15.51 *
em µm	±0.23	±0.43
Espessura da camada	60.11	58.25
espinhosa em μm	±2.06	±1.89
Espessura total do Epitello em μm	83.85 ±2.65	82.41 ±2.28

Tabela 6. Média dos valores calculados da espessura do epitélio da planta do pé e suas camadas, como também da densidade de volume de queratina para os grupos tratado e controle. \pm EPM (* A comparação estatística ésignificante a um nível de 5 %).

Enfim, obtivemos resultados no epitélio da planta do pé que nos mostram um comportamento similar ao encontrado no epitélio palatino. Partindo do princípio que não existe diferença no número de células por mm³ e no volume celular (o teste estatístico evidencia estes resultados) para os dois epitélios; uma outra possível interpretação para os resultados obtidos seria que no grupo submetido ao tratamento, poderia ocorrer uma orientação das células da camada basal, de forma que estas células cilíndricas teriam um ângulo de inclinação tal, que a espessura desta camada unicelular ficaria reduzida comparada ao grupo controle. Uma outra hipótese seria que , como o estrato basal é constituido por uma monocamada celular, poderia ocorrer alterações celulares que refletiriam em seu aspecto morfológico sem ocorrer modificação volumétrica passível de ser detectada pelo teste estatístico utilizado. Desta maneira é possível explicar a ausência da variação do volume celular e ou no número de células/mm³.

A presença deste efeito no tecido epitelial do palato e planta do pé evidencia que ocorreu uma interação da radiação eletromagnética com as células da camada basal. Muitos dos efeitos teratogênicos e embriotóxicos induzidos pela radiação de rf durante a formação embrionária e fetal são provavelmente devido à elevação da temperatura causada pela absorção de rf pelos tecidos. Lary⁽²²⁾, trabalhando com roedores, expôs ratas prenhas a campos eletromagnéticos de rf em 27,12 MHz em dias específicos da gestação. O período de exposição, entre 20 a 40 minutos, cessava no instante que a temperatura retal materna alcançava 43 graus centígrados. Foram observados mais de 200 tipos diferentes de anormalidades, sendo que o grupo irradiado no 9º dia de gestação apresentou um maior número e severidade de malformações, tais como: microftalmia, exencefalia, micrognatia maxilar e mandibular, fenda palatina, etc. A taxa de absorção específica dos ratos (SAR) calculada pelo autor a partir da potência de rf absorvida dividido pelo peso corpóreo total variou entre 11.1 a 12.5 W/Kg.

Em um outro trabalho, Lary⁽²¹⁾ interessado em relacionar o grau de hipertermia materna com a severidade de malformações, relatou uma série de trabalhos, relacionando o grau de hipertermia materna, medidas de SAR e os efeitos obtidos. Dietzel et al ⁽¹⁰⁾ irradiaram ratas prenhas com aplicador de diatermia em 27.12 MHz

Dietzel et al ⁽¹⁰⁾ irradiaram ratas prenhas com aplicador de diatermia em 27.12 MHz por 5 a 10 minutos. Os grupos irradiados cuja temperatura retal alcançou 3 ou 4 graus acima da temperatura normal, apresentaram uma alta incidência de mortalidade dos fetos, além de malformações de cauda, membros, olhos, cabeça. O SAR neste trabalho não foi apresentado.

Laskey ⁽²³⁾, também seguindo esta linha de trabalhos, irradiou ratas prenhas em 2.450 MHz e um SAR estimado em 21 W/Kg. Encontrou grande mortalidade pré-natal, média do peso do cérebro e corpóreo reduzidos.

Trabalhos envolvendo tempo de exposição de 2-5 minutos com um alto SAR (93 a 114W/Kg) foram realizados, resultando também numa alta incidência de mortes pré-natais e malformações ⁽⁴⁰⁾.

Um similar espectro de malformações e especificidade do dia é presente em trabalhos de hipertermia que usou meios convencionais de aquecimento⁽¹¹⁾. Em ratos a elevação da temperatura materna de 3 a 5 graus é suficiente para provocar numerosas malformações similares aos resultados apresentados nos trabalhos onde o nível de potência é suficientemente alto para produzir um aumento apreciável na temperatura da rata, e com um alto SAR. Porém pesquisas envolvendo níveis de potência e SAR baixos, dificultam a interpretação dos resultados, uma vez que para afirmar que um efeito da radiação é devido a uma interação específica da mesma sem interferências térmicas, seria necessário ter a segurança que não houve aumento de temperatura no feto. Efeitos não térmicos geralmente relata um efeito que não é associado com um aumento de temperatura.

Tofani et al ⁽⁴³⁾, tentando provar a existência de efeitos não térmicos, usando baixos níveis de potência, expôs ratas prenhas à radiação de rf de 27,12 MHz em diferentes períodos de gestação. A média do SAR foi de 6,51 W/Kg e não houve aumento de temperatura retal da rata. Os resultados variaram desde um aumento na reabsorção fetal, redução no peso das ratas até ossificação cranial incompleta dos fetos. Segundo o autor é possível atribuir alguns efeitos como uma ação específica da rf, independente da temperatura.

Se aceitarmos que não houve aumento da temperatura, segundo Tofani, a este nível de SAR, então podemos estender estas considerações ao nosso trabalho, visto que foi executado a um nível de potência relativamente baixo. Esta consideração poderia ser

reforçada pelo estudo de Beers⁽⁴⁾ que afirma que quando o SAR é pequeno em relação à taxa metabólica, os efeitos são frequentemente considerados de origem não térmicos. Portanto SAR com valores entre 1 e 4 W/Kg podem ser considerados pouco prováveis de provocar efeitos biológicos relacionados à hipertermia.

Neste trabalho, a potência eletromagnética aplicada foi da ordem de 7 mW e o SAR = 30 mW/kg apresentou um valor baixo comparado aos valores citados. Embora tenhamos argumentos para aceitar que a este nível de SAR não haja aumento da temperatura do feto, é impossível afirmar-se. A radiação de rf ao atingir constantemente um tecido biológico pode causar aquecimento significante de orgão internos sem um aumento correspondente da temperatura da pele. Consequentemente receptores de calor na pele podem falhar para ativar mecanismos de refrigeração. A resposta termoregulatória do aquecimento por rf pode ser demorada até que a temperatura do sangue chegue até o hipotálamo. Portanto pode ocorrer que o embrião aqueça, sem haver um acompanhamento de aquecimento materno.

Existem outros trabalhos, mostrando os efeitos da rf a níveis não térmicos. Brown-Woodman et al ⁽⁵⁾ avaliou a função reprodutiva de fêmeas de rato expostas à radiação de rf em 27,12 MHz. Os resultados apresentados sugerem que o acasalamento e ciclo hormonal foram afetados. O SAR não foi calculado. Outros efeitos atribuidos à animais que foram expostos a rf durante sua formação embrionária em níveis de temperaturas maternas não térmicos incluem: decréscimo no número de células Purkinge no cérebro, mudanças nos níveis de adenosina tri, di e monofosfato no cérebro, baixa perfomance em testes comportamentais e outros ⁽²¹⁾. Como visto existe uma série de trabalhos que defendem o status de efeitos induzidos simplesmente pela radiação rf, independente de um aumento na temperatura.

Um outro ponto a ser discutido neste trabalho seria porque a camada Basal mostrouse alterada, e as demais não. Como é sabido as células da camada basal possuem um metabolismo mais acentuado que as demais camadas que são originadas da mesma. Se o tecido epitelial é reciclado em alguns dias, é pelo trabalho contínuo destas células que se multiplicam e renovam a todo dia. Então seriam mais sensíveis a fatores externos do que as demais células. Além do mais o seu posicionamento lado a lado formando uma "barreira celular" seria mais um fator a ser levado em conta.

Nas observações feitas em nosso trabalho seria pouco prudente afirmar que ocorreu uma orientação da célula da camada basal com respeito ao campo eletromagnético, ou uma mudança na sua morfologia, porém existe a possibilidade desta interação entre o campo eletromagnético e as células. Para confirmar esta hipótese, seria necessário um estudo mais especializado que não estão dentro dos objetivos do trabalho.

6. CONCLUSÕES

A exposição de ratas durante a gestação à radiação de rf em 20 MHz, Potência Eletromagnética de 7,4 mW e SAR de 30mW/kg, nestas condições experimentais é capaz de alterar em seus fetos a espessura da camada basal de 2 tecidos epiteliais. Dentro dos estudos morfométricos realizados, este resultado associado aos demais, levam à hipótese de ter ocorrido uma mudança na morfologia ou na orientação das células desta camada;como resultado de uma interação com a energia eletromagnética.

O gradiente de campo magnético aplicado praticamente não contribuiu na intensidade da potência depositada.

O equipamento produzido e testado no laboratório de física do departamento de Geologia, Física e Matemática da F.F.C.L.R.P. poderá ser utilizado em outras experiências que requeiram fontes de rf e gradientes de campos magnéticos.

7. RESUMO - SUMMARY

O presente trabalho teve como objetivo estudar morfologicamente e morfometricamente os epitélios do palato e planta do pé em fetos de rato, cujas mães foram submetidas à radiação de radiofrequência em 20MHz e gradientes de campos magnéticos. As fêmeas eram irradiadas durante dez minutos diariamente, do 1° ao 20° dia de gestação.

A potência eletromagnética aplicada às ratas prenhas foi de 7,4 mw e o SAR = 30mw/kg; cujos valores são considerados na literatura como radiações de baixa intensidade. As comparações estatísticas dos resultados dos grupos Tratado e Controle mostram que a camada basal tanto do epitélio palatino como o da planta do pé, mostrou uma diminuição na espessura e na densidade de volume no grupo submetido ao tratamento. Uma possível interpretação destes efeitos biológicos seriam devido à uma mudança na morfologia das células desta camada, ou uma mudança na sua orientação como consequência da interação com os campos eletromagnéticos.

The present work had an objective of studying morphologycaly and morfometricaly the palatal and the surface of foot epitelial tissues of fetal rats, whose mothers were exposed to radiofrequency radiation of 20 MHz frequency and magnetic field gradients. Females were irradiated 10 minutes dayly, from the 1st to 20th day of pregnancy.

The eletromagnetic power applied to pregnant rats was of 7,4 mW and SAR (Especific Absorption Rate) 30 mW/kg, whose values are in literature considered as being low intensity radiation. Statistical comparitions of results form irradiated and control groups shows that basal extract form palatal and surface of foot epitelial tissues, appears with a reduction of thickness and volume density on the irradiated group. A possible interpretation of these biological efects, may be due to a morphological change from those extracts cells, or a change in orientation, as a consequence of eletromagnetical fields interaction.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AHERNE, W. Methods of counting discrete tissue components in microscopical sections. *J. Royal Micr. Soc.*,v.87,p.493-508, 1967.

2. BASSET, C. A. L. Low energy pulsing electromagnetic fields modify biomedical processes. *Bio Essays*, v.6, p.36-42, 1987.

3.BECKER, R.O. et al. The Body Electric: Electromagnetism and Foundation of life. New York, Morrow, 1985.

4. BEERS, J. G. Biological effects of weak eletromagnetic fields from 0Hz to 200MHz : a survey of the literature with special emphasis on possible magnetic resonance effects. *Magnetic Resonance Imaging*, v.7, p.309-311, 1989.

5. BROWN-WOODMAN, P. D. C. et al. Evaluation of reproductive function of females rats exposed to radiofrequency fields (27,12 MHz) near a shortware diathermy device. *Health Physics*, Vol 56, n.04, p.521-525, 1989.

6. CAMERON, I. L. et al. Retardation of Embryogenesis by extremely low frequency 60Hz electromagnetic fields. *Physiological Chemistry and Physics and Medical NMR*, v.17, p.135-138, 1985.

7. CHALKLEY, H. W. Method for the quantitative morphologic analysis of tissues. J. Nat. Cancer inst., v.4, p.47-53, 1943.

8. COCOZZA, G. et al. Remarks on short wave embriopathy. *Pediatria rivista d'igiene med e chir. dell'infanzia*, v.68, p.7-23, 1960.

9. DELESSE, M. A. Procédé mécanique pour déterminer la composition des roches (Extrait). *C. R. Acad. Sci.*, v.25, p.544-545, 1947.

10. DIETZEL, F. Effects of electromagnetic radiation on implantation and intrauterine development of the rat. Ann. N. Y. Acad. Sci., v.247, p.367-376, 1975.

11. EDW'ARDS, M. J. Congenital defects due to hyperthermia. Adv. Vet. Sci. Comp. Med., v.22, p.29-52, 1978.

12. ELIAS, H. Three - dimensional structure identified from single sections. *Science*, v.174, p.993-1.000, 1971.

13. GAVALAS, R. J. et al. Effects of low level, low - frequency electric fields on EEG and behavioral in <u>Macaca nemestrina</u>. *Brain Res.*, v.18, p.491-501, 1970.

14. GHIETTI, A. Short wave embryopathy: Experimental clinical contribuition - *Minerva Nipiol*, v.5, p.7-12, 1955.

15. GLAGOLEFF, A. A. Quantitative analysis with the microscope by the "point" method. *Eng. Miner.* J., v.135, p.399, 1934.

16. GOMES, F.P. Curso de estatística experimental. 4a ed. Piracicaba, Livr. Nobel, 1970.

17. HENNIG, A. Diskussion der fehler bei der Volumenbestimmung mikroskopisch Kleiner Korper oder Hohbidume aus den Schnittprojektionen. Z. Wiss. Mikr., v.63, p.67-71, 1957.

18. HENNIG, A. Oberflachenmessung in der Mikroskopie. Verh. Anat. Ges., v.54, p.254-265, 1957.

19. HOLMES, A. H. Petrographic methods and calculations. Murby, London, 1927.

20. JOHNSON, C. C.; GUY, A. W. Nonionizing electromagnetic wave effects in biological materials and sistems. *Proceedings of the IEEE*, v.60, n.6, p.692-717, 1972.

21. LARY, J. M.; CONOVER, D. L. Teratogenic effects of radiofrequency radiation. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*, v. , p.42-46, 1987.

22. LARY, J. M. et al. Teratogenic effects of 27,12MHz radiofrequency radiation in rats. *Teratology*, V.26, P.299-309, 1982.

23. LASKEY, J. Progress report on 2450 MHz irradiation of pregnant rats and the effect on the fetus. *Radiation Bioeffects Súmmary Report*, v.70, p.167-173, 1970.

24. MAFFEO, S. et al. Weak low frequency electromagnetic fields and chick embryogenesis: failure to reproduce positive findings. *J. Anat.*, v.157, p.101-104, 1988.

25. MANSFIELD, P.; MAUDSLEY, A. A. Medical e Imaging by NMR. British Journal of Radiology, v.50, p.188-194, 1977.

26 MANSFIELD, P.; MORRIS, P. G. NMR Imaging in Biomedicine: Suplement 2 advances in magnetic resonance. London, Academic Press, 1982.

27. MARCHESE, G. S. Premature birth and multiple congenital malformations due to short waves. *Minerva Nipiol*, v.3, p.100, 1953.

28 MARINO, A. A. Direct current and bone growth. In: Marino, A. A., ed. *Modern Bioelectricity*. New York, Marcel Dekker, 1988.p.785-838.

29 MEDICI, R. Behavioral measures of electromagnetic field effects. In: Marino, A. A., ed. *Modern Bioelectricity*. New York: Marcel Dekker, 1988. p.557-585.

30. MICHAELSON, S. M. Biological effects of radiofrequency radiation: concepts and criteria. *Health Physics*, v.61, p.3-14, 1991.

31. MICHAELSON, S. M. Effects of exposure to microwaves : problems and perspectives. *Environ. Health Perspect.*, v.8, p.133-156. 1974.

32. MICHAELSON, S. M. Health implications of exposure to radiofrequency microwave energies. *Br. J. Ind. Med.*, v.39, p.105-119, 1982.

33. MICHAELSON, S. M. Human exposure to non-ionizing radiant energypotential hazards and safety standards. *Proceedings of the Institute of Electrical and Electronics engineers*, v.60, p.389-421, 1972.

34. OTTANI, V. Influence of pulsed electromagnetic fields on regenerating rat liver after partial hepatectomy. J. Anat., v.139, p.253-263, 1984.

35. PALLADIN, A. M. et al. On the problem of the effect of UHF fields on specific functions in women working with UHF generators. *A Kusherstov Ginekol.*, v.38, p.69-74, 1962.

36. PERSINGER, M. A. et al. Behavioral, physiological, and histological changes in rats exposed during various development stages to ELF magnetic fields. In: Persinger, M. A., ed. *ELF and VLF Electromagnetic Field Effects*. New York: Plenum Press; 1974, p.177-225.

37. PRASAD, N. et al. Safety of 4-TMR Imaging: Study of effects on development frog embryos. *Radiology*, v.174, p.251-253, 1990.

38. PRESMAN, A. S. et al. Biological effects of microwaves. Usp. Sovr. Biol., v.51, p.82-103, 1961.

39. RUBIN, A .; ERDMAN, W. J. Microwave exposure of the human female pelvis during early pregnancy and prior to conception. *Am. J. Phys. Med.*, v.38, p.219-220, 1959.

40. RUGH, R.; Mc MANAWAY, M. Mouse fetal sensitivity to microwave radiation. *Congenital Anomalies*, v.17, p.39, 1977.

41. SIEGEL SIDNEY. Estatística não paramétrica para as ciências do comportamento. Mc Graw-Hill do Brasil, LTDA, 1956.

42. THOMAS, J. R. et al. Low-intensity magnetic fields after operant behavioral in rats. *Bioelectromagnetics*, v.7, p.349-358, 1986.

43. TOFANI, S. et al. Effects of continuous low-level exposure to radiofrequency radiation on intrauterine development in rats. *Health Phisics*, v.51, n.4, p.489-499, 1986.

44. WEIBEL, E. R. et al. Practical stereological methods for morphometric cytology. *J. Cell. Biol.*, v.30, p.23-38, 1966.

45. WEIBEL, E. R., GOMEZ, D. M. A principle for counting tissue structures on random sections. *J. Appl. Phisiol.*, v.17, p.343-348, 1962.

9. APÊNDICE

As tabelas deste capítulo são relativas aos resultados obtidos para os 5 exemplares do grupo tratado e 5 do grupo controle.

Também são apresentados os valores de U calculados para cada ítem, sendo que U <4, implica na rejeição de H_o, ou seja as amostras são estatisticamente diferentes a um nível de 5% de significância.

Identificao geral: MEDIA DO GANHO DE PESO DAS FEMEAS (tratado x controle)(g

Tabela do	o s dados a	mostrais				
Primeira	amostra (5) dado	5:			
141.500	128.000	132.000	162.500	113.500		
Segunda	amostra (5) dado	51		 	
128.000	111.300	159.600	159.700	141.700		
	,					

- محمد مربع بلين حمد معيا المار المله محمد على يعن إلى إلى من حود عما المار المار عن منه المار المار من المار الم

* Teste U de MANN-WHITNEY Valores de U:

U(1) = 11.5U(2) = 13.5

Identificao geral: MEDIAS DOS FESOS FETAIS (gramas) (tratado x controle)

Tabela d	os_dados amo	ostrais					
Frimeira	amostra (5) dados:			 	•= '== <u>=</u> ' ' ' = = = = •	
4.000	4.800	4.700	4.200	4.300	 		a
Segunda	amostra (5) dados:					
4.400	4.200	4.800	4.500	4.600	 		
				·			

* Teste	de MANN-WHITNEY
Valores	e U:
	a Yanda Manaya Maya ya Angala y
U(1) =	
	······································

RESULTADOS MORFOMÉTRICOS

MUCOSA PALATINA

Identificao geral: DENS. DE VOL. DO NUCLEO: ESPINHOSA (tratado x controle)

Tabela d	os dados amo	strais					
Primeira	amostra (5) dados:			 	 	
0.460	0.326	0.385	0.393	0.362	 	 	
Segunda	amostra (5) dados:			 		
0.376	0.472	0.362	0.341	0.338	 	 	

* Teste	U de MANN-WHITNEY
Valores	de U:
U(1) = U(2) =	14.5 10.5

Identificao geral: DENS. DE VOL. DO CITOPLASMA: ESPINHOSA (tratado x contro

Tabela do <mark>s da</mark> do	s amos	trais		
Primeira amostr	a (5) dados:		
0.540 0.6	74 (0.615	0.607	0.638
Segunda amostr	a (5) dados:		
0.624 0.5	28 (0.638	0.659	0.662

* Teste	U de MANN-WHITNEY
Valores	de U:
U(1) = U(2) =	10.5 14.5

Identificac	geral: 1	DENS. DE	VOL. DO	NUCLEO: BASAL	(tratado x control	e)
Tabela dog	dados amo	ostrais				
Primeira an	ostra (5	5) dados	8			
0.630	0.667	0.579	0.565	0.631		
Segunda am	ostra (5	5) dados	:			
0.675	0.673	0.631	0.580	0.635		
* Teste U d	e MANN-WH	ITNEY				
Valores de	U:					
U(1) = 5.5 U(2) = 19.	5					
Identificac Tabela dos	dados am	DENS. DE	VOL. DO (CITOPLASMA:	BASAL (tratado x co	ntrole)
Primeira an	nostra (!	5) dados	1			
0.370	0.333	0.421	0.435	0.369		
Segunda an	nostra (!	5) dados	1			
0.325	0.327	0.369	0.420	0.365		
* Teste U d	le MANN-W					
Valores de	U:					
U(1) = 19. U(2) = 5.	5			المحاج والمحاج و		

Identificao geral: RELACAO NUCLEO/CITOPLASMA: ESPINHOSA (tratado × controle

Tabela do	os dados am	ostrais			
Primeira	amostra (5) dados:			
0.852	0.484	0.626	0.647	0.567	
Segunda	amostra (5) dados:			
0.602	0.894	0.567	0.517	0.510	

* Teste U de MANN-WHITNEY

	,
Valores	de U:
U(1) =	14.5
U(2) =	10.5

Identificao geral: RELACAO NUCLEO/CITOPLASMA: BASAL (tratado x controle)

Tabela do	s dados am	ostrais			
Primeira a	amostra (:	5) dados	r		
1.703	2.003	1.375	1.300	1.710	
Segunda d	amostra (5) dados	<u></u>		
2.077	2.058	1.710	1.381	1.740	
* Teste U	de MANN-W	HITNEY			
					، وہم میں کہولیہ میں بین جان جین پری کی خین ہے۔

Valor	es	de U:	
U(1)	ET.	5.5	
U(2)	E	19.5	

Identificao geral: DENSIDADE DE VOL. DE QUERATINA (tratado x controle)

 Tabela dos dados amostrais

 Primeira amostra (5) dados:

 0.191
 0.174
 0.124
 0.137
 0.147

 Segunda amostra (5) dados:

 0.120
 0.115
 0.148
 0.123

* Teste U de MANN-WHITNEY Valores de U: U(1) = 19 U(2) = 6

Identificao geral: DENS. DE VOL. DA CAM. ESPINHOSA (tratado x controle)

Tabela d	dos dados amo	strais			 	
Primeira	a amostr a (5) dados:				
0.549	7 0.569	0.645	0.594	0.583		
Segunda	amostra (5) dados:			 	
0.600	0.605	0.572	0.567	0.570		
						•
* Teste	U de MANN-WH	ITNEY			 	
Valores	de U:					
U(1) = U(2) =	12 13					

Identificao geral: DENS. DE VOL. DA CAM. BASAL (tratado x controle)

.

Tabela d	os dados amo	ostrais		
Primeira	amostra (5	5) dados:		
0.259	0.257	0.231	0.267	0.270
Segunda	amostra (5	5) dados:		
0.296	0.279	0.279	0.284	0.308

* Teste U de MANN-WHITNEY

Valores de U: U(1) = 0U(2) = 25

Identificao geral: VOLUME NUCLEAR EMµm[®]:BASAL (tratado x controle)

Tabela dos dados amostrais ----_ ___ ___ _____

F'r-	i me	e i r	a a	most	۳a	(5)	dad)s	:
------	------	-------	-----	------	----	---	---	---	-----	----	---

135.570	134.560	123.430	127.450	111.800

Segunda amostra (5) dados:

138.960 129.990 110.080 139.830 125.360

* Teste U de MANN-WHITNEY

Valores	de U:
	dar bern bern bern
U(1) =	10
U(2) =	15

.

Identificao geral: VOL. CITOPL. $EM \mu m^3$: BASAL (tratado x controle)

.

Tabela d	os dados a	mostrais			 	
Primeira	amostra (5) dados	51			
79.620	67.179	89.748	98.125	65.379		
Segunda	amostra (5) dados	5:		 	
66.906	63.160	64.373	101.256	72.057		
		210 July 210 221 200 200 200 200 200 200 200 200				

* Teste U de MANN-WHITNEY Valores de U: U(1) = 17U(2) = 8

Identificao geral: VOLUME CELULAR EM um³: BASAL (tratado x controle)

Tabela do	os dados a	mostrais					
Primeira	amostra (5') dado	5:				
215.190	201.739	212.555	225.575	177.179			
Segunda	amostra (5) dado	51				
205.866	193.150	174.453	241.086	197.417		n sanan gerek kalku kalku gana kauser guner g	
	ana papat dana dana sara sama tata sana sana syata						

* Teste U de MANN-WHITNEY

Valor	~es	de	U:
U(1)	=	16	
U(2)		9	

Identificao geral: VOLUME NUCLEAR $\text{EM}\mu\text{m}^3$:ESPINHOSA (tratado x controle)

 Tabela dos dados amostrais

 Primeira amostra (5) dados:

 171.470
 165.570
 186.810
 137.460
 182.960

 Segunda amostra (5) dados:

 167.360
 166.750
 178.050
 192.210
 163.310

* Teste U de MANN-WHITNEY Valores de U: U(1) = 12 U(2) = 13

Identificao geral: VOL. CITOPL. EM المس ESPINHOSA (tratado x controle)

Tabela dos dados amostrais Primeira amostra (5) dados: 201.270 342.310 278.410 212.310 322.450 Segunda amostra (5) dados: 277.746 186.534 313.800 371.456 319.856 * Teste U de MANN-WHITNEY Valores de U: U(1) = 12 U(2) = 13
Identificao geral: VOLUME CELULAR $EM \mu m^3$: ESFINHOSA (tratado x controle)

Tabela do	os dados ar	nostrais		
Frimeira	amostra (5) dado	5:	
372.760	507.880	485.220	349.770	505.410
Segunda	amostra (5) dado	5:	
445.106	353.284	491.850	563.666	483.166

* Teste U de MANN-WHITNEY

.

	, _
Valores	de U:
U(1) =	12
U(2) =	13

Identificao geral: ESPES. DA CAM. DE QUERATINA EMµm (tratado x controle)

Tabela d	os dados amo	strais			
Primeira	amostra (5) dados:	 ¦		
9.560	6.990	6.870	7.440	7.380 -	
Segunda	amostra (5) dados:	 !		
5,520	5.390	7.830	7.190	5.780	
* Teste l	J de MANN-WH	ITNEY			-

Valores	de	U:
U(1) = U(2) =	19 6	

Identificao geral: ESPES. DA CAM. ESPINHOSA EM μ m (tratado x controle)

Tabela dos dados amostrais

.

amostra (5) dados	51	
22.910	35.740	31.760	27.320
amostra (5) dados	51	
28.360	27.900	27.530	26.500
	amostra (22.910 amostra (28.360	amostra (5) dados 22.910 35.740 amostra (5) dados 28.360 29.900	amostra (5) dados: 22.910 35.740 31.760 amostra (5) dados: 28.360 29.900 27.530

.

* Teste U de MANN-WHITNEY

Valores	de U:
U(1) =	15
U(2) =	10

Identificao geral: ESPES. DA CAM. BASAL EMµm (tratado x controle)

Primeira	amostra (5) dados	5:		
12.960	10.330	12.770	14.450	13.600	
Segunda	amostra (5) dados	51		
13.950	13.090	14.560	13.800	14.760	

Valor	es	de	• U:				
U(1) U(2)	=	4 21					

Identificao geral: ESPES. TOTAL DO EPITELIO EM µm (tratado x controle)

 Tabela dos dados amostrais

 Primeira amostra (5) dados:

 49.980
 40.230
 55.370
 53.450
 50.310

 Segunda amostra (5) dados:

 47.130
 46.840
 52.300
 48.510
 46.520

 * Teste U de MANN-WHITNEY

 Valores de U:

ι.

U(1) = 18U(2) = 7

Identifica	ao geral: 	NUMERO DE	CELULAS/	mm ³ (10 ⁶):E	ESFINHOSA (*	tratado x c	ontrole:
Tabela dos	s dados am	ostrais					
Primeira a	amostra (5) dados	5:				
2.683	1.968	2.061	2.859	1.978			
Segunda a	amostra (5) dados	:				
2.246	2.831	2.033	1.774	2.069			
* Teste U	de MANN-WI	HITNEY					
Valores de	e.U:						
U(1) = 13 U(2) = 12	3 2 						

Identificao geral: NUMERO DE CELULAS/mm³ (10⁶): BASAL (tratado x controle)

Primeira	amostra (5)	dados:		
4.647	4.957	4	.704	4.433	5.644
Segunda	amostra (5)	dados:		
4.857	5.177	5	.732	4.148	5.065

Valores	de	U:	•	 	 	
U(1) = U(2) =	9 16					

LÂMINA PRÓPRIA

Identificao geral: № DE CEL./UN. DE VOL. DE TEC. PROC.(10³) (trat × cont)

Tabela do	os dados ar	nostrais			 	
Primeira	amostra (5) dado	5 8		 	
25.037	18.696	19.083	28.156	20.090		
Segunda	amostra (5) dados	51			
23.365	23.952	21.231	21.130	21.956		
الم يُحتين المعا معين مرين ليهيد ورجع المالي العام	an dijan, anny maan Man shak kini anay jaas giya k	و همین میش شود همی جوی برد. است است ا	· ستر دی هی ۸۵ هک ۵۰ پط بی بی بر			

* Teste U de MANN-WHITNEY

	······································
Valores	de U:
) shows show all the state
U(1) =	10
U(2) =	15

Identificao geral: DENS. DE VOL. DE VASOS SANG. DA LAM. PROPRIA (trat × cor

Tabela do	os dados am	ostrais			
Frimeira	amostra (5) dados			a para bera men nan bera anga anga para kan ana mai nan
0.145	0.133	0.271	0.225	0.259	
Segunda	amostra (5) dados:	na danin puppi samu dese siya suna saha y	And Specific Lands and States and States	
0.143	0.137	0.136	0.138	0.178	

* Teste U de MANN-WHITNEY

Valores de U: U(1) = 19 U(2) = 6

RESULTADOS MORFOMÉTRICOS

EPITÉLIO DA PLANTA DO PÉ

Identificao geral: DENS. DE VOL. DO NUCLEO: ESPINHOSA (tratado x controle)

Tabela dos	dados amo	ostrais					
Primeira a	mostra (S	5) dados	:				
0.298	0.230	0.290	0.252	0.226			
Segunda a	mostra (S	5) dados	:				
0.302	0.314	0.257	0.246	0.241			
* Teste U	de MANN-WH	ITNEY					
Valores de							
U(1) = 8 U(2) = 17	,						
Telephificz			יחו, אח כ		ESPINHOSA	(tratado x	contro
Identificad	o geral: D	ENS. DE	OL. DO C	ITOPLASMA	ESPINHOSA	(tratado x	contro
Tabela dos	dados amo	strais					
Primeira a	mostra (5) dados	:				
0.702	0.770	0.710	0.748	0.774			
Segunda ar	nostra (5) dados	I				
0.698	0.686	0.743	0.754	0.759			
* Teste U d	de MANN-WH	ITNEY					
<u>Valores de</u>	<u>U</u> :						
U(1) = 17 U(2) = 8							

.

۰.

78

Identificao geral: DENS. DE VOL. DO NUCLEO: BASAL (tratado x controle)

Tabela do	os dados amos	strais		
Primeira	amostra (5) dados:	ی چین کہ اکر سے چین اس چی ہے ہے	
0.614	0.590	0.564	0.545	0.599
Segunda	amostra (5) dados:		
0.601	0.569	0.583	0.589	0.612

* Teste U de MANN-WHITNEY

Valores	de U:	
U(1) = U(2) =	11 14	

Identificao geral: DENS. DE VOL. DO CITOPLASMA: BASAL (tratado x controle)

Tabela do	os dados am	ostrais			
Primeira	amostra (5) dados:			
0.386	0.410	0.436	0.455	0.401	
Segunda	amostra (5) dados:			
0.399	0.431	0.417	0.411	0.388	
				* **** ***	

* Teste U de MANN-WHITNEY Valores de U: U(1) = 14 U(2) = 11

Identificao geral: RELACAO NUCLEO/CITOPLASMA:ESPINHOSA (tratado x controle)

Tabela do	os dados	amos	strais			 	
Primeira	amostra	(5) dados:	ł			
0.424	0.299	, <u></u> ,	0.408	0.337	0.292		
Segunda	amostra	(5) dados:			 	
0.433	0.458		0.346	0.326	0.317	 	
	الميك وكرب حجي كالنة النماء وجاة ينجي جروي المة			, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,			

* Teste U de MANN-WHITNEY

Valores	de	ប:	
U(1) =	8		
U(2) =	17		

Identificao geral: RELACAO NUCLEO/CITOPLASMA: BASAL (tratado x controle)

Tabela dos dados amostrais

Primeira	amostra (5) dados:			
1.590	1.440	1.290	1.198	1.494	-
Segunda	amostra (5) dados:			
1.506	1.321	1.378	1.433	1.577	

		~~~		
Valores d	lo 11.		 	
U(1) = 1	.1			
11(2) = 1	1			
	· •			
ملجه محمد وبرثى بمدو بمبو وبيتم جملة تنقله كلكه			 	

#### Identificao geral: DENS. DE VOL. DE QUERATINA (tratado x controle)

 Tabela dos dados amostrais

 Primeira amostra ( 5 ) dados:

 0.112
 0.105
 0.152
 0.112
 0.110

 Segunda amostra ( 5 ) dados:

 0.115
 0.100
 0.117
 0.0101

#### * Teste U de MANN-WHITNEY

Valores	de U:	
U(1) = U(2) =	17 8	
		·

#### Identificao geral: DENS. DE VOL. DA CAM. ESPINHOSA (tratado x controle)

Tabela d	os dados amo	strais				
Primeira	amostra ( 5	5 ) dados	:			
0.717	0.727	0.694	0.713	0.733	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
Segunda	amostra ( 5	5 ) dados	8			
0.693	0.717	0.685	0.721	0.716		

# * Teste U de MANN-WHITNEY

Valores de U:

U(1) = 17.5U(2) = 7.5

## Identificao geral: DENS. DE VOL. DA CAM. BASAL (tratado x controle)

Tabèla dos	s dados amo	ostrais					
Primeira a	mostra ( S	5 ) dados	2 2 2			چینے پیشن سیار زیارہ کرتا ہوتی طلع میں عمل ہیں د	
0.170	0.168	0.154	0.174	0.157			
Segunda a	mostra ( S	) dados	 				
0.192	0.183	0.195	0.189	0.183			
* Teste U	de MANN-WH	ITNEY					
Valores de	U:						
U(1) = 0 U(2) = 25	·						
Identifica	ao geral:	ESPES. DA	CAM. DE	QUERATINA	EMµm	(tratado	x controle)
Tabela dog	s dados am	ostrais					
Frimeira a	amostra (	5 ) dados	1				a allana danan danan dalam dalam dalam dalam dalam dalam dalam dalam t
8.920	9.881	8.340	9.050	13.410			i terdi tadır görmi aladı dinin tinat idleri anta yakın salaş dana yakır (
Coounda							

segunda	amostia (	5.7	uauus:				
9.945	9.111	7.	828	8.726	7.635		
					•		

## * Teste U de MANN-WHITNEY Valores de U: U(1) = 17 U(2) = 8

Identificao geral: ESP. DA CAM. ESPINHOSA EMµm (tratado x controle)

 Tabela dos dados amostrais

 Primeira amostra ( 5 ) dados:

 57.106
 65.770
 54.027
 62.625
 61.021

 Segunda amostra ( 5 ) dados:

 57.673
 52.294
 55.502
 62.432
 61.341

* Teste U de MANN-WHITNEY Valores de U: U(1) = 16 U(2) = 9

Identificao geral: ESPES. DA CAM. BASAL EM µm (tratado x controle)

Tabela do	s dados ar	nostrais		
Frimeira	amostra (	5 ) dados	5:	
13.540	14.116	13.218	14.501	13.538
Segunda	amostra (	5 ) dados	5:	
16.490	14.886	14.180	15.913	16.105

* Teste U de MANN-WHITNEY Valores de U: U(1) = 1 U(2) = 24

Identificao geral: ESPES. TOTAL DO EPITELIO EM $\mu$ m (tratado x controle)

Tabela dos dados amostrais

Primeira	amostra (	5)	dado	s :	
79.560	89.767	75.	780	86.173	87.970
Segunda	amostra (	5)	dado	s :	
86.109	76.292	77.	511	87.072	85.082

* Teste	U de MANN-WHITNEY	
Valores	de U:	
U(1) = U(2) =	16 9	

## Identificao geral: NUMERO DE CELULAS/mm³ (10⁶):ESPINHOSA (tratado × contro

Tabela do	os dados amos	strais			
<b>F</b> rimeira	amostra ( 5	) dados:			 
1.492	1.079	1.594	1.299	1.190	
Segunda	amostra ( 5	) dados:			 
1.526	1.273	1.208	1.029	1.262	

# * Teste U de MANN-WHITNEY

	PF WWW. Alley and a
U(1) =	15
U(2) =	10

## Identificao geral: NUMERO DE CELULAS/mm³ (10⁶):BASAL (tratado × controle)

Tabela do	os dados amos	strais			
Frimeira	amostra ( 5	) dados:			
4.110	4.996	3.566	4.588	4.549	
Segunda	amostra ( 5	) dados:			
4.522	4.165	4.504	3.916	5.395	
* Teste L	J de MANN-WHI	TNEY			
Valores d	ie U:				

## Identificao geral: VOLUME NUCLEAR EM $\mu m^3$ :ESPINHOSA (tratado x controle)

Tabela do	os dados a	mostrais			
Primeira	amostra (	5 ) dados	5:		
199.670	213.190	181.920	193.890	189.900	
Segunda	amostra (	5 ) dados	5:		
197.830	246.570	212.630	238.970	191.020	

* Teste U de MANN-WHITNEY
Valores de U:
U(1) = 6 U(2) = 19

## Identificao geral: VOL. CITOPL. EM $\mu$ m³:ESPINHOSA (tratado x controle)

Tabela dos dados amostrais

Frimeira	amostra (	5)	dado	5:	
470.363	713.723	445.	390	575.514	650.365
Segunda	amostra (	5)	dado	s :	,
457.236	538.680	614.	724	732.453	601.594

#### * Teste U de MANN-WHITNEY

Valores	de	U:					
		*****					
U(1) =	11						
U(2) =	14						

-----

## Identificao geral: VOLUME CELULAR EM $\mu m^3$ :ESPINHOSA (tratado x controle)

Tabela de	os dados a	mostrais				······································	
Frimeira	amostra (	5 ) dado	s:				
670.033	926.913	627.310	769.404	840.265	 		
Segunda	amostra (	5) dado	 5:				
655.066	785.250	827.540	971.423	792.614			

* Teste U de MANN-WHITNEY Valores de U: U(1) = 10 U(2) = 15

## Identificao geral: VOLUME NUCLEAR EM µm³: BASAL (tratado x controle)

U(1) = 13U(2) = 12

Tabela do	os dados an	nostrai	is		
Frimeira	amostra (	5 ) da	ados:		gan gan ban ann ann dan ann ann ann ann ann ann a
149.360	118.080	158.13	30 118.780	131.650	
Segunda	amostra (	5 ) da	ados:		•
132.920	136.620	129.44	0 150.410	113.430	
* Teste U	de MANN-6	HITNEY			
Valores d	e U:				

## Identificao geral: VOL. CITOPL. EM µm⁸:BASAL (tratado x controle)

Tabela do	os dados ar	nostrais			 
Primeira	amostra (	5 ) dado	s:		
93.897	82.056	122.240	99.165	88.133	
Segunda	amostra (	5 ) dado	51		 
88.245	103.485	92.584	104.955	71.913	

#### * Teste U de MANN-WHITNEY

Valores de U: U(1) = 13U(2) = 12

## Identificao geral: VOLUME CELULAR EM /m³:BASAL (tratado x controle)

Tabela d	os dados a	mostrais			 	
Primeira	amostra (	5) dado	s i			
243.257	200.136	280.370	217.945	219.783		
Segunda	amostra (	5) dado	5:			
221.165	240.105	222.024	255.365	185.343	 anna anna anna anna anna anna anna ann	

Valores	de U:
U(1) =	12
U(2) =	13