

---

JABOUR ELIAS<sup>42</sup>  
=Cirurgião Dentista=

DINÂMICA DA INFLAMAÇÃO NOS ESTÁGIOS INICIAIS DA GENGIVITE  
EXPERIMENTAL EM HUMANOS. CORRELAÇÕES CLÍNICO-HISTOPATOLÓGICAS

Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba da  
Universidade Estadual de Campi-  
nas, para obtenção do Grau de  
Mestre em Ciências - Área de  
Biologia e Patologia Buco-Den-  
tal.

PIRACICABA

1991

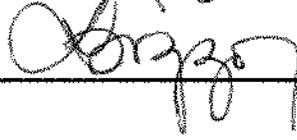
---

EL42d

16212/BC

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

Este exemplar foi devidamente corrigido  
conforme resolução CCPG/038/83  
Piracicaba, 13 de março de 1992.



---

JABUR ELIAS  
=Cirurgião Dentista=

DINÂMICA DA INFLAMAÇÃO NOS ESTÁGIOS INICIAIS DA GENGIVITE  
EXPERIMENTAL EM HUMANOS. CORRELAÇÕES: CLÍNICO-HISTOPATOLÓGICAS

Orientador: Prof. Dr. LOURENÇO BOZZO†

Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba da  
Universidade Estadual de Campi-  
nas, para obtenção do Grau de  
Mestre em Ciências - Área de  
Biologia e Patologia Buco-Den-  
tal.

PIRACICABA

1991

---

À minha esposa LUCIANA,  
dedico este trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. LOURENÇO BOZZO, Professor Titular da Disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela sua capacidade e integridade, na transmissão dos ensinamentos científicos e humanos.

Ao Prof. Dr. **MÁRIO ROBERTO VIZIOLI**, da Disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela sua atenção e participação quando solicitada.

Ao Prof. Dr. **OSLEI PAES DE ALMEIDA**, da Disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela sua participação e atenção quando necessitada.

Ao amigo **PEDRO DUARTE NOVAES**, Técnico Responsável pela Disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, que ajudou e participou em vários momentos durante a realização deste trabalho.

Aos colegas de cursos de pós-graduação: **SILVANA, NILSON, JACKS, LUIS CARLOS, EVANISE, DENISE, MARCOS e ALADIN**, pelo tempo que juntos passamos.

As amigas, **MARIA HELENA VASCONCELLOS PERON e FABIANA FACCO CASAROTTI**, Técnicas do Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela ajuda, compreensão e participação durante o desenvolvimento deste trabalho.

A amiga **ROSA**, Secretária da Disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela sua atenção e prestatividade.

Ao **IVES ANTONIO CORAZZA e ALEXANDRE ROCHA ARBEX**, pela

ajuda no processamento da tese no computador.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, em especial ao Prof. Dr. MATHIAS VITTI.

Aos alunos de graduação da turma de 1987, que foram voluntários deste trabalho, pois sem a sua participação, este trabalho não seria possível de ser realizado.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO . . . . .	01
REVISÃO DA LITERATURA . . . . .	06
PROPOSTIÇÃO . . . . .	14
MATERIAIS E MÉTODOS . . . . .	15
RESULTADOS . . . . .	24
DISCUSSÃO . . . . .	54
CONCLUSÕES . . . . .	66
RESUMO . . . . .	68
SUMMARY . . . . .	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS . . . . .	70

## INTRODUÇÃO

A caracterização de uma gengiva clinicamente normal fundamenta-se num conjunto de critérios convencionais, tais como cor, forma, posição, textura, etc. Evidentemente, estas características constituem a expressão clínica de uma estruturação tecidual que ocorre a nível celular, sub-celular e mesmo a nível molecular. Graças a uma atividade metabólica muito intensa e peculiar, a gengiva responde prontamente aos diferentes estímulos a que está sujeita, seja ele bacteriano, imunológico ou mecânico-funcional. Dentre os mecanismos de defesa, a reação inflamatória é a mais comum e frequente. A presença de células inflamatórias em gengivas consideradas como clinicamente normais tem sido mostrada e discutida por muitos autores (Stallard et al, 1970; Seymour et al, 1983; Oliver et al, 1969; Page et al, 1976). O que se define clinicamente como um tecido "sadio" ou "doente" é uma reflexão do relativo equilíbrio de forças, a um dado tempo, entre aqueles fatores que conduzem à doença e aqueles que contribuem para a saúde. (Danielsen et al, 1989).

As pesquisas tem também documentado o importante papel da microbiota da placa bacteriana no desenvolvimento e progressão da doença periodontal inflamatória. Quando se permite que a placa se acumule na superfície de um dente com gengiva clinicamente normal, pode-se esperar uma sequência de eventos, extremamente

dinâmicos, que se inicia a nível molecular e que se expressa como uma gengivite clinicamente detectável, num período de tempo variável. A gengivite é causada por substâncias derivadas do acúmulo de placa bacteriana no sulco gengival ou próximo a ele; todos os fatores suspeitos, locais ou sistêmicos, ou aumentam o acúmulo e retenção de placa, ou aumentam a susceptibilidade do tecido gengival ao ataque microbiano (Page, 1986). Em ausência de escovação, o sulco gengival é colonizado por uma complexa microflora indígena causando gengivite, que é uma inflamação não específica (Theilade, 1986). Tem sido mostrado também que existe uma relação topográfica entre a posição do depósito microbiano na superfície radicular e o infiltrado celular inflamatório, no periodonto (Lindhe e Nyman, 1987; Helderman, 1981), entretanto, não se sabe ao certo, a que extensão o dano tecidual resulta de uma ação direta das bactérias (Meikle et al, 1986).

A invasão dos tecidos gengivais por bactérias tem sido considerada como fator importante no desenvolvimento das lesões periodontais, e os estudos morfológicos tem revelado bactérias dentro do epitélio da bolsa, do tecido conjuntivo gengival, do osso alveolar, e do epitélio oral (Coons et al, 1989; Silverstern et al, 1990). Estudos imunocitoquímicos também ressaltam a participação da invasão bacteriana na patogênese de lesões periodontais ativas (Nisengard et al, 1987; Saglie et al, 1982; 1985; 1986; 1987; Christersson et al, 1987; Shenker, 1988; Wilton, 1988; Carranza Jr et al, 1983). As publicações evidenciam que a invasão tecidual por microorganismos durante a destruição perio-

dontal nos casos de gengivite ulcero-necrosante-aguda (GUNA), periodontite juvenil e periodontite crônica, já está bem estabelecida. Desde que a invasão bacteriana é geralmente observada em casos avançados, ela é provavelmente, não um pré-requisito para o desenvolvimento da doença periodontal, mas constitui certamente uma importante parte dos processos patológicos (Frank, 1988).

Os microorganismos podem invadir os tecidos moles do periodonto através do epitélio da bolsa ou do epitélio gengival oral podendo a invasão epitelial ocorrer através dos espaços intercelulares aumentados, ou por penetração nas células. Estas bactérias invasoras contribuem à destruição dos tecidos epitelial e conjuntivo e mesmo da crista alveolar (Frank et al, 1988).

Outro aspecto fundamental na patogênese dos tecidos gengivais é o envolvimento do sistema imunológico. Um elevado número de pesquisas desenvolvidas, particularmente na última década, resalta de maneira inquestionável a importância das reações imunológicas no desenvolvimento, progressão e manutenção da doença periodontal inflamatória (Lally et al, 1980; Ebersole et al, 1982; Listgarten, 1986).

Para Brandtzaeg (1988), o sistema imune tem um importante papel protetor do periodonto; entretanto, quando se permite que a placa se acumule no dente, o periodonto se torna área em "conflito imunológico". Os mecanismos imunes muito provavelmente, contribuem significativamente à prevenção da difusão microbiana aos tecidos mais profundos e distantes, mas a eliminação de antígenos, que é o objetivo principal do sistema imune, não pode ser

atingido enquanto a placa persistir. Esta imunidade frustrada pode ser resolvida ou auxiliada, pela remoção mecânica e controle químico da placa, ou por perda do dente, que na verdade poderia ser olhada como uma bem sucedida eliminação imunológica.

Apesar de todos estes conhecimentos de uma gengivite, o problema maior em compreender a patogênese da doença periodontal tem sido a nossa inabilidade para distinguir claramente entre os tecidos normais e os patologicamente alterados (Page e Schroeder, 1976).

O que se sabe é que ao se instalar numa gengiva clinicamente normal, um processo inflamatório, muitos dos sinais clínicos se alteram em consequência de modificações estruturais que estão ocorrendo na intimidade dos componentes teciduais. Uma das alterações histológicas mais discutidas é a modificação da população celular do território conjuntivo imediatamente subjacente ao epitélio sulcular e juncional.

A quantidade de neutrófilos, linfócitos, macrófagos, fibroblastos e mastócitos sofrem constantes modificações conforme estágio da doença periodontal (Payne et al, 1975; Genco et al, 1984; Thilo et al, 1986). Estas variações quantitativas e qualitativas da população celular, durante o desenvolvimento do processo inflamatório na gengiva, podem indicar exacerbação de mecanismos naturais de defesa do organismo, que necessitam um melhor entendimento. A inconstância (óbvia) destas variações tem permitido especulações e hipóteses discutíveis e improváveis sobre a patogênese das doenças gengivais. E estas incertezas, particularmente das

correlações clínico-histopatológicas decorrem, dos graus de validade e confiabilidade atribuídas a cada método, a cada resultado, a cada experimento e a interpretação de cada trabalho publicado. Sabe-se que a transição de uma gengiva normal para uma gengivite é um fenômeno dinâmico, inobservável, que precisa ser visto como uma concepção teórica, e que por isso, dificilmente pode ser expresso por um índice empírico (graus 0,1,2 e 3) ou numa classificação estanque (inicial, precoce, estabelecida e avançada). Apesar da relativa validade e confiabilidade que estas medidas emprestam ao fenômeno, da transição gengiva normal-gengivite, haverá sempre situações específicas que fogem aos padrões estabelecidos.

É necessário que se procure obter mais informações sobre as quais se possa estabelecer interpretações mais consistentes sobre a patogênese da doença gengival inflamatória associada a placa bacteriana.

## REVISÃO DA LITERATURA

### A - GENGIVA NORMAL E GENGIVITE: VARIABILIDADE DOS CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS

Um detalhe fundamental na compreensão da patogênese dos tecidos periodontais é a nossa incapacidade de estabelecer exatamente quando uma gengiva normal, deixa de ser normal e passa a apresentar gengivite.

Clinicamente, uma gengiva normal é caracterizada por uma consistência firme, uma coloração rósea (ou pigmentada), mostrando um contorno recortado da margem de tecido mole que preenche por completo o espaço abaixo do ponto de contacto de dentes vizinhos e que não sangra quando se introduz, delicadamente, uma sonda na área do sulco gengival.

Microscopicamente, a secção histológica de uma gengiva normal mostra de um lado, um epitélio escamoso estratificado, que ratinizado, recobrimdo a gengiva marginal e inserida, denominado epitélio oral. A parte desse epitélio que está voltada para o dente, da crista marginal da gengiva até a porção mais oclusal do epitélio juncional, na base do espaço entre a gengiva e o dente, é denominado: Epitélio Sulcular Oral (ESO). A existência do Sulco Gengival numa gengiva normal é ainda questionada por alguns autores (Wennstron, 1988), porém aceita pela grande maioria (Schluger et al, 1990; Payne et al, 1975).

A grande controvérsia que ainda persiste é sobre os limites (boderline) entre uma gengiva normal, do ponto de vista clínico e histopatológico, e uma gengivite.

Os estudos histológicos tem revelado que, em uma gengiva clinicamente sadia, um pequeno infiltrado de células inflamatórias está sempre presente. Consequentemente, do ponto de vista histológico a gengiva clinicamente sadia pode ser considerada a representar um estágio da gengivite. Clinicamente, entretanto, a gengivite será possível de diagnosticar, em princípio, quando a lesão inflamatória ocupar grande porção do tecido conjuntivo. Wennstrom (1988) fundamentado nestes fatos coloca a questão: Pode o limite entre uma gengiva normal e inflamada ser o aparecimento de sinais clínicos da inflamação (rubor, tumor, sangramento, etc.)?

Em resposta a esta questão, Lang (1988) apresentou resultados indicando que mesmo após 6 meses de rigorosos procedimentos de higiene oral, levando à eliminação de todos os sinais visíveis de inflamação, ainda era possível demonstrar um infiltrado de células adjacentes ao epitélio juncional. Notou que os leucócitos constituíam 20% das células da área teste da gengiva superlimpa, e que perguntou se ele deveria chamar esta condição GENGI-VITE, porque em seu ponto de vista, ela era consistente com seu ponto de saúde. Schroeder (1988) respondeu sugerindo que o que Lang demonstrou foi o que, na literatura antiga era descrito como "inflamação fisiológica", ressaltando a importância de se distinguir entre células inflamatórias residentes e células que passam

através do tecido conjuntivo, como os neutrófilos. A presença de algum nível de atividade dentro do sistema periférico de defesa da gengiva não significa necessariamente que é uma gengiva doente.

A presença de células inflamatórias no tecido gengival tem sido constatada tão logo uma extremidade da coroa dental atravessa o epitélio e a área dente-epitélio torna-se exposta à saliva, microorganismos, partículas de alimentos, influências mastigatórias, etc (Schroeder, 1970). Esta situação não se modifica nem durante a erupção do dente, nem durante toda a vida podendo contudo ser influenciada por fatores diversos, na direção de uma mais severa inflamação ou de uma "gengiva clinicamente normal" (Theilade et al, 1986).

Goes et al (1983), estudando as alterações vasculares durante o desenvolvimento da gengiva de rato notaram que o processo inflamatório e o aumento da permeabilidade vascular na gengiva se iniciam durante a erupção dental e mostram modificações quantitativas e morfológicas durante a organização do epitélio sulcular e juncional.

Sabe-se que a gengiva humana clinicamente normal abriga sempre alguma proporção de leucócitos polimorfonucleares e linfócitos, assim como uma muito pequena porcentagem de plasmócitos e de macrófagos. (Page e Schroeder, 1976; Thilo et al, 1986; Breck et al, 1987).

Lindhe et al (1978) estudando as alterações clínicas e estruturais que caracterizam uma gengiva sadia, observaram que com a eliminação da placa bacteriana, o infiltrado de células in-

flamatórias no tecido conjuntivo subjacente ao epitélio juncional gradualmente desaparece, sendo substituído por colágeno.

"Gengivas clinicamente normais" tem sido muitas vezes usadas como ponto de partida em experimentos clínicos com o objetivo de avaliar as várias características de desenvolvimento da gengivite; contudo, tais gengivas clinicamente normais não correspondem a uma gengiva "histologicamente normal", contendo discreto, porém bem definido infiltrado inflamatório abaixo do epitélio juncional (Page e Schroeder, 1976; Lindhe et al., 1978; Brex et al., 1987).

Isto significa que em alguns desses estudos anteriores, nos quais se procurou avaliar as várias características relativas ao início e ao estabelecimento da gengivite, o que se avaliou, em realidade, foi uma exacerbação aguda de uma lesão já presente há algum tempo, porém, clinicamente não detectável.

Brex et al (1987a) reavaliaram a variabilidade dos critérios histológicos em gengiva humana clinicamente normal usando 5 voluntários com dentições livres de placa e tecidos gengivais saudáveis. Após profilaxia os voluntários realizaram ótima higiene oral, supervisionada durante 6 meses. Apesar desses excelentes resultados em todos os parâmetros clínicos, as características histológicas nos locais de teste, adjacentes à extremidade apical do epitélio juncional se assemelham muito àquelas de uma lesão inicial, descrita por Page & Schroeder (1976). Numerosos trabalhos mostraram que, mesmo em gengiva clinicamente normal, podem ocorrer alterações histológicas sub-clínicas e que, com uma

perfeita higiene oral que promova uma gengiva clinicamente normal persistente por até 180 dias, as características histológicas do compartimento conjuntivo subjacente ao bordo apical do epitélio juncional modificam-se lentamente e exibem porcentagens menores de células inflamatórias (Loe et al, 1965; Oliver et al, 1969; Brex et al, 1987a; Bouwsna et al, 1988).

Brex et al (1987a) ressaltam que ao início do seu experimento os voluntários já apresentavam gengiva clinicamente normal, e que embora os achados histológicos no início e no fim do período experimental fossem significativamente diferentes, parece realístico aceitar a presença de uma pequena discreta inflamação nesta área localizada adjacente ao nível de aderência, como compatível com saúde gengival.

A presença desta discreta inflamação gengival sub-clínica pode ser o resultado de uma história de gengivite prévia; colonização e ou trauma de procedimentos mecânicos de limpeza, e pode representar uma primeira linha de defesa sempre pronta a dominar qualquer desafio mediado por produtos bacterianos ou injúrias traumáticas.

Um dinâmico equilíbrio entre a microbiota periodontal e o hospedeiro geralmente resulta em um estado clínico e saúde periodontal caracterizado por mínimas alterações inflamatórias nos tecidos gengivais marginais (Listgarten, 1988). Qualquer aumento significativo da quantidade de placa acumulada, ou da patogenicidade dos microorganismos, pode provocar uma intensificação desta resposta inflamatória com episódios transitórios de maior destrui

ção tecidual, e presença de um número significativamente maior de células inflamatórias. O aprimoramento das técnicas microbiológicas tem permitido a pesquisadores como Socransky et al (1984), definir melhor a composição das placas associadas com a normalidade gengival ou com gengivites, e verificar que um certo grau de especificidade sempre existe entre a microbiota associada com a saúde gengival a alguns tipos de gengivites e periodontites.

## B - PLACA DENTAL E GENGIVITE

Nenhum agente tem sido mais fortemente implicado na etiologia da doença periodontal inflamatória que a placa bacteriana (Coons et al. 1989; Breuer et al. 1989; Quiryman et al. 1989). Apesar de já estar estabelecido que a placa bacteriana é um pré-requisito para o desenvolvimento de uma gengivite, persiste ainda alguma confusão na literatura sobre a existência ou não de uma relação quantitativa entre os níveis de placa e a severidade da gengivite (Breuer et al. 1989; Winkel et al. 1987; Danielsen et al. 1989).

A julgar pela inspeção clínica da gengiva e pela contagem microscópica de leucócitos nas preparações, a severidade das alterações gengivais aumenta continuamente através do período de não escovação dental (Løe et al. 1965; Winkel et al. 1987), tendo sido mostrado que existe uma forte correlação estatística entre os valores das medidas dos índices de placa e dos índices gengivais (Breuner et al. 1989). Parece de interesse contudo, ressal-

tar que nestas pesquisas prévias sobre gengivites experimentais, os autores não tentaram verificar estatisticamente, a extensão da associação entre placa e gengivite. Entretanto, mais modernamente, através de experimentos rigorosamente conduzidos, Danielsen et al (1989) observaram que não existe uma evidência estatisticamente significativa desta associação. Estes autores mostraram que a um dado tempo, mesmo em presença de acúmulo de placa, locais que estavam previamente inflamados aparentemente convertiam a um "estatus não inflamado" (recuperação), ao mesmo tempo que locais previamente não inflamado convertiam ao "estatus inflamado" (incidência). Isto significa que a dinâmica da gengivite em presença de placa inclui transições em ambas as direções, o mesmo acontecendo após a reinstituição da higiene oral. Segundo estes autores, é a diferença entre as taxas de transição (de não-inflamada a inflamada, e de inflamada para não-inflamada) que determina o resultado final - isto é se a prevalência "da gengivite em um indivíduo é alta ou baixa, se aumenta ou diminui".

Outro detalhe importante no esboço de qualquer protocolo clínico de gengivite induzida, é o estabelecimento da unidade experimental. É claro que diferentes locais dentro de um mesmo indivíduo mostram diferentes padrões de progressão da doença e de morfologia da lesão, e muitas vezes respondem diferentemente à terapia periodontal (Lindhe et al, 1987). Por isso, é importante, que antes de se iniciar o experimento, se estabeleça se a unidade a ser avaliada será o indivíduo, a hemi-arcada ou, por exemplo a papila entre o canino e o incisivo lateral superior. Isto porque,

existem variações, e cada área pode responder diferentemente ao acúmulo de placa de maneira peculiar. Tem sido postulado que o progresso da doença de um dado local é determinado pela natureza e número de patógenos neste local, pela presença e o número de organismos protetores assim como a susceptibilidade do local (do hospedeiro) à infecção e à capacidade de responder à infecção (Lindhe et al, 1987). É ainda uma questão aberta quais os fatores dentro da placa que são responsáveis mais diretos pela inflamação gengival (Loe et al, 1965).

## PROPOSIÇÃO

O presente trabalho pretende investigar em humanos a dinâmica dos eventos inflamatórios e as alterações estruturais que ocorrem numa gengiva normal, em decorrência do acúmulo de placa bacteriana, durante 4 e 8 dias.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### A - PROTOCOLO DO EXPERIMENTO CLINICO

Contou-se, neste trabalho, com a colaboração de voluntários de ambos os sexos, alunos do 2º ano do Curso de Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da UNICAMP. Oitenta voluntários cujas idades variavam de 19 a 23 anos, em média 21 anos, foram examinados, realizando-se exames clínicos para a verificação das condições de saúde geral e bucal, levantando-se as condições dos tecidos bucais, bem como suas relações oclusais, restaurações, próteses, uso prévio de aparelhos ortodônticos, disposição dental, traumas oclusais, áreas de impactação alimentar, falta de relação de contato e outras características de anormalidades. Procurou-se com isso selecionar uma amostra relativamente uniforme de tal sorte que a interferência de tais fatores fossem a mínima possível na padronização da amostra e obviamente, nos resultados a serem obtidos.

Após estes levantamentos nos oitenta voluntários, foram escolhidos 23 voluntários que preenchiam os requisitos para a pesquisa: não apresentavam uso de aparelho ortodôntico; não apresentavam restaurações irregulares; não apresentavam trauma oclusal; não apresentavam uso de medicamentos (principalmente antibióticos). Estes 23 indivíduos, formavam uma amostra relativamente uniforme, e foram divididos em três grupos ao acaso.

Grupo I - Foi constituído de 7 alunos (5 do sexo masculino e 2 do feminino)

Neste grupo, os voluntários permaneceram por 28 dias exercendo intenso e rigoroso controle de placa, coletando-se, ao final do período, amostras de gengiva para análise histopatológica. Isso foi feito para que houvesse certeza de que, gengivas clinicamente normais se tornassem "gengivas verdadeiramente normais" do ponto de vista histológico, isto é, com o menor número de células inflamatórias compatível com o estágio de normalidade. O termo "verdadeiramente normal" foi usado para identificar este grupo, que mesmo possuindo gengivas clinicamente normais se submeteu a meticoloso programa de higiene oral durante 28 dias, tentando produzir uma gengiva "verdadeiramente normal".

Grupo II - Foi constituído por 9 alunos (6 do sexo feminino e 3 do masculino)

Os quais, depois de um período de 28 dias de intenso e rigoroso controle de placa, permaneceram durante 4 dias com abstenção completa de qualquer procedimento de higiene oral. Ao final destes 4 dias, procedeu-se à coleta de espécimens de gengivas, fazendo-se as biópsias nas áreas previamente selecionadas, onde se esperava haver desenvolvido uma lesão inicial segundo Page e Schroeder (1976).

Grupo III - Foi constituído de 7 alunos (4 do sexo feminino e 3 do masculino).

Que após um período de intenso e rigoroso controle de placa por 28 dias, permaneceram durante 8 dias sem realizar qualquer procedimento de higiene oral, permitindo o acúmulo de placa dental. Ao final destes 8 dias, foram realizadas biópsias, para se observar as características microscópicas das alterações estruturais e estabelecer uma correlação com os aspectos clínicos. Esperava-se encontrar neste grupo detalhes compatíveis com a caracterização de uma lesão precoce segundo Page e Schroeder (1976).

Todos os voluntários receberam a mesma orientação sobre o método de escovação dental, tiveram igual número de atendimento profissional (profilaxia) e o mesmo controle por um período de 28 dias, considerados suficientes para o desaparecimento de quaisquer sinais clínicos de inflamação gengival que alguns voluntários pudessem apresentar, ao início do experimento.

De início, todos os voluntários assistiram a um filme sobre higiene oral, e posteriormente receberam instrução pessoal de como deveriam escovar os dentes e utilizar o fio dental. Todos os voluntários usaram o mesmo tipo de escova dental de cerdas macias, de creme dental e de fio dental. Preconizou-se a técnica de Bass para ser empregada neste trabalho.

Três vezes por semana eram realizados controles sobre a escovação e avaliação das condições gengivais dos voluntários. Semanalmente eram realizadas sessões de polimento dental profissio-

nal, usando-se pasta profilática comercial, com taça de borracha montada em motor de baixa rotação, tomando-se o cuidado em não lesionar a área gengival. Todo o experimento foi conduzido dentro de um mesmo período, tendo-se o cuidado de pré-estabelecer dias alternados de atendimento para cada grupo, sem coincidir 2 grupos no mesmo dia.

## B - ÍNDICE DE PLACA (IP) E ÍNDICE GENGIVAL (IG)

Quando da realização dos exames clínicos iniciais, foram levantados os índices de placa (IP) (Silness and Loe, 1964) e índices gengivais (IG) (Loe and Silness, 1963) dos voluntários selecionados, para que se pudesse avaliar as condições do grupo todo, e verificar as condições individuais e necessidade de tratamentos complementares, antes de determinar as divisões dos grupos. Todos os voluntários se apresentavam num mesmo patamar de índices, tanto de placa como gengival, o que possibilitou a divisão dos voluntários ao acaso, em 3 grupos.

Grupo I - Os índices de placa e gengival foram avaliados no dia 0 (inicial) e dia 28 (dia da biópsia). A tabela 2 mostra as médias ( $\bar{x}$ ), o desvio padrão (s) dos dados obtidos.

Grupo II - Foram medidos IP e IG nos dias 0, 28 e dia 32 (dia da biópsia). A tabela 3 mostra as médias ( $\bar{x}$ ), o desvio padrão (s) dos dados obtidos.

Grupo III - Foram medidos IP e IG nos dias 0, 28, e 36 (dia da biópsia). A tabela 4 mostra as médias ( $\bar{x}$ ), desvio padrão

(a) dos dados obtidos.

## C - OBTENÇÃO DE MATERIAL PARA ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

### 1 - Sistematização das biópsias e processamento laboratorial

A realização das biópsias, para observação a nível de microscopia de luz, foram realizadas de acordo com a necessidade do trabalho. Usou-se uma mesma técnica e orientação, a fim de se obter amostras comparáveis, tão uniformes quanto possíveis. Para isso, usou-se anestesia terminal infiltrativa, usando-se como anestésico Citanest com Octapressin a 3%, em agulha descartável de 30mm, distante do local a ser submetido à biópsia, a fim de se evitar interferência na estruturação gengival.

As incisões foram realizadas na região de canino ou pré molar vestibular superior, com bisturi montado em lâmina Bard-Parker numero 15, procurando-se dar certa orientação e paralelismo, para que o material retirado tivesse uma forma retangular. Para isso, foram feitas duas incisões verticais, paralelas e distantes entre si mais ou menos 2mm, na face vestibular (bucal) da área escolhida, e uma incisão horizontal, mais ou menos 3mm da margem livre da gengiva. Procedeu-se então a uma metimeticulosa separação da união dento gengival (epitélio juncional e tecido conjuntivo), retirando-se, com o maior cuidado, o fragmento de gengiva, de forma retangular, que permitisse fácil identificação e orientação da peça durante a fase de inclusão em parafina. Este

fragmento foi fixado em formol neutro a 10%, por 24 horas, processado segundo rotina laboratorial e incluído em parafina. A seguir as biópsias foram seccionadas com 5 microns de espessura, coradas pela hematoxilina e eosina (HE) observadas e fotografadas num microscópio ZEISS. Durante a inclusão teve-se o cuidado de colocar o espécime de tal forma que as secções pudessem mostrar o epitélio juncional, sulcular, oral e o tecido conjuntivo, conforme aparece esquematizado na figura 1.

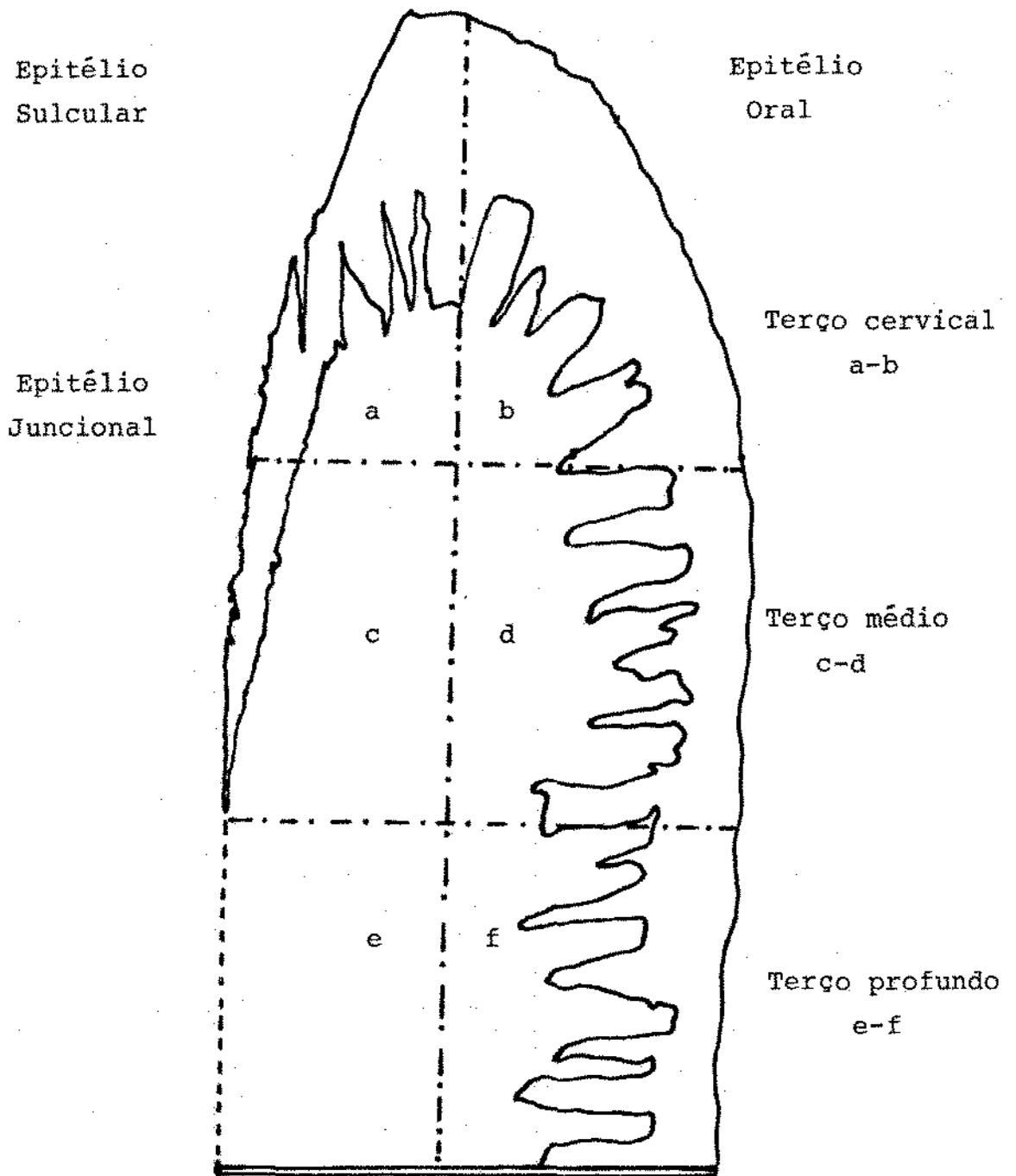


Fig. 1 - Esquema de uma secção histológica de uma biópsia gengival. Identificando os compartimentos de áreas individualizadas para as observações a nível de microscopia óptica.

#### D - CLASSIFICAÇÃO

A classificação histológica do grau de inflamação gengival (0,1,2 e 3) foi feito através da quantificação das células inflamatórias presentes no território conjuntivo. Para cada voluntário foram examinadas 5 lâminas, em cortes semi-seriados, corados em (HE). A contagem das células inflamatórias foi feita num fotomicroscópio Zeiss, usando-se objetiva de 40X e uma ocular integradora (Zeiss KplW-10X), com 25 pontos de intersecção. Para que estas contagens fossem uniformemente realizadas, procurou-se sistematizar as observações sempre em sequência as áreas a, c, e, b, d, e f, conforme mostra a figura 1.

Para cada grupo experimental foram selecionadas 5 lâminas de cada uma das 5 biópsias que apresentavam as melhores condições técnicas para a contagem das células, tais como coloração, espessura, área conjuntiva adequada, riqueza de detalhes, etc.

As células das 5 lâminas de cada biópsia eram somadas, calculava-se a média e atribuía-se o grau de inflamação de cada voluntário de acordo com a média das células inflamatórias presentes em toda a extensão do território conjuntivo.

A atribuição quantitativa dos graus de inflamação (0, 1, 2 e 3) foi arbitrária embora tivesse fundamentada nos experimentos de Oliver et al (1969), Tagliavini R (1982); Thilo et al (1986); Brecx et al (1987 a e b) Harper et al (1987), Marcantônio Jr et al (1988) e Danielsen et al (1989), que de diferentes maneiras tentaram comparar parâmetros clínicos e histológicos, nas

mais variadas circunstâncias. Dentro das condições deste experimento e da sistematização da contagem utilizada, diferentes graus de inflamação foram atribuídos às gengivas conforme o número de células inflamatórias que apresentassem. Para as médias de células inflamatórias/biópsias menor de 10, era atribuído o grau zero (0); entre 11 e 100 o grau 1, entre 101 - 200 o grau 2 e acima de 200 células inflamatórias o grau 3. A tabela mostra de maneira mais objetiva, o acima exposto.

Tabela 1. - Quantificação das células inflamatórias pelo seu grau de inflamação.

Quantidade de células	Grau de infl.
0 - 10	0
11 - 100	1
100 - 200	2
Acima de 200	3

## RESULTADOS

### RESULTADOS CLÍNICOS

Após a seleção dos 23 voluntários que preenchiam os requisitos para a pesquisa, foram levantados os índices de placa (IP) e gengival (IG) de cada um dos voluntários. A seguir, foi realizado o sorteio ao acaso, para formação dos 3 grupos experimentais, e iniciada a pesquisa.

### ÍNDICE DE PLACA E ÍNDICE GENGIVAL

GRUPO I - Ao início do experimento (dia 0) (figs 2 e 4) a média do IP deste grupo era de 0,9571 e do IG era de 0,7142. Após os 28 dias de rigoroso controle de placa e meticulosa higiene oral, os aspectos clínicos das gengivas se mostraram bastante satisfatórios, com gengivas e dentes livres de placa bacteriana, exibindo suas características de normalidade (fig 3 e 5) bem como índices de placa e gengival regredidos a zero, em todos os 7 voluntários deste grupo (tabela 2).

GRUPO II - Da mesma forma que o grupo I, os voluntários deste grupo apresentaram uma resposta bastante satisfatória ao tratamento. As médias dos índices de placa e gengival que no dia zero (figs 6 e 9) foram de 0,5555 e 0,6666 respectivamente, caíram para zero após 28 dias de rigorosa higiene oral (figs 7 e 10)

(tabela 3). A abstenção completa de qualquer procedimento de higiene oral durante 4 dias (do 28 ao 32 dia do experimento), fez com que o índice de placa passasse a 1,4444 e o índice gengival a 0,7777 (tabela 3).

Apesar da presença de placa dental, o aspecto geral, macroscópico da gengiva não apresentava alterações detectáveis a níveis clínicos (figs 8 e 11).

GRUPO III - Este grupo de voluntários também apresentou uma satisfatória resposta aos rigorosos procedimentos de higiene oral fazendo com que os índices de placa e gengival que no dia zero (figs 12 e 15) eram de 0,7142 e 0,8571 respectivamente, caíssem para zero no 28 dia (tabela 4) (figs 13 e 16).

A suspensão de todo e qualquer procedimento de higiene oral durante 8 dias (do 28 ao 36 dia) resultou num significativo aumento da quantidade de placa e desenvolvimento de gengivite clinicamente detectável (figs 14 e 17). Em consequência, os índices de placa e gengival passaram para 2,2857 e 1,1428 respectivamente, no 36 dia (tabela 4).

As tabelas 2, 3 e 4 mostram para os diferentes grupos as médias ( $\bar{x}$ ), o desvio padrão (s) do índice de placa e gengival, antes e depois do acúmulo de placa.

TABELA 2 - Grupo I: Média ( $\bar{x}$ ), e Desvio Padrão (s) dos índices de placa (IP) e gengival (IG), antes do tratamento (dia 0) e após 28 dias de rigoroso controle de placa (dia 28), em 7 voluntários.

	índice de placa (IP)		índice gengival (IG)	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Dia 0	0,8571	0,3499	0,7142	0,4517
Dia 28	0	0	0	0

TABELA 3 - Grupo II: Média ( $\bar{x}$ ), Desvio Padrão (s) dos índices de placa (IP) e gengival (IG) antes do tratamento (dia 0), e após 28 dias de rigoroso controle de placa dia 28) e após 4 dias de acúmulo de placa (dia 32) em 8 voluntários.

	índice de placa (IP)		índice gengival (IG)	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Dia 0	0,5555	0,6849	0,6666	0,6666
Dia 28	0	0	0	0
Dia 32	1,4444	0,4969	0,7777	0,6285

TABELA 4 - Grupo III: Média ( $\bar{x}$ ), Desvio Padrão (s) dos índices de placa (IP) e gengival (IG) antes do experimento (dia 0), após 28 dias de rigoroso controle de placa (dia 28) e após 8 dias de acúmulo de placa (dia 36), em 7 voluntários.

	índice de placa (IP)		índice gengival (IG)	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Dia 0	0,7142	0,4517	0,8571	0,3499
Dia 28	0	0	0	0
Dia 36	2,2857	0,6998	1,1428	0,3499





Fig. 2 - Aspecto clínico de gengiva do grupo I, no dia inicial do experimento (dia 0), mostrando as características de normalidade desta gengiva.

Fig. 3 - Aspecto clínico de gengiva do grupo I, após 28 dias de controle de placa bacteriana (dia 28), mostrando suas características de normalidade. Esta figura representa a sequência da foto 2.





Fig. 4 - Aspecto clínico de gengiva do grupo I, no dia inicial do experimento (dia 0), mostrando suas características de normalidade.

Fig. 5 - Aspecto clínico de gengiva do grupo I, após 28 dias de controle de placa bacteriana (dia 28), mostrando as características de normalidade desta gengiva. Esta figura representa a sequência da foto 4.



Fig. 6 - Aspecto clínico de gengiva do grupo II, no dia inicial do experimento (dia 0), mostrando uma gengiva aparentemente normal.

Fig. 7 - Aspecto clínico de gengiva do grupo II, após 28 dias de controle de placa (dia 28), mostrando uma gengiva com todas as características de normalidade. Esta figura é sequência da foto 6.

Fig. 8 - Aspecto clínico de gengiva do grupo II, com 4 dias de acúmulo de placa bacteriana (dia 32), mostrando áreas evidentes de acúmulo de placa sobre a superfície dental, próxima ao sulco gengival. esta figura é sequência das fotos 6 e 7.



Fig. 9 - Aspecto clínico de gengiva do grupo II, no dia inicial do experimento (dia 0), mostrando uma gengiva clinicamente normal.

Fig. 10 - Aspecto clínico de gengiva do grupo II, após 28 dias de controle de placa (dia 28), mostrando as características de normalidade desta gengiva. Esta figura é sequência da foto 9.

Fig. 11 - Aspecto clínico de gengiva do grupo II, com 4 dias de acúmulo de placa bacteriana (dia 32), mostrando a presença desta placa sobre a superfície dental próxima ao sulco gengival. Esta figura representa a sequência das fotos 9 e 10.





Fig. 12 - Aspecto clínico de gengiva do grupo III, no dia do início do experimento (dia 0), mostrando uma gengiva com aspectos clínicos normais.

Fig. 13 - Aspecto clínico de gengiva do grupo III, após 28 dias de controle de placa (dia 28), mostrando todas as características de normalidade desta gengiva. Esta figura é sequência da foto 12.

Fig. 14 - Aspecto clínico de gengiva do grupo III, com 8 dias de acúmulo de placa (dia 36), mostrando a presença da placa bacteriana próxima ao sulco gengival. Esta figura representa a sequenciadas fotos 12 e 13.



Fig. 15 - Aspecto clínico de gengiva do grupo III, no dia do início do experimento (dia 0), mostrando uma gengiva com aspectos de normalidade.

Fig. 16 - Aspecto clínico da gengiva do grupo III, após 28 dias de controle de placa (dia 28), mostrando todas as características de uma gengiva normal. Esta figura é sequência da foto 15.

Fig. 17 - Aspecto clínico de gengiva do grupo III, com 8 dias de acúmulo de placa bacteriana (dia 36), mostrando a presença desta placa próxima ao sulco gengival, aderida à superfície dental. Esta figura representa a sequência das fotos 15 e 16.

## CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA DO GRAU DE INFLAMAÇÃO GENGIVAL

As alterações estruturais das gengivas dos 3 grupos experimentais foram avaliadas através da quantificação das células inflamatórias (neutrófilos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos) presentes no território conjuntivo de cada biópsia.

A identificação do grau de inflamação atribuído a cada paciente, foi arbitrário, embora se fundamentasse numa série de pesquisas anteriormente realizadas (Oliver et al, 1969; Thilo et al, 1986; Brex et al 1987 a e b; Harper et al 1987; Marcantônio Jr et al, 1988 e Danielsen et al, 1989; Tagliavini R.L. 1982).

No grupo I, as gengivas "normais" apresentaram uma média de  $5,84 \pm 2,41$  células inflamatórias por secção, tendo sido caracterizado como inflamação grau 0 (tabela 5).

Tabela 5 - Quantificação das células inflamatórias em gengivas do grupo I. C após 28 dias de controle de placa)

BIÓPSIA	NÚMERO DE CÉLULAS TOTAL	MÉDIA (3 lâminas)	GRAU DE INFLAMAÇÃO
1	19	3,8	0
2	28	5,6	0
3	17	3,4	0
4	46	9,2	0
5	36	7,2	0
Média	$29,2 \pm 12,07$	$5,84 \pm 2,41$	0

No grupo II, Todas as gengivas foram caracterizadas como inflamação grau 1, apresentando uma média de  $44,72 \pm 12,38$  células inflamatórias por secção (tabela 6).

Tabela 6 - Quantificação das células inflamatórias do grupo II. (após 4 dias de acúmulo de placa).

BIÓPSIA	NÚMERO DE CÉLULAS	MÉDIA ( 5 lâminas)	GRAU DE INFLAMAÇÃO
1	183	36,6	1
2	314	62,8	1
3	260	52,0	1
4	196	39,2	1
5	165	33,0	1
Média	$223,6 \pm 61,92$	$44,72 \pm 12,38$	1

No grupo III, ocorreram variações maiores nos números de células inflamatórias quantificadas. Como se verifica na (tabela 7), os pacientes 3 e 4 apresentaram grau de inflamação 2, enquanto os pacientes 1,2 e 5 apresentavam grau 1. No computo geral do grupo a média ficou em  $94,88 \pm 24,50$ , tendo sido atribuído ao grupo III grau de inflamação 1, por se situar entre 11 e 100 (tabela 1) embora os pacientes 3 e 4 tivessem sido atribuídos grau 2.

Tabela 7 - Quantificação das células inflamatórias nas gengivas do grupo III. (Após 8 dias de acúmulo de placa).

BIÓSTIA	NÚMERO DE CELULAS	MÉDIA (S lâminas)	GRAU DE INFLAMAÇÃO
1	399	79,8	1
2	495	99,0	1
3	644	128,8	2
4	513	102,3	2
5	321	64,2	1
Média	474,4 ± 122,36	94,88 ± 24,50	1

Tabela 8 - Identificação dos voluntários e seus respectivos índices de placa (IP) e gengival (IG) no dia do início do experimento e seu grupo correspondente.

Voluntário	Sexo	Idade	IP <sub>0</sub>	IG <sub>0</sub>	Grupo
A. A. S.	M	20	2	1	II
A. C. V. T.	F	19	0	0	II
A. F.	F	21	1	1	III
A. P. G.	F	19	1	1	II
C. C. P.	F	19	0	1	III
C. J. Z. B.	M	22	1	0	I
D. A. O.	F	20	1	0	I
E. P. L.	F	19	1	1	III
H. M.	M	21	1	0	I
J. F. R. T.	M	19	0	0	I
J. G. F.	M	22	1	1	III
L. A. G.	F	19	0	1	II
L. F. D.	F	19	1	0	II
L. O. A. P.	M	21	0	0	I
M. A. C. S.	M	19	0	1	I
M. C. L.	F	21	1	1	III
M. C. M. M.	F	19	0	0	II
M. M.	M	22	0	0	III
M. V. L. P.	M	19	1	1	III
M. V. M. J.	F	23	1	1	I
R. M.	M	20	2	1	II
R. S.	M	20	0	1	II
S. R. L.	F	19	0	0	II

## HISTOPATOLOGIA - ASPECTOS GERAIS

O exame das secções a nível de microscopia óptica mostrou, em termos gerais, um quadro histológico compatível com o padrão convencional de normalidade, para os indivíduos do grupo I, denominado de "gingiva normal" (GND). A mera presença de células inflamatórias, particularmente no conjuntivo próximo ao epitélio juncional (EJ) e ao epitélio sulcular (ES) não foi suficiente para descaracterizar o diagnóstico de "gingiva normal".

Para os grupos II e III, o desenvolvimento de uma reação inflamatória mostrou significantes variações entre os indivíduos dentro de um mesmo grupo e entre os grupos.

Evidentemente, o grupo III, cujos voluntários permaneceram 8 dias, sem higienização bucal, apresentou um acúmulo de placa muito maior e uma resposta inflamatória muito mais intensa que o grupo II. De qualquer forma, tanto o grupo II como o grupo III apresentaram, ao microscópio e clinicamente, detalhes evidentes de uma resposta inflamatória intensamente dinâmica e obviamente variável, de um indivíduo a outro, como mostram as figuras ( 8, 11, 14 e 17).

Para o detalhamento dos resultados histológicos, procurou-se examinar, em cada biópsia, área por área, conforme o esquema mostrado na fig 1. Procurou-se descrever com a maior precisão possível cada detalhe, mas na falta de um critério mais quantitativo, foram usados alguns termos menos específicos, como modera-

do, intenso, significativo, maior, relativamente, discreto, marcante, evidente e frequente.

#### ASPECTOS MORFOLÓGICOS DAS GENGIVAS DO GRUPO I

As gengivas desse grupo mostraram ao microscópio óptico algumas variações de um voluntário para outro. Um detalhe frequente, na maioria das secções foi a presença de linfócitos, macrófagos e moderada desorganização de colágeno, como mostram as figuras (18, 19 e 20).

O epitélio juncional, apresentava espessura irregular geralmente constituído de 3 a 5 camadas de células e mostrava alguns poucos leucócitos (neutrófilos e linfócitos) por entre as células epiteliais.

O tecido conjuntivo imediatamente subjacente ao epitélio juncional exibia um discreto a moderado número de células mononucleadas (figs 19 e 20), principalmente linfócitos e macrófagos e uma pequena faixa de degradação de colágeno e da substância intercelular amorfa. Em algumas secções, podia-se observar, subjacente ao epitélio juncional, fibroblastos ativos, feixes de colágeno relativamente bem estruturados (figs 18 e 21) e, um pouco mais à distância, áreas de acúmulo de células mononucleares e de degradação de colágeno (figs 18 e 19).

Com menor frequência eram observadas gengivas com um mínimo de alterações, como mostrado na figura (21), onde o epitélio juncional aparece muito bem estruturado, assentado sobre um teci-

do conjuntivo homogêneo, sem maiores alterações, mostrando os feixes de colágeno e fibroblastos bem orientados com apenas alguns raros linfócitos presentes no território conjuntivo, e uma significativa rede vascular.

Na porção mais central do 1/3 cervical dos fragmentos biopsiados desse grupo apareciam, com frequência, os detalhes mostrados nas figuras (23 e 27), ou seja, fibroblastos grandes e feixes de colágeno relativamente bem estruturados, em meio a um rico plexo vascular e algumas poucas células inflamatórias mononucleares. Raramente, podia-se detectar a presença de um ou outro plasmócito.

Mais à distância da união gengivo-dental, ou seja, mais próximo ao epitélio oral, observa-se, um tecido conjuntivo fibroso, denso, relativamente bem celularizado (fig. 24,25 e 26), que envolvia os terços, superficial, médio e profundo, e portanto, extendendo da margem gengival à mucosa alveolar. Nestas áreas, além de feixes de colágeno, dos vasos e dos nervos, apareciam em algumas secções, próximo à interface epitélio-conjuntivo, discretos acúmulos de células mononucleares (fig. 26), algumas das quais, atravessavam a membrana basal localizando-se entre as células epitéliais das camadas basal e espinhosa. Este detalhe aparecia com maior frequência e intensidade nas gengivas do grupo II e III.

Dentro deste grupo I, denominado GVN, a presença de significativo número de linfócitos e macrófagos próximos ao epitélio juncional, assim como, áreas focais de desorganização dos feixes de colágeno eram relativamente frequentes. Nestas áreas de disso-

ciação dos feixes de colágeno, os pequenos vasos pareciam mais permeáveis, com acúmulo de proteínas plasmáticas e de leucócitos nos espaços extravasculares (figs 18,19, 20 e 22). Alguns leucócitos apareciam por entre as células do epitélio juncional, especialmente naquelas secções com maior acúmulo de leucócitos no conjuntivo subjacente.

Com relação ao tecido epitelial, as alterações eram menos significativas, especialmente no epitélio oral, que na maioria das vezes, apresentava-se relativamente bem estruturado alternando áreas de ortoqueratose e paraqueratose (fig 25). As expansões digitiformes estavam mais ou menos uniformemente distribuídas por toda a extensão das secções. As camadas basal, espinhosa, granulosa e córnea (figs 15 e 17) apresentavam todas as características de normalidade. A membrana basal apresentava-se muito bem estruturada, desde a margem gengival até a mucosa alveolar. O epitélio sulcular mostrava variações na sua espessura, de um caso para o outro, mas na maioria das vezes, sem infiltração de leucócitos, com membrana basal íntegra, e sem expansões digitiformes, a este estágio.

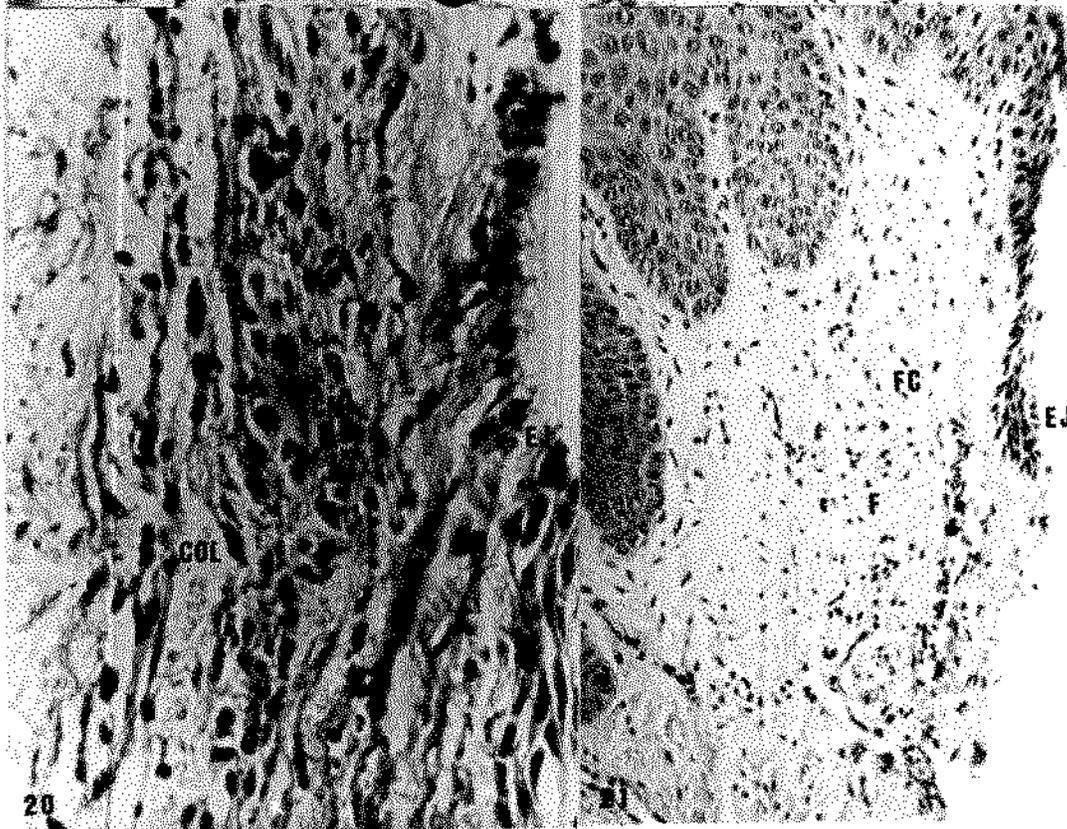
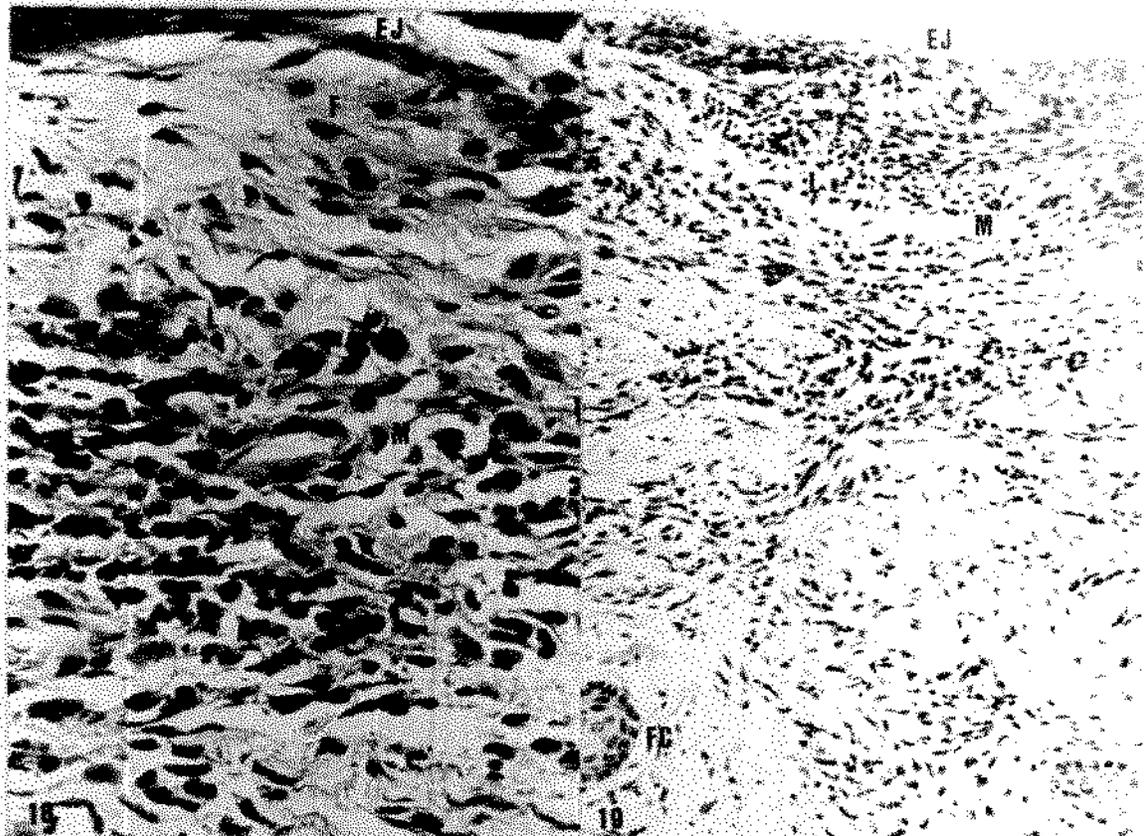
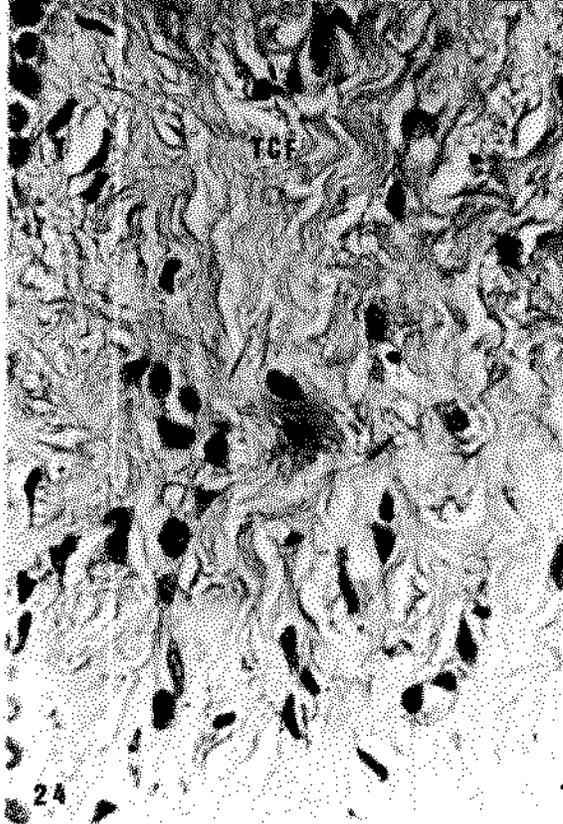
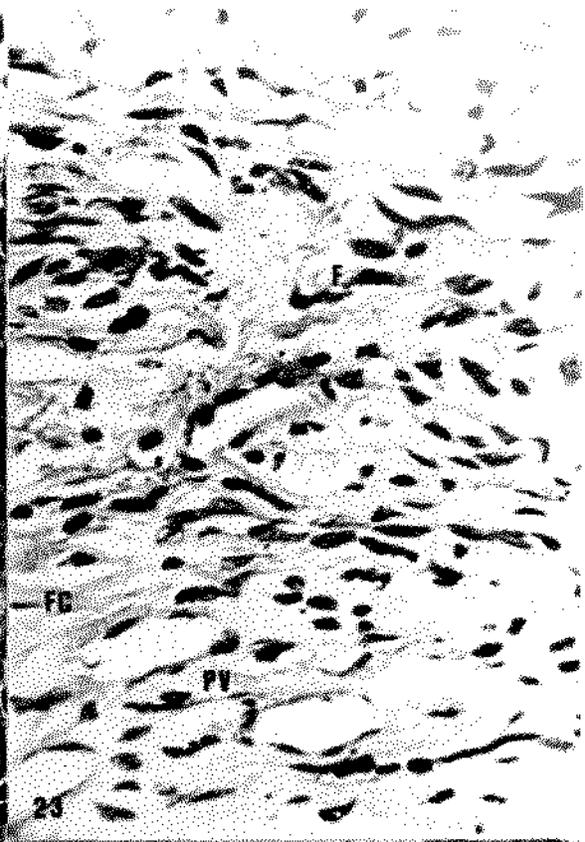
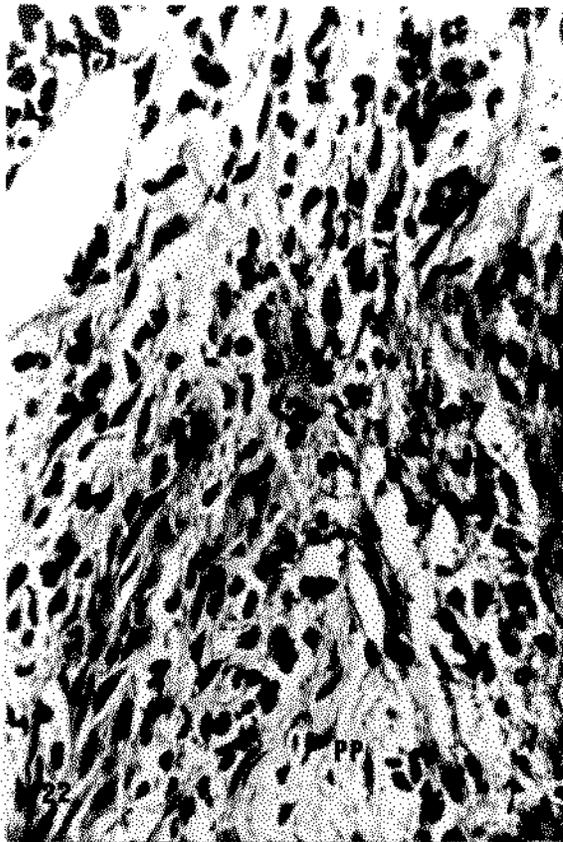


FIG. 18 - Aspecto histológico de gengiva do grupo I, mostrando a presença de linfócitos (L), macrófagos (M) e moderada desorganização de colágeno. Subjacente ao epitélio junctional (EJ) observa-se a presença de fibroblastos ativos (F) e feixes de colágeno relativamente bem estruturados. Col. H.E. AO - 160x

FIG. 19 - Aspecto histológico de gengiva do grupo I mostrando a presença de linfócitos (L), macrófagos (M) e moderada desorganização de colágeno, imediatamente subjacente ao epitélio junctional (EJ). Mais à distância feixes de colágeno (FC) relativamente bem estruturados. Col. H.E. AO - 63x

Fig. 20 - Aspecto histológico de gengiva do grupo I. Mostrando imediatamente subjacente ao epitélio junctional (EJ) um discreto a moderado número de células mononucleadas (CM) e alterações de colágeno (COL). Col. H.E. AO - 160x

Fig. 21 - Aspecto histológico de gengiva do grupo I. Nota-se subjacente ao epitélio junctional (EJ) a presença de fibroblastos ativos (F) e feixes de colágeno (FC) relativamente bem estruturados. Col. H.E. AO - 63x



- Fig. 22 - Aspecto histológico de gengiva do grupo I mostrando áreas de dissociação de colágeno, com acúmulo de proteínas plasmáticas (PP) e de leucócitos (LE) nos espaços extravasculares. Col. H.E. AO - 160x
- Fig. 23 - Aspecto histológico de gengiva do grupo I, mostrando fibroblastos grandes (F) e feixes de colágeno (FC) bem estruturados, em meio a um rico plexo vascular (PV) e poucas células inflamatórias mononucleadas. Col. H.E. AO - 160x
- Fig. 24 - Aspecto histológico da região papilar de gengiva do grupo I, mostrando um tecido conjuntivo fibroso (TCF), relativamente bem celularizado. Col. H.E. AO - 160x
- Fig. 25 - Aspecto histológico de gengiva do grupo I, mostrando o epitélio oral relativamente bem estruturado, apresentando paraqueratose (PR). Expansões digitiformes bem distribuídas e camadas basal, espinhosa e granulosa dentro dos padrões de normalidade. Col. H.E. AO - 40x



Fig. 26 - Aspecto histológico de gengiva do grupo I, mostrando a presença de um tecido conjuntivo fibroso (TCF), denso, relativamente bem celularizado e discretos acúmulos de células mononucleares (CM), sub-epiteliais. Col. H.E. AO - 63x

Fig. 27 - Aspecto histológico de gengiva do grupo I, mostrando fibroblastos (F) e feixes de colágeno (FC) bem estruturados, em meio a um rico plexo vascular (PV). Col. H.E. AO - 63x

## HISTOPATOLOGIA DA GENGIVA DO GRUPO II

### Acúmulo de placa bacteriana por 4 dias

O epitélio oral apresentava na superfície uma camada de paraqueratina (figs 29 e 35) que se alternava em algumas secções com áreas de ortoqueratose. A camada espinhosa aparecia bem estruturada na maioria das secções. Na camada basal já apareciam, com certa frequência, algumas áreas focais de discreta desorganização e um pequeno número de leucócitos atravessando a membrana basal e alojando-se por entre as células parabasais (figs. 33 e 35).

Na região do sulco gengival, as alterações pareciam um pouco mais evidentes. O epitélio sulcular mostrava-se espessado, com algumas expansões digitiformes mais alargadas e irregulares para o interior do tecido conjuntivo (fig.28). Em algumas secções observava-se um significativo aumento dos espaços intercelulares (espongiose), com vacuolizações citoplasmáticas e picnose (figs. 32). Alguns leucócitos eram observados por entre as células epiteliais, especialmente na porção mais apical do epitélio sulcular (fig. 28).

O epitélio juncional (EJ) embora em algumas biópsias não tenha sido removido em toda a sua extensão apresentava marcantes alterações (figs. 28, 30 e 32).

Na sua porção mais incisal, e portanto, mais próxima à placa bacteriana (fig. 32), as células mais superficiais, apresentavam cariólise, picnose e necrose, descamando para o sulco. Observava-se um aumento dos espaços intercelulares em toda a exten-

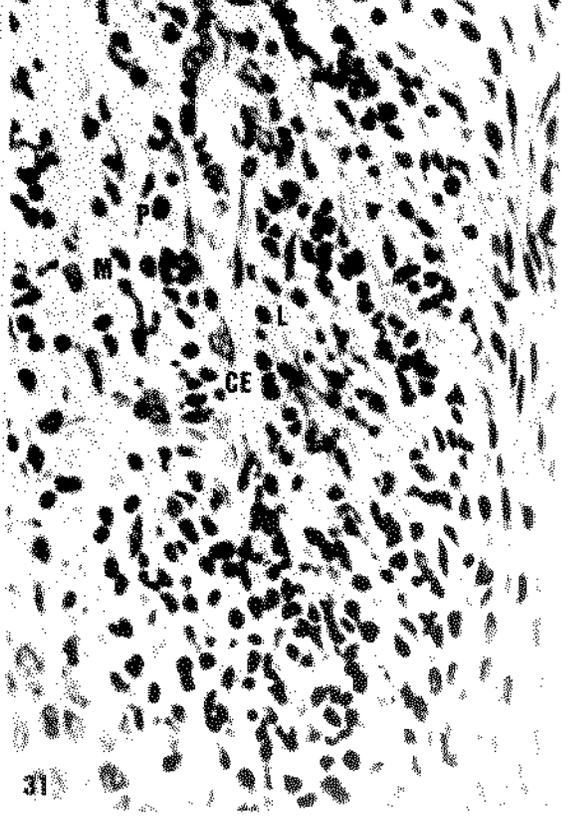
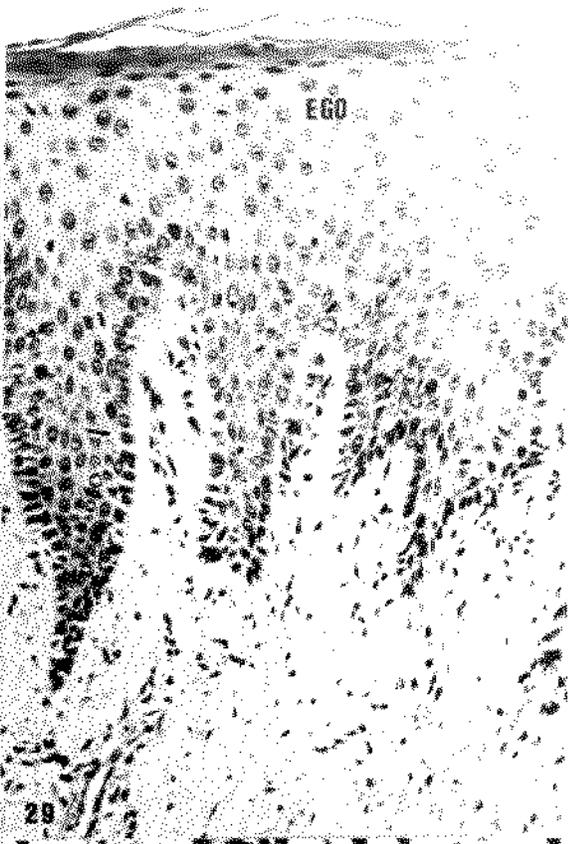
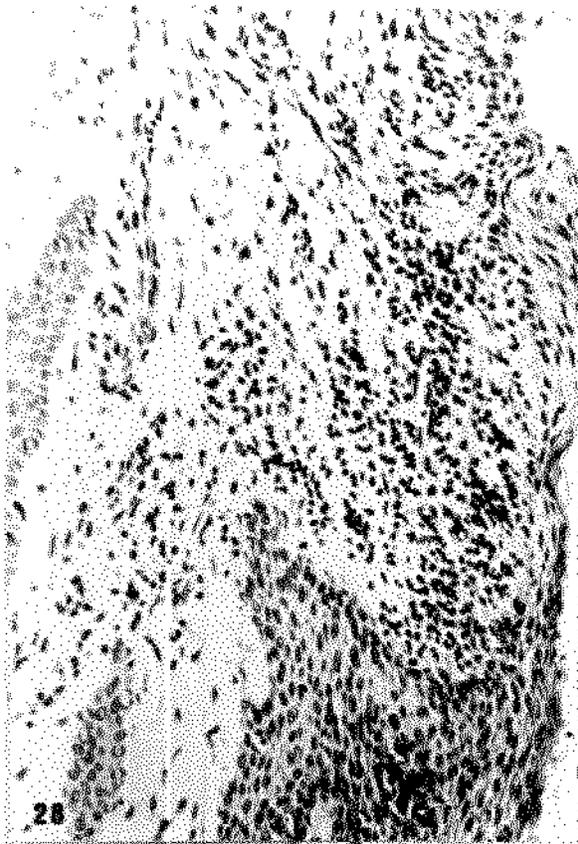
são do epitélio. As células basais migravam em direção ao conjuntivo subjacente, formando expansões digitiformes pequenas e irregulares. A membrana basal perdia sua continuidade com sinais evidentes de desintegração e numerosos leucócitos insinuavam-se por entre as células do epitélio juncional (fig. 32).

No território conjuntivo observava-se que apesar das alterações estruturais ocorrerem de maneira mais marcante nas regiões sub-epiteliais, também apareciam mais a distância, áreas focais de desintegração dos feixes de fibras colágenas e infiltração de células inflamatórias, predominantemente linfócitos e macrófagos (figs. 30, 32 e 34). Em menor número, alguns leucócitos polimorfonucleares neutrófilos apareciam nas paredes dos vasos e nos espaços extravasculares.

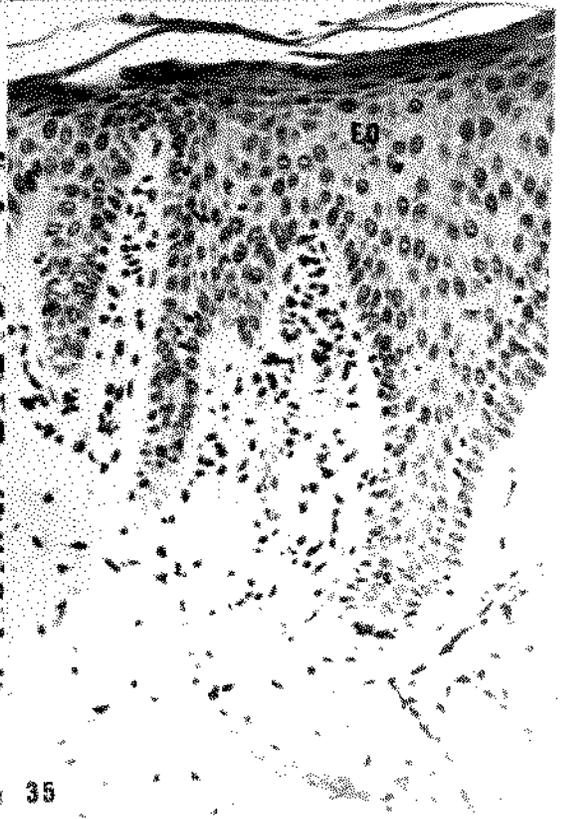
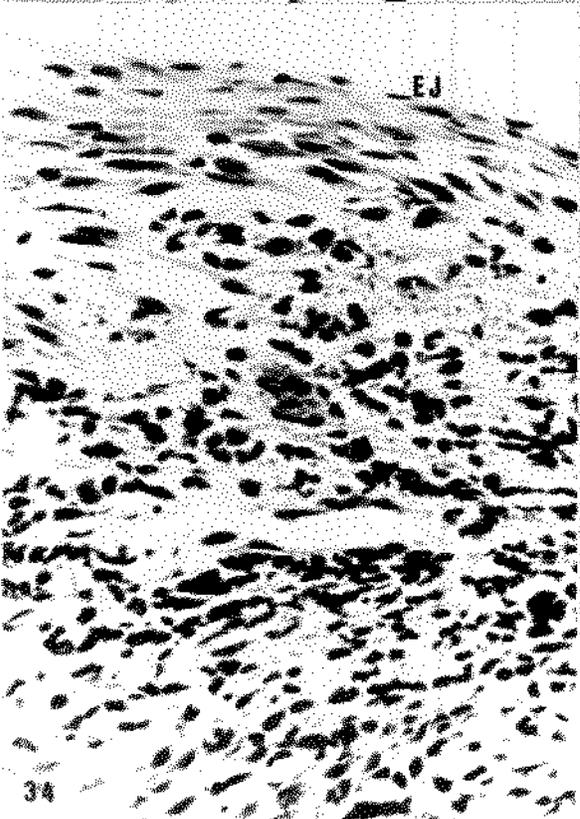
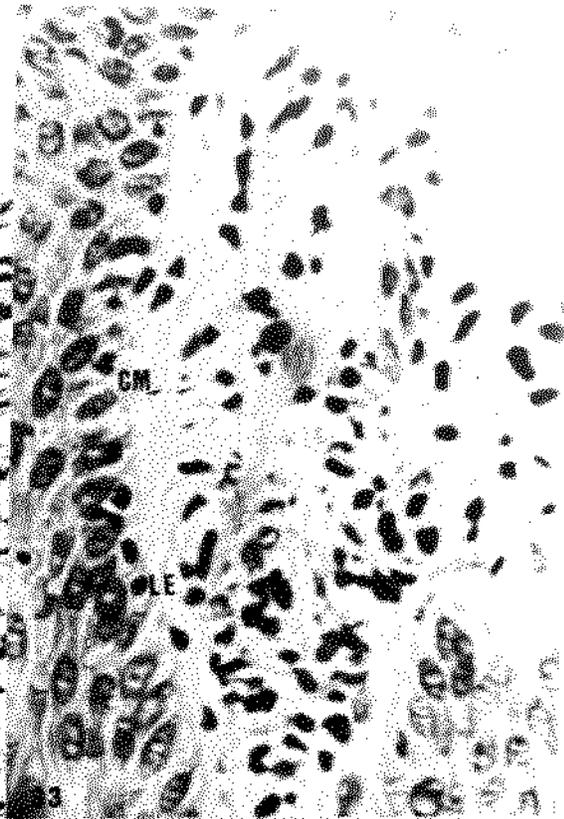
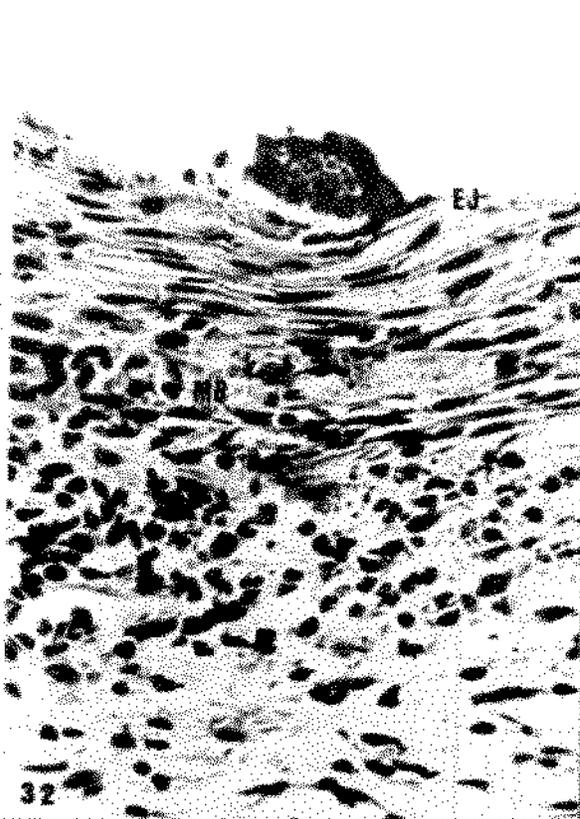
A desintegração dos feixes de colágenos era bastante intensa, imediatamente abaixo do epitélio juncional, (fig. 28) entretanto esta área mais crítica de destruição tecidual constituía apenas uma pequena parte do tecido conjuntivo (provavelmente de 10 a 15% da gengiva marginal)

Embora a identificação precisa das células, individualmente, nem sempre fosse possível, o acúmulo de células inflamatórias era bem evidente em algumas áreas (fig.31) aparecendo áreas focais de acentuada destruição tecidual infiltradas por elevado número de macrófagos, linfócitos e eventualmente alguns plasmócitos. Hemáceas e proteínas plasmáticas extacelulares, proliferação de células endoteliais, fibroblastos citopaticamente alterados e raríssimos neutrófilos completavam o quadro ( fig. 30 e 31).

Um pouco mais à distância destas pequenas áreas de destruição, apareciam feixes de fibras colágenas relativamente bem estruturados, com fibroblastos normais, moderada proliferação vascular e alguns poucos mononucleares esparsos pelo território conjuntivo, principalmente nas proximidades dos vasos sanguíneos. (fig. 28).



- Fig. 28 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo II, mostrando subjacente ao epitélio junctional, presença de leucócitos e desorganização de feixes de fibras colágenas, e moderada proliferação vascular. Col. H.E. AO - 63x
- Fig. 29 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo II, mostrando no epitélio gengival Oral (EGO) a presença de paraqueratose. Camadas granulosa, espinhosa e basal bem estruturadas. Col. H.E. AO - 63x
- Fig. 30 - Aspectos histológicos da gengiva do grupo II, mostrando alterações no epitélio junctional (EJ), áreas focais de desintegração dos feixes de fibras colágenas e infiltração de células inflamatórias. Col. H.E. AO - 160x
- Fig. 31. - Aspectos histológicos de gengiva do grupo II, mostrando o acúmulo de células inflamatórias, áreas de destruição conjuntiva, elevado número de macrófagos (M), linfócitos (L) e plasmócitos (P), proliferação de células endoteliais (CE), fibroblastos alterados e raros neutrófilos. Col. H.E. AO - 160x



- Fig. 32 - Outro aspecto de gengiva do grupo II, mostrando com detalhes no epitélio juncional (EJ), áreas de espongiose, com vacuolizações citoplasmáticas. Nota-se a presença de células com cariólise, picnose e necrose descamando para o sulco. Perda de continuidade da membrana basal (MB) com numerosos leucócitos por entre as células epiteliais. Col. H.E. AO - 180x
- Fig. 33 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo II, mostrando áreas focais de discreta desorganização na membrana basal (MB) e pequeno número de leucócitos (LE) por entre as células parabasais. Col. H.E. AO - 160x
- Fig. 34 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo II, mostrando áreas focais de desintegração de fibras colágenas e infiltração de células inflamatórias, linfócitos e macrófagos, subjacente ao epitélio juncional (EJ). Col. H.E. AO - 160x
- Fig. 35 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo II, mostrando o epitélio oral (EO) com uma camada de paraqueratina enquanto que na camada basal notam-se algumas áreas de discreta desorganização e leucócitos (LE) por entre as células parabasais. Col. H.E. AO - 63x

## HISTOPATOLOGIA DAS GENGIVAS DO GRUPO III

### Acúmulo de placa por 8 dias

O acúmulo de placa bacteriana durante 8 dias, provocou marcantes alterações, tanto nos aspectos clínicos (fig. 14 e 17) como nos aspectos histopatológicos das gengivas desse grupo (figs. 36, 37 e 38).

O epitélio oral foi a estrutura que menos se alterou durante esta fase do experimento. Mesmo assim, apresentava em algumas biópsias, áreas de evidente acantose, resultante de um aumento de espessura da camada espinhosa, com formação de expansões digitiformes irregulares (figs. 38 e 39). Na maioria das secções a superfície era paraqueratinizada, aparendo apenas algumas áreas de ortoqueratose (Fig. 39).

A presença de leucócitos por entre as células epiteliais era mais frequente e com número visivelmente maior que nos grupos anteriores (fig. 36 e 38).

O epitélio sulcular alterou-se significativamente, apresentando hiperplasia, com expansões digitiformes mais espessas, profundas e irregulares, com maior infiltração de leucócitos por entre as células epiteliais (figs. 38 e 40). Vacuolizações citoplasmáticas e picnose eram mais frequentes nas células mais superficiais do epitélio sulcular, enquanto que nas camadas mais profundas a atividade proliferativa era bem evidente.

O epitélio juncional apresentava-se espessado na sua porção mais oclusal, com algumas camadas estratificadas, não cor-

neificadas (figs. 38 e 40)

Os espaços intercelulares estavam alargados, a membrana basal apresentava áreas de desintegração, e as células inflamatórias se insinuavam por entre as células das camadas basal, intermediárias e superficiais (figs. 36 e 37).

O tecido conjuntivo mostrava duas faixas bem distintas. Uma, mais próxima à superfície dental, intensamente inflamada, que se estende desde a margem gengival até a porção mais apical do epitélio juncional. Na maioria das secções esta faixa corresponde a 1/3 ou a 1/2 do território conjuntivo das biópsias desse grupo, incluindo os segmentos a, c e e, esquematizados na figura 1.

Em algumas secções esta faixa intensamente inflamada era contínua, porém restrita ao conjuntivo imediatamente subjacente ao epitélio sulcular e juncional (figs. 41 e 44). Em outras secções ela era irregular, aparecendo como focos de degradação tecidual mais distantes do epitélio juncional, e infiltração inflamatória entremeadas por fibroblastos e feixes de fibras colágenas mais ou menos bem organizadas (figs. 42 e 46). Expansões digitiformes irregulares profundas do epitélio sulcular ou juncional eram frequentemente observadas.

Tanto no terço oclusal, como no médio ou no profundo, algumas secções mostravam no tecido conjuntivo inflamado áreas de completa degradação dos feixes de colágeno e da substância intercelular amorfa, edema, caracterizado pela presença de proteínas plasmáticas, especialmente fibrina nos espaços extravasculares,

fibroblastos citopaticamente alterados e marcante infiltração de linfócitos e macrófagos (figs. 42, 44 e 45).

Na periferia dessas áreas de maior degradação tecidual, um significativo número de plasmócitos podia ser notado, em 3 das 7 biópsias desse grupo. Nas demais biópsias as células predominantes inquestionavelmente eram linfócitos e macrófagos. Muito raramente, um ou outro plasmócito podia ser identificado.

Uma moderada proliferação de células endoteliais (angióblastos) era claramente observada próxima às áreas de infiltração inflamatória (fig. 43).

Em algumas secções, áreas focais de infiltração linfoplasmocitária e de proliferação vascular com frequência apareciam em áreas mais afastadas do epitélio sulcular e juncional, formando verdadeiras ilhas de inflamação crônica, cercadas de tecido conjuntivo fibroso denso, relativamente bem estruturado (figs. 39 e 43). Mais próximo ao sulco gengival, a degradação dos componentes conjuntivos era sempre mais marcante com grande número de macrófagos e linfócitos (figs. 44 e 45). Na parte central do conjuntivo gengival, a infiltração inflamatória era marcada por significativo número de fibroblastos, normais e alterados, associados à proliferação de células endoteliais, macrófagos e linfócitos.

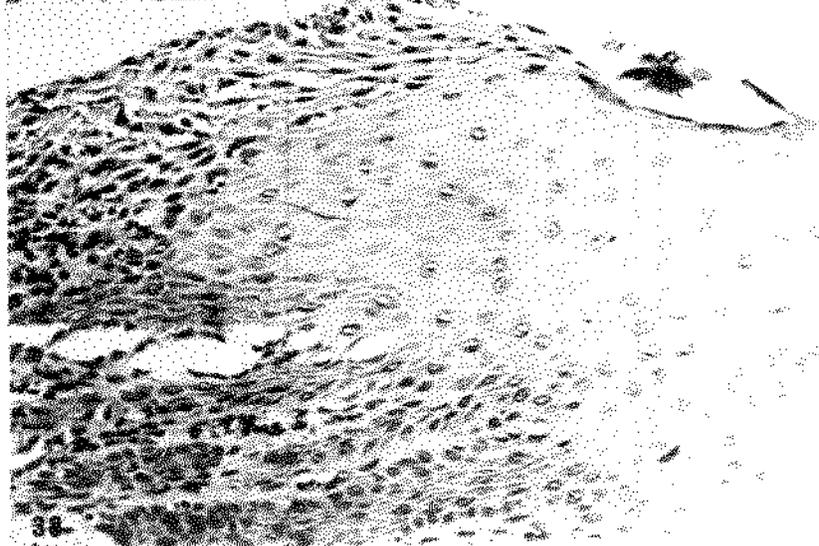
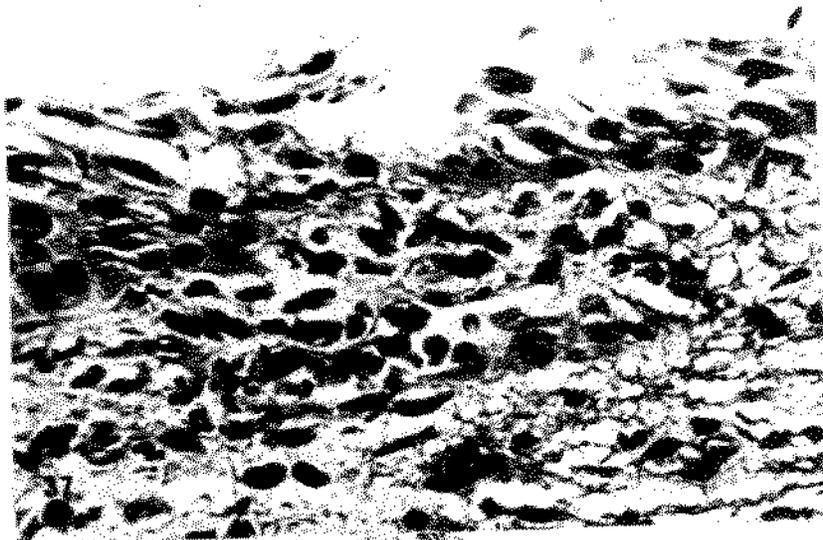
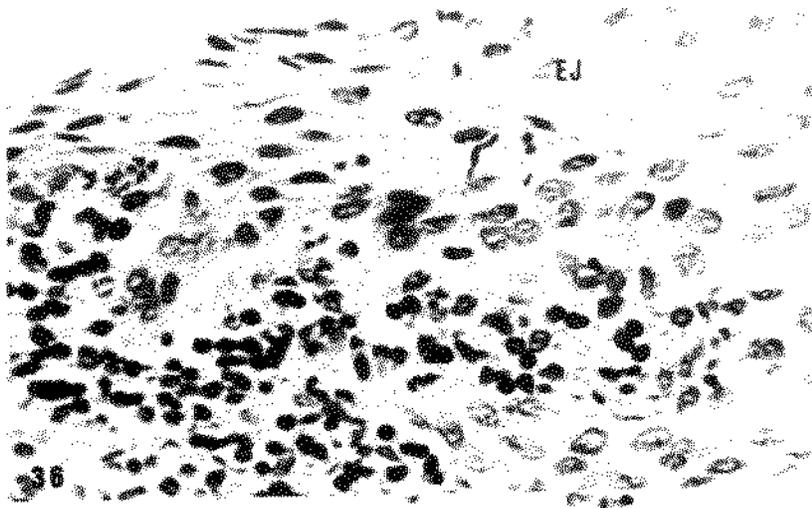


Fig. 36 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo II mostrando o epitélio juncional (EJ) na sua porção mais oclusal com edema inter e intracelular, migração de leucócitos através do epitélio e áreas de desorganização da membrana basal. Col. H.E. AO - 160x

Fig. 37 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo III, mostrando uma faixa de inflamação crônica contínua, porém restrita ao conjuntivo (TC) imediatamente subjacente ao epitélio sulcular. Col. H.E. AO - 160x

Fig. 38 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo III, mostrando espaços intercelulares alongados e células inflamatórias por entre as células epiteliais. Col. H.E. AO - 63x

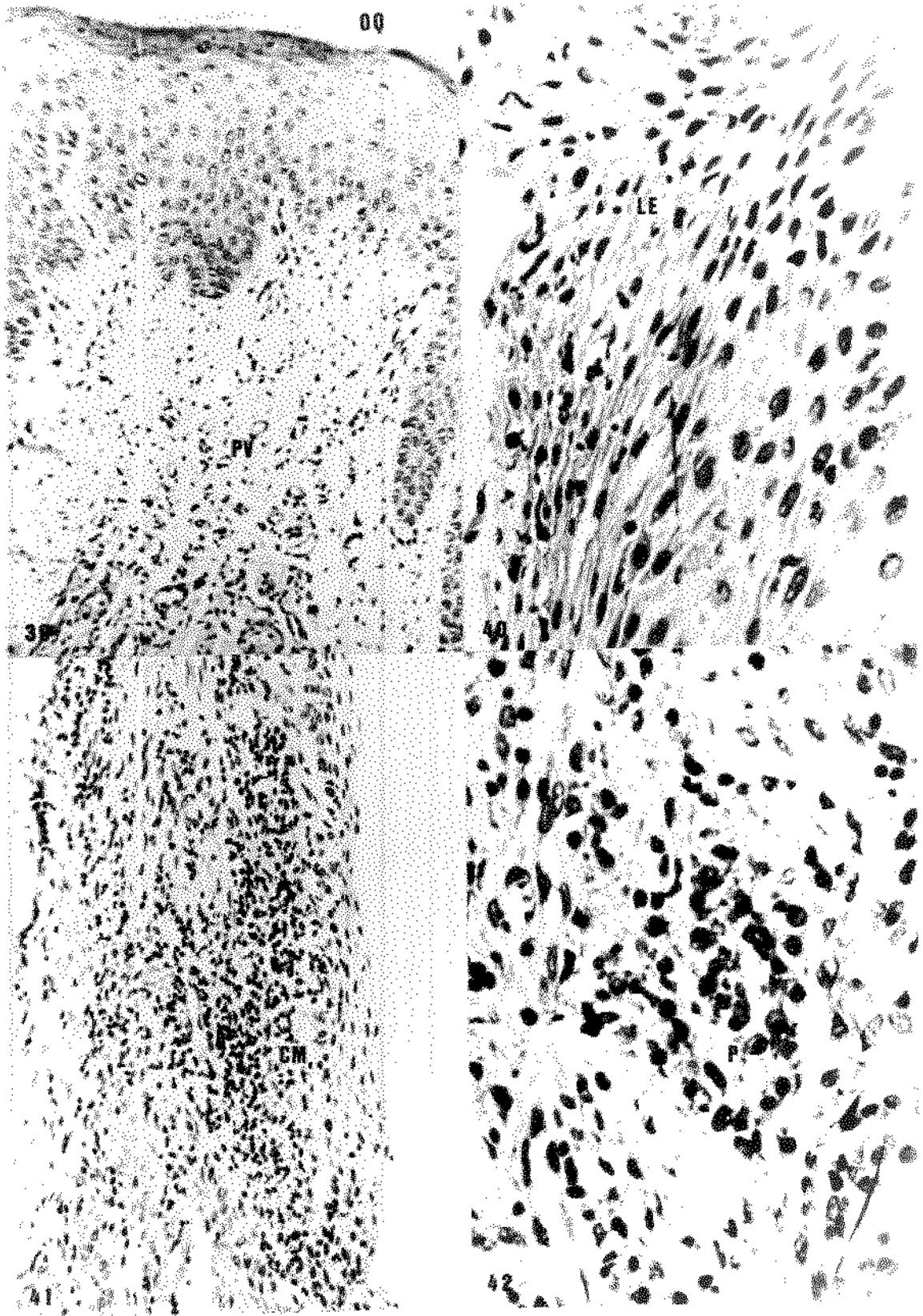
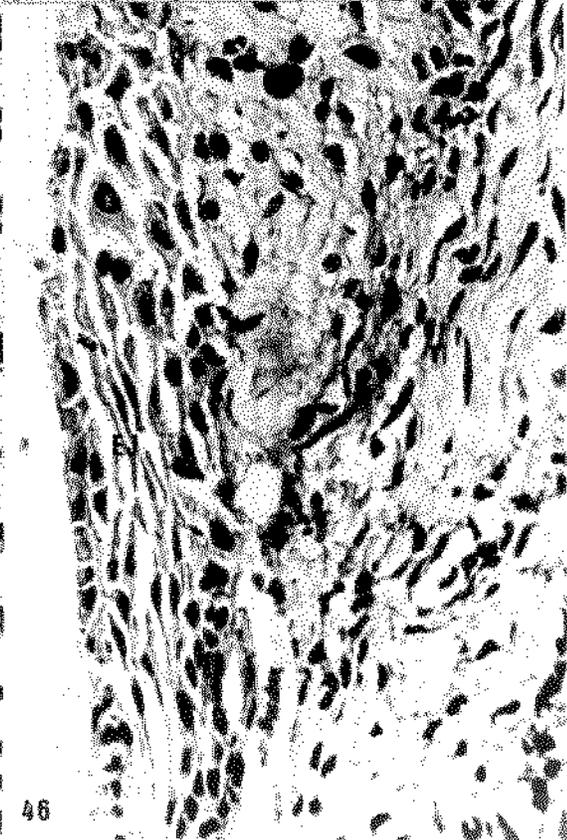
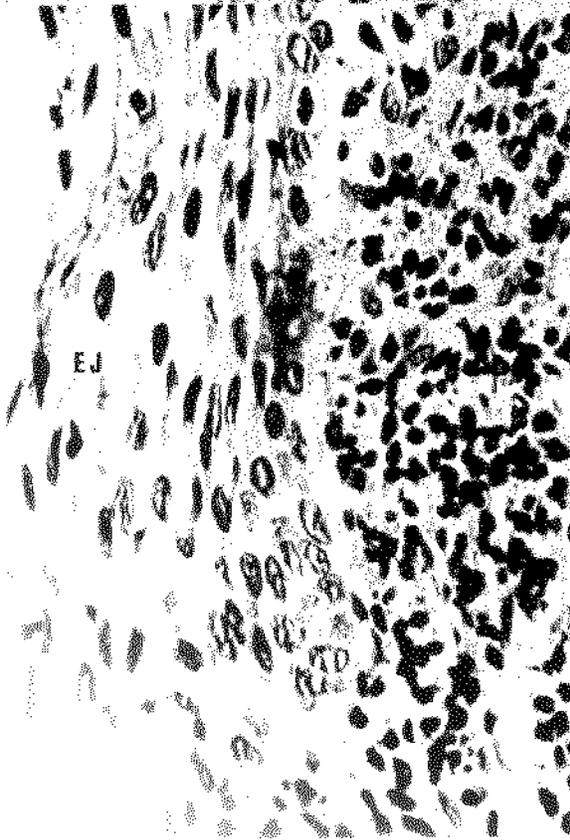
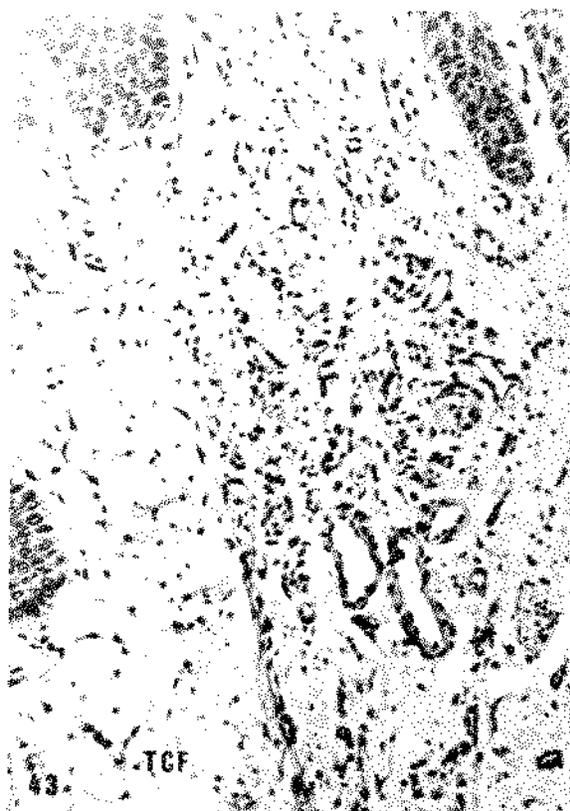


Fig. 39 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo III, mostrando ortoqueratose (OQ), com expansões digitiformes irregulares, áreas de proliferação angioblástica e formação de pequenos vasos (PV). Col. H.E. AO - 63x

Fig. 40 - Aspecto histológico de gengiva do grupo III, mostrando hiperplasia do epitélio sulcular, com infiltração de leucócitos (LE) por entre as células epiteliais e descamação de células em degeneração. Col. H.E. AO - 160x

Fig. 41 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo III, onde se nota uma faixa de tecido conjuntivo intensamente infiltrado de células mononucleares (CMD) e desintegração dos feixes de fibras colágenas. Col. H.E. AO - 63x

Fig. 42 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo III, mostrando áreas de inflamação com destruição tecidual mais distantes do epitélio juncional, com significativo número de plasmócitos (P) entremeadas por fibroblastos alterados. Col. H.E. AO - 160x



- Fig. 43 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo III, mostrando o meio do tecido conjuntivo fibroso (TCF), áreas focais de infiltração mononuclear e proliferação vascular. Mais próxima à membrana basal, observa-se um rico plexo de pequenos vasos. Col. H.E. AO - 63x
- Fig. 44 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo III, mostrando áreas de completa degradação de colágeno e da substância intercelular amorfa, edema, fibroblastos (F) alterados e infiltração de linfócitos (L) e macrófagos (M). Col. H.E. AO - 160x
- Fig. 45 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo III, mostrando áreas de completa degradação de colágeno edema, fibroblastos alterados, infiltração de linfócitos e macrófagos. Observa-se também o epitélio juncional (EJ) ligeiramente espessado. Col. H.E. AO - 160x
- Fig. 46 - Aspectos histológicos de gengiva do grupo III, mostrando aumento dos espaços por entre as células do epitélio juncional (EJ), edema no conjuntivo subjacente e dissociação dos feixes de fibras de colágeno nesta área. Col. H.E. AO - 160x

## DISCUSSÃO

No estágio atual do nosso conhecimento sobre o desenvolvimento da gengivite, existe um fato repetidamente demonstrado e sobre o qual parece não existir qualquer sombra de dúvida: o acúmulo de placa bacteriana nas superfícies dentais próximas à gengiva é a causa direta da inflamação gengival.

Evidentemente, quando se discute com maior profundidade, a etiopatogenia das gengivites, é fundamental que se considere também, o papel desempenhado pelos sistemas de defesa do hospedeiro e por fatores locais, outros que as bactérias.

No presente experimento, os resultados mostraram que mesmo dentro de cada grupo experimental existem significantes variações, de um indivíduo para outro. Embora se procurasse usar uma amostragem, a mais uniforme possível, quanto à idade, ambiente, alimentação, grau de instrução, condições sócio econômicas, hábitos de higiene e condições prévias das gengivas, ainda assim, os resultados ressaltam a importância da individualidade dos mecanismos de defesa de cada indivíduo em particular.

Obviamente, quando se compara a intensidade de resposta inflamatória gengival ao acúmulo de placa por 4 dias (grupo II) ou por 8 dias (grupo III), fica evidente a intensificação dos processos inflamatórios, em decorrência da presença da placa bacteriana.

Analisando mais detalhadamente os índices de placa e

gingival, expressos nas tabelas 2, 3, 4, verifica-se que apesar das variações individuais nas respostas, pode-se em curto espaço de tempo alterar estes números, conduzindo-os aos níveis que se deseja, unicamente através do controle de placa. Isto do ponto de vista clínico, porque do ponto de vista histológico estas alterações não são assim tão previsíveis e tão rápidas.

Como se pode verificar pelas tabelas 2, 3 e 4, todos os voluntários tiveram seus índices de placa e gengival reduzidos a zero, após meticoloso e sistemático programa de fisioterapia oral, durante 28 dias.

Os aspectos clínicos (fig 3 e 5) mostram detalhes, que podem ser compatíveis com o conceito de "gengiva clinicamente normal". Entretanto, tem sido demonstrado, em diversas pesquisas, que esta gengiva "sadia" ou "cl clinicamente normal", não preenche os critérios histológicos de "normalidade" ou de "sadia", desde que apresentam pequeno, porém definido infiltrado de células inflamatórias subjacente ao epitélio juncional (Oliver et al, 1969; Page et al, 1976; Lindhe et al, 1987; Brex et al, 1987 a,b ; Danielsen et al, 1989.)

E este pode ter sido o ponto inicial básico das discrepâncias entre as diferentes pesquisas, inclusive esta. As gengivas consideradas normais, e que preenchem todos os critérios clínicos de normalidade, podem mostrar variáveis graus de infiltração inflamatória. Por outro lado, sabe-se que a reação inflamatória é um mecanismo de defesa, extremamente dinâmico, que procura restabelecer o equilíbrio homeostático da área agredida. Por is-

so, é preciso que se considere que dentro de um grupo de indivíduos com "gingiva normal", é possível que alguns indivíduos nunca tivessem manifestado antes, qualquer evidência clínica de inflamação gengival, enquanto outros, já tenham manifestado, em algum momento de sua vida, um quadro típico de gengivite, que desapareceu e a gengiva voltou ao normal. "Existem portanto gengivas normais e normais!".

Lindhe et al (1978) estudou em cães, os aspectos clínicos e estruturais de gengivas normais que não tinham manifestado qualquer sinal clínico prévio de inflamação, com gengivas normais que permaneceram anteriormente inflamadas por 6 meses. Observou-se que do ponto de vista clínico e estrutural eram praticamente idênticas. Tanto uma como a outra, apresentava os mesmos aspectos. Entretanto, é possível, que estes 2 tipos de gengivas normais respondam diferentemente ao acúmulo de placa. Por exemplo, Schroeder et al (1975) observaram que após 4 dias de acúmulo de placa bacteriana, a resposta inflamatória era muito mais intensa nos cães que já apresentavam um infiltrado linfóide prévio, do que nos cães que no dia zero não tinham infiltrado linfóide algum.

A caracterização histoquímica e imunológica de sub-populações de linfócitos na gengivite experimental em humanos (Seymour et al, 1983) mostrou que o infiltrado inflamatório subjacente ao epitélio juncional, no dia 0 (após 28 dias de meticulosa escovação) consistia de mais de 70% de células T. Nos dias 4, 8 e 21 embora o tamanho do infiltrado aumentasse, a sua natureza es-

sencial não mudava, e em todos os tempos a maioria dos linfócitos (acima de 70%) tinham um característico fenótipo de célula T. Estas observações mostraram que na lesão gengival em desenvolvimento, em humanos, ocorreu uma lesão dominada por células T, que persistiram pelo menos durante as 3 semanas desse estudo. No presente trabalho, os índices de placa e gengival dos 23 voluntários, foram reduzidos a zero (0) após 28 dias de perfeita higiene oral. Evidentemente, embora no dia 28 todos os voluntários apresentassem IP e IG iguais a 0 (zero), alguns provavelmente já haviam manifestado gengivite clinicamente observável previamente enquanto outros, não.

Os aspectos histológicos (figs. 18, 19, 20 e 21) observados nos indivíduos do grupo I, parecem confirmar estas observações clínicas. As variações do contingente de leucócitos mononucleares entre um e outro caso, dentro desse mesmo grupo (I), expressam, com certeza, este contato prévio com a placa e inflamação. Estes resultados concordam com os achados de Seymour et al (1983) e de Brex et al (1987-b), que mesmo numa gengiva clinicamente normal, alterações sub-clínicas podem ocorrer, mesmo após 6 meses de índice gengival e índice de placa igual a 0 (zero). Estes autores observaram que mesmo com uma higiene oral perfeita e constante, que resultou em uma gengiva clinicamente sadia, por 6 meses, as características histológicas do compartimento conjuntivo adjacente à região apical do epitélio juncional modificaram-se muito lentamente, exibindo ainda no 6 mês, porcentagens de células inflamatórias, embora menores que no primeiro mês do experi-

mento.

No presente trabalho, apenas 28 dias de rigorosa higiene oral foram insuficientes para reduzir o infiltrado inflamatório a um nível adequado de normalidade "histológica", a partir do qual, o acúmulo de placa por 4 e 8 dias, poderia mostrar situações mais uniformes e melhor definidas. Com relação aos grupos II e III, os resultados, de certa forma confirmaram pesquisas anteriores de gengivite experimental. (Løe et al, 1965; Theilade et al, 1966; Holm-Pedersen et al, 1975; Danielsen et al, 1989).

Os índices de placa e gengival, que no dia 28 eram zero passaram respectivamente a 1,4444 e 0,7777 no dia 32 e a 2,2857 e 1,1428 no dia 36, ligeiramente menores do que os encontrados por Page et al (1975). Isto comprova uma vez mais que de um modo geral o acúmulo de placa promove uma transição de gengiva normal a gengivite, e se intensifica quando a placa aumenta e/ou persiste por um tempo maior. Entretanto é importante que se considere que a reação inflamatória não é um processo estático, e que promove transformações estruturais extremamente dinâmicas, que podem refletir a cada momento na expressão clínica da gengiva.

A variação dos detalhes histológicos como observada por exemplo, dentro do grupo II (4 dias) pode-se constituir na manifestação dessa dinâmica, peculiar para cada indivíduo.

O acúmulo de placa bacteriana durante 4 dias promoveu uma resposta inflamatória inicial peculiar para cada indivíduo, de acordo com a condição prévia que este indivíduo apresentava no dia zero (0). O desenvolvimento de uma Lesão Inicial, conforme

descrita por Page e Schroeder (1976) não foi observado nesses pacientes do grupo II, no 4 dia de acúmulo de placa. Em nenhuma das 7 biópsias foi possível observar aquele quadro típico de Lesão Inicial, caracterizado por: vasculite clássica dos vasos subjacentes ao epitélio juncional, exudações de fluido no sulco gengival, aumentada migração de leucócitos no epitélio juncional e no sulco, presença de proteínas séricas, especialmente fibrina, alterações da porção mais coronária do epitélio juncional e perda de colágeno perivascular, conforme descrita por Page e Schroeder (1976).

Embora alguns destes detalhes fossem observáveis tanto nas gengivas normais (grupo I) como após 4 dias de acúmulo de placa (grupo II), e até mesmo no grupo III (8 dias), o quadro típico característico da assim chamada "Lesão Inicial" foi difícil de identificar, confirmando as observações de Seymour et al (1983) e de Brex et al (1987-a).

A presença marcante de linfócitos e macrófagos associados à presença de áreas focais de acentuada destruição de colágeno e a proliferação de células basais o epitélio juncional, nas biópsias do grupo II relacionam-se muito mais a uma "Lesão Precoce" do que propriamente de uma "Lesão Inicial", descritas por Page e Schroeder (1976). A não constatação da assim chamada "Lesão Inicial" após 4 dias de acúmulo de placa provavelmente se deva ao fato, já discutido por Brex et al (1987-a) de que ao início do experimento (dia 28), os aspectos histológicos mostravam algum grau de inflamação, e que a resposta aguda, que caracteriza a Lesão

Inicial tenha ocorrido mais precocemente, isto é, antes dos 4 dias (Esta hipótese está sendo experimentalmente avaliada em humanos).

Os detalhes histológicos observados após 4 dias de acúmulo de placa (grupo II) parecem na realidade, uma exacerbação dos níveis de atividade dos mecanismos de defesa, que normalmente operam nos tecidos gengivais saudáveis, aumentando significativamente o número de linfócitos e macrófagos no conjuntivo abaixo do epitélio juncional. A expansão das áreas inflamadas ocorridas do dia 32 (4 dias) ao dia 36 (8 dias), foram bem evidentes, e esta difusão da infiltração inflamatória e de áreas de degradação tecidual observadas no grupo III estão de acordo com os achados de Payne et al (1975) e Seymour et al (1983). No presente trabalho, parece bem evidente que a pré existência de um infiltrado de células mononucleares (linfócitos e monócitos ou macrófagos) nas gengivas consideradas normais ( grupo I) bloqueou ou mascarou de alguma forma, o desenvolvimento de uma resposta inflamatória aguda (exudativa vascular), determinando ao final do dia 32, uma lesão onde a predominância era, inquestionavelmente, de linfócitos, a maioria dos quais, linfócitos T segundo Seymour et al (1983) e Schluger et al (1990).

Do 32 dia ao 36 dia do experimento, ou seja, do 4 ao 8 dia de acúmulo de placa, o que ocorreu na realidade foi uma intensificação dos fenômenos destrutivos, com expansão significativa da área de degradação tecidual, com aumento do número de linfócitos, macrófagos e plasmócitos, além da presença de áreas focais de in-

inflamação crônica isoladas, nas porções mais profundas do tecido conjuntivo relativamente bem estruturado. A presença marcante, de plasmócitos em 2 ou 3 indivíduos desse grupo (fig 42), associado aos demais detalhes histológicos presentes nestas biópsias do grupo III, caracterizam o estágio típico de uma "Lesão Estabelecida" descritas por Page e Schroeder (1976) e por Schluger et al (1980).

O que é discutível é a manifestação desta "Lesão Estabelecida" após 8 dias que não parece ter sido observada por Seymour et al (1983) e por Brex et al (1987-a) que afirmam serem necessárias pelo menos 3 semanas para que ela se manifeste plenamente. A presença de elevado número de células inflamatórias crônicas, particularmente de plasmócitos (fig 42) a este estágio, sugere que efetivamente, neste modelo experimental, em alguns indivíduos, as lesões se manifestaram um pouco mais precocemente do que se poderia esperar. E assim, já no 8 dia de acúmulo de placa (dia 36) foi possível identificar em alguns voluntários (3) um conjunto de alterações histológicas e especificamente, acúmulos focais de plasmócitos, compatíveis com o diagnóstico de uma "Lesão Estabelecida", segundo Page e Schroeder (1976) e Lindhe et al (1980).

Quando são comparadas as tabelas 5, 6, 7 que mostram a quantificação das células inflamatórias a cada estágio (dias 28, 32 e 36) com as tabelas 2, 3, 4, que mostram os índices de placa e gengival (IP e IG) nestes mesmos períodos, o que se verifica é uma evolução indiscutível da inflamação, do dia 28 ao 36.

Com a ocular integradora utilizada na quantificação das cé-

lulas inflamatórias, apenas as células incidentes sobre os pontos de impacto do retículo foram contadas, de tal forma que os números expressos na tabelas 5, 6, 7 dão uma idéia clara da proporcionalidade, mas obviamente tem um valor muito relativo. De qualquer forma, o que se verifica é que, no dia 28, embora IP e IG fossem zero (0), obteve-se um valor de 5,84 células inflamatórias por secção. No dia 32 (4 dias de acúmulo de placa), enquanto os IP e IG passaram respectivamente a 1,444 e 0,777, o valor médio das células inflamatórias passam a 44,72. Fundamentalmente, o que aumenta é o número de linfócitos, que a este estágio constitui aproximadamente 75% do total das células inflamatórias (Page, 1986). Por isso é importante que se procure entender possíveis mecanismos imunológicos envolvidos nesta transição entre o dia 28 e 32, e posteriormente entre os dias 32 e 36. A tabela 7 mostra que após 8 dias de acúmulo de placa o valor médio das células inflamatórias por secção passam a 94,88 enquanto os índices de placa e gengival passaram respectivamente para 2,2857 e 1,1428 (tabela 4).

Um detalhe importante nesta transição do dia 32 para 36, além da expansão do processo inflamatório abrangendo uma área maior, foi o aumento significativo do número de plasmócitos em 3 das 7 biópsias. A presença destes plasmócitos mais a distância das áreas de maior destruição tecidual confirmaram os achados de Okada et al (1984). Nascimento (1981) observou que com o aumento dos índices gengivais e das lesões observadas microscopicamente, havia um contínuo aumento de células contendo imunoglobulinas do tipo IgG, intracelular, o mesmo acontecendo com a Ig A nos indi-

ces gengivais 1 e 2 , mas não no IG = 3. O referido autor sugere que as modificações nas propriedades imunogénicas da placa dental, a partir do IG = 0 provocou uma intensificação da síntese de IgG, como resposta do hospedeiro, ampliando as condições para uma reação por imuno complexos, que associada a outros mecanismos levaria a alteração da homeostasia imunológica local e à manifestação de gengivite clinicamente detectável.

No presente trabalho, a presença em 3 biópsias de significativo número de plasmócitos associados a outros detalhes histopatológicos permite identificar estas 3 biópsias do grupo III como uma Lesão Estabelecida, concordando com Lindhe et al (1980) que descreveu um adicional aumento na proporção de células B e plasmócitos nos espécimes classificados como Lesão Estabelecida.

As observações de Seymour et al (1983) de que a Lesão Precoce persistiu por até três semanas, com a predominância de até 70% de linfócitos T, durante este período, não se confirmaram exatamente neste experimento. O referido autor encontrou menos de 5% de plasmócitos nos dias 0, 4, 8, sendo que mesmo após 21 dias, o número de plasmócitos não aumentou significativamente, persistindo a predominância de linfócitos. No presente experimento, esta predominância de linfócitos foi marcante após 4 dias de acúmulo de placa, porém, após 8 dias, 3 das sete biópsias apresentavam uma significativa presença de plasmócitos.

Por uma análise mais generalizada desta transição inflamatória que ocorre na gengiva normal em decorrência do acúmulo de placa bacteriana, pode-se verificar que as alterações estruturais

mais significantes envolvem o desenvolvimento de respostas vasculares e celulares com variações significantes do número de linfócitos, macrófagos e plasmócitos, associados a proliferação de fibroblastos e angioblastos, destruição e formação tecidual. Esta fenomenologia toda identifica um processo inflamatório crônico no qual, as reações imunológicas se expressam pela participação dos linfócitos (T e B), dos macrófagos e dos plasmócitos.

Neste protocolo, conduzido com muito cuidado, durante os 36 dias, não houve uma manifestação evidente de uma resposta exudativa-vascular típica de uma Lesão Inicial . A presença de um definido infiltrado de linfócitos e macrófagos ao início do experimento (dia 28) já poderia ser considerado como um certo grau de sensibilização dos voluntários a algum contato prévio com antígenos da placa bacteriana. O acúmulo gradual de placa do dia 28 para o dia 32, determinou um aumento significativo do número de linfócitos, constituindo cerca de 75% das células inflamatórias (Seymour et al 1983). Embora durante este período, possa e certamente tenha ocorrido algum aumento na exudação de imunoglobulinas séricas, complemento, fibrinogênio e alguns leucócitos polimorfonucleares, estes fenômenos não foram suficientemente intensos para permitir a caracterização de uma Lesão Inicial. Se fosse permitido especular, poder-se-ia dizer que esta fase aguda inicial deve ter sido muito sutil e ocorrida muito mais precocemente do que ocorreria num indivíduo "virgem" do ponto de vista, de contatos prévios com a placa bacteriana. Desta forma, após 4 dias de acúmulo de placa as células linfóides presentes desde o dia zero podem

ter liberado algumas linfocinas, como o fator mitogénico para linfócitos e o fator inibidor da migração de macrófagos, dando um aspecto típico de uma Lesão Precoce.

A partir do 4 dia de placa acumulada até o 8 dia, o que se viu ao microscópio foi uma difusão ou uma extensão do processo inflamatório crônico, com um aumento substancial de linfócitos e macrófagos. Estas variações individuais necessitam um estudo mais pormenorizado. Alguns progressos em biologia celular e imunologia tem permitido aos cientistas começar a entender a complexidade do sistema linfocítico e as diferentes funções desenvolvidas pelos linfócitos (Tew et al; 1989). As respostas proliferativas dos linfócitos T e B aos antígenos da placa bacteriana flutuam bastante em relação ao grau de sensibilização do hospedeiro àqueles antígenos. É possível que alguns indivíduos possuam sub-populações de linfócitos B que seriam ativados por determinados componentes da placa bacteriana, dando origem a um número significativamente maior de plasmócitos que daria a estas lesões (grupo III) as características de uma "Lesão Estabelecida". Entretanto, isto é apenas uma especulação ou uma hipótese, que necessita e esta sendo melhor estudada.

## CONCLUSÕES

Nas condições em que a presente pesquisa foi desenvolvida, e em face aos resultados encontrados, pode-se concluir que:

- 1 - Mesmo gengivas caracterizadas como clinicamente normais apresentaram IP e IG diferentes de zero.
- 2 - Um rigoroso controle de placa durante 28 dias foi suficiente para reduzir os IP e IG a zero, em todos os voluntários.
- 3 - O acúmulo de placa durante 4 e 8 dias, determinou um significante aumento do IG, diretamente proporcional ao aumento do IP.
- 4 - Mesmo após 28 dias de rigoroso controle de placa, não se observou, ao exame microscópico, em nenhuma das biópsias do grupo I, uma "gengiva histologicamente normal", isenta de células inflamatórias.
- 5 - Após 4 dias de acúmulo de placa, houve um grande aumento do número de células inflamatórias, que se intensificou significativamente após 8 dias.

- 6 - Não se observou em nenhum dos pacientes do grupo II, após 4 dias de acúmulo de placa, o desenvolvimento de uma inflamação exudativa-vascular (aguda serosa).
- 7 - Após 4 dias, o aspecto histopatológico característico predominante era de uma inflamação crônica, embora não existam ainda sinais evidentes de uma gengivite clinicamente detectável.
- 8 - Após 8 dias de acúmulo de placa, as manifestações clínicas, de uma gengivite já são evidentes, e refletem significantes alterações inflamatórias presentes nos tecidos gengivais.
- 9 - Apesar da criteriosa uniformidade da amostra, observou-se uma marcante variabilidade entre os indivíduos de um mesmo grupo. Tanto clínica como histologicamente.

## RESUMO

A dinâmica dos eventos inflamatórios e as alterações estruturais que ocorrem numa gengiva normal em decorrência do acúmulo de placa bacteriana, foram estudadas experimentalmente em humanos.

Vinte e três (23) voluntários jovens com idade entre 19 e 22 anos, participaram do experimento formando 3 grupos: Grupo I (gengiva normal); Grupo II (acúmulo de placa por 4 dias) e Grupo III (acúmulo de placa por 8 dias). Sendo que todos participaram de um intenso e rigoroso controle de placa por 28 dias. Os resultados mostraram uma relação direta entre o grau de inflamação e a presença da placa durante 4 e 8 dias. Embora a amostragem fosse bastante uniforme, ainda assim os resultados ressaltaram a importância da individualidade dos mecanismos de defesa de cada indivíduo.

As biópsias dos indivíduos do Grupo I, mostraram que mesmo após 28 dias de controle de placa ainda se observa um moderado número de células inflamatórias no conjuntivo subjacente ao epitélio juncional e sulcular. O acúmulo, de placa durante 4 dias aumentou significativamente o número de células inflamatórias. Depois de 8 dias de acúmulo de placa, o processo inflamatório intensifica-se, mostrando maiores áreas de desintegração tecidual.

## SUMMARY

The dynamic of inflammatory events and the structural changes that happens in a normal gingiva as consequence of bacterial plaque accumulation were studied experimentally in humans. After a period of prophylaxis, the 23 young volunteers that participate in the experiment were, randomly separated in 3 groups.

The group I; formed by 7 subjects with normal gingiva; group II by 9 individuals that stayed 4 days without oral hygiene, allowing the plaque accumulation.

The result showed a straight relationship between the rate of inflammation, the presence of plaque during 4 or 8 days and the gingival index (GI) and plaque index (PI). The histologic findings showed that even after 28 days of hard plaque control, a moderate number of inflammatory cells was observed at the connective tissue subjacent to junctional and sulcular epithelium. The accumulation of plaque during 4 days increased the number of leukocytes into the connective and epithelial tissues near to gingival sulcus, with accentuation of the inflammatory features observed in "normal" gingiva. After 8 days of plaque accumulation, there was a prominent extension of the lesion, with exacerbation of destructive activity, showing larger areas of tissue degradation, changing the clinical aspect of the gingiva.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOUSNA O et al Effect of personal oral hygiene on bleeding interdental gingiva. J Periodontol., Chicago v.59, n.2, p80-85, Feb. 1988.
- BRANDTZAEG P. Role of the immune system-dangers of a nonholistic approach in explaining health and disease. Periodontology Today-Int. Congr. Zurich , pp 196-208; 1988.
- BREX M.C. et al Comparison between histological and clinical parameters during human experimental gingivitis. J. Periodont. Res., Copenhagen, v.22, n.1, p.50-57, Jan. 1987.
- et al. Variability of histologic criteria in clinically healthy human gingiva. J Periodont Res., Copenhagen, v.22, n.6, p.468-472, Nov. 1987.
- BREUER M.M., COSGROVE R.S. The relationship between gingivitis and plaque levels. J Periodontol., Chicago, v.60, n.4, p.172-175, Apr. 1989.
- CARRANZA JUNIOR, F.A. et al Scanning and transmission electron microscope study of tissue invading microorganisms in LJP. J. Periodontol. Chicago, v.54, n.10, p.598-617, Oct. 1983.
- CRISTERSSON L.A. et al Tissue localization of Actinobacillus Actinomycetemcomitans in human periodontitis. I: Light, immunofluorescence and electron microscopic studies. J. Periodontol., Chicago, v.58, n.8, p.529-539, Aug., 1987.

---

As referências bibliográficas estão de acordo com a NBR-6023 de 1989 da Associação Brasileira de Normas Técnicas.

- COONS D.B., CHARBENEAU T.D., HIDALGO F.R. Quantification of bacterial penetration in spontaneous periodontal disease in beagle dogs. J. Periodontol., Chicago, v.60, n.1, p.23-30, Jan. 1989.
- DANIELSEN B. et al Transition dynamics in experimental gingivitis gingivitis in humans. J. Periodont. Res., Copenhagen, v.24, n.4, p.254-260, July, 1989.
- EBERSOLE J.L. et al Humoral immune responses and diagnosis of human periodontal disease. J. Periodont. Res., Copenhagen, v.17, n.5, p.478-480, Sept., 1982.
- ELCIO JUNIOR M. Correlação entre os critérios clínicos do índice de placa e a condição histológica do tecido gengival. Revta odont. UNESP., São Paulo, v.17, n.1/2, p.123-138, 1988.
- FRANK R.M. Is microbial tissue invasion a reality during periodontal breakdown?. Periodontology Today Int. Cong., Zurich, p.150189; 1988.
- GENCO R.J., SLOTS J. Host responses in periodontal diseases. J. Dent. Res., Chicago, v.63, n.3, p.441-451, Mar. 1984.
- GOES M.F. et al Vascular changes during the development of the rat gingiva. J. Periodont. Res., Copenhagen, v.18, n.4, p.402-411, July, 1983.
- HARPER D.S., ROBINSON P.J. Correlation of histometric, microbial and clinical indicators of periodontal disease status before and after root planing. J Clin Periodontal., Copenhagen, v.14, n.4, p.190-196, Apr., 1987.

- HOLM-PEDERSEN P., AGERBACK N., THEILADE E. Experimental gingivitis in young and elderly individuals. J. clin. Periodont., Copenhagen, v.2, n.1, p.14, Feb., 1975.
- LANG N.P. Treatment of periodontal diseases. Periodontology Today Int. Congr., Zurich. p.337-345; 1988.
- LINDHE J. et al Clinical and structural alterations characterizing healing gingiva. J. Periodont. Res., Copenhagen, v.13, n.5, p.410-424, Sept., 1978.
- , NYMAN S. Alterations of the position of the marginal soft tissue following periodontal surgery. J. Clin. Periodont., Copenhagen, v.7, n.6, p.525-530, Dec., 1980.
- , ————— Clinical trials in periodontal therapy. J. Periodont. Res. Copenhagen, v.22, 3, p.217-221, May, 1987.
- LALLY E.T., BAEHMI P.C., MCARTHUR W.P. Local immunoglobulin synthesis in periodontal disease. J. Periodont. Res., v.15, p.159; 1980.
- LISTGARTEN M.A. Plaque and periodontal disease. J Clin. Periodontol. Copenhagen, v.15, n.8, p.465-467, Sept., 1988.
- . Pathogenesis of periodontitis. J. Clin. Periodontol., Copenhagen, v.13, n.5, p.418-425, May, 1986.
- LÖE H., SILNESS J. Periodontal disease in pregnancy. Prevalence and severity. Acta odont. Scand., Oslo, v.21, n.6, p.532-551, Nov./Dec., 1963.

- LOE H., THEILADE E., JENSEN S.B. Experimental gingivitis in man. J. Periodontol., Chicago, v.36, n.3, p.177-187, May/June, 1965.
- MEIKLE M.C., HEALTH J.K., REYNOLDS J.J. Advances in understanding cell interactions in tissue resorption. Relevance to the pathogenesis of periodontal diseases and a new hypothesis. J. Oral Pathol., Copenhagen, v.15, n.5, p.239-250, May, 1986.
- NASCIMENTO A. Correlações entre os aspectos clínicos, histológicos e imunológicos da gengivite crônica. Tese (Livre-Docência em Periodontia) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1981.
- NISENGARD R.J. Bacterial Invasion in periodontal disease. J. Periodontol., Chicago, v.58, n.5, p.331-339, May, 1987.
- OKADA H., KASSAI Y., KIDA T. T lymphocyte subsets in the inflamed gingiva of human adult periodontitis. J. Periodont. Res., Copenhagen, v.19, n.6, p.595-598, Nov. 1984.
- OLIVER R.C., HOLM-PEDERSEN, LOE H. The correlation between clinical scoring, exudate measurements and microscopic evaluation of inflammation in the gingiva. J. Periodontol., Chicago, v.40, n.4, p.201-209, Apr., 1969.
- PAGE R.C., SCHROEDER H.E. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. Lab. Invest., Baltimore, v.33, n.3, p.235-249, 1976.
- . Gingivitis. J. Clin. Periodontol., Copenhagen, v.13, n.5, p.345-355, May, 1986.
- . Current understanding of the aetiology and progression of periodontal disease. Interdent. Dent. J., v.36, p.153-161, 1986.

- PALLENSTEIN HELDERMAN W.H.P. Microbial etiology of periodontal disease. J. clin. Periodont., Copenhagen, v.8, n.4, p.261-280, Apr., 1981.
- PAYNE W.A. et al Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. J. Periodont. Res., Copenhagen, v.10, n.2, p.51-64, May, 1975.
- QUIRYNEN M., VAN STEENBERGHE D. Is early plaque growth rate constant with time? J. Clin. Periodontol., Copenhagen, v.16, n.5, p.278-283, May, 1980.
- SAGLIE R., CARRANZA JUNIOR, F.A., NEWMAN M.G. The presence of bacteria within the oral epithelium in periodontal disease. I - A scanning and transmission electron microscopic study. J. Periodont., Chicago, v.56, n.10, p.618-624, Oct., 1985
- et al Bacterial invasion of gingiva in advanced periodontitis in humans. J. Periodont., Chicago, v.53, n.4, p.217-222, Apr., 1982a.
- et al The presence of bacteria in the oral epithelium in periodontal disease. J. Periodont., Chicago, v.59, p.417-422, 1987.
- et al The presence of bacteria in the oral epithelium in periodontal disease. II - Immunohistochemical identification of bacteria. J. Periodont., Chicago, v.57, n.8, p.492-500, Aug., 1986.
- et al Scanning electron microscopy of the gingival wall of deep periodontal pockets in humans. J. Periodont. Res., Copenhagen, v.17, n.3, p.284-293, May, 1982b.

- SCHLUGER S. et al Periodontal Diseases. 2<sup>ed.</sup>, Seathle, 1990.
- SCHROEDER H.E. Quantitative parameters of early human gingival inflammation. Archs oral Biol., Elmsford, v.15, n.5, p. 383-400, May, 1970.
- , GRAF-DE BEER M., ATTSTROM R. Initial gingivitis in dogs. J. Periodont. Res., Copenhagen, v.10, n.3, p.128-142, July, 1975.
- , SCHERLE W.F. emento-Enamel junction revisited. J. Periodont. Res., Copenhagen, v.23, n.1, p.53-59, Jan., 1988.
- SEYMOUR G.J., POWELL R.N., AITKEN J.F. Experimental gingivitis in humans - A clinical and histologic investigation. J. Periodont., Chicago, v.54, n.9, p.522-528, Sept., 1983.
- SHENKER B.J. Immunosuppression: An etiopathogenic mechanism. Periodontology Today Int. Congr., Zurich : pp 178-186; 1988.
- SILNESS J., LÖE, H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene an periodontal condition. Acta odont. Scand., Oslo, v.24, p.747-759, 1964.
- SILVERSTEIN L.H. et al Bacterial penetration of gingiva in the adult beagle dog with periodontitis. J. Periodont., Chicago, v.61, n.1, p.35-41, Jan., 1990.
- SOCRANSKY S.S. et al New concepts of destrutive periodontal disease. J. clin. Periodont., Copenhagen, v.11, n.1, p.21-32, Jan., 1984.
- STALLARD R.E., ORBAN J.E., HOVE K.A. Clinical significance of the inflammatory process. J. Periodont., Chicago, v.41, n.11, p.620-624, Nov., 1970.

- TAGLIAVINI R.L. Estudo comparativo entre os graus clínicos da inflamação gengival e sua correspondência histológica. Tese (Livre Docência em Periodontia) - Faculdade de Odontologia de Aracatuba, Universidade Paulista "Julio de Mesquita Filho", 1982.
- TEW J., ENGEL D., MANGAN D. Polyclonal B- cell activation in periodontitis. J. Periodont. Res., Copenhagen, v.24, n.4, p.225-241, July, 1989.
- THEILADE E. The non-specific theory in the microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. J. clin Periodont. Copenhagen, v.13, n.10, p.905-911, Nov., 1986.
- THILO B.E. et al Cell populations associated with interdental gingival bleeding. J Clin Periodont., Copenhagen, v.13, n.4, p.324-329, Apr., 1986.
- WENNSTROM J.L. What is a clinically healthy periodontium? Periodontology Today Int. Congr., Zurich.: pp 1-5, 1988.
- WILTOM M. Host Defenses. Periodontology Today Int. Congr., Zurich.: pp 324-336; 1988.
- WINKEL E.G. et al Experimental gingivitis in relation to age in individuals not susceptible to periodontal destruction. J clin. Periodont., Copenhagen, v.14, n.9, p.499-507, Oct., 1987.