
KARINA GOTTARDELLO ZECCHIN

CIRURGIÃ-DENTISTA

UNICAMP

BIBLIOTECA CENTRAL

SEÇÃO CIRCULANTE

***AVALIAÇÃO DO EFEITO DA
CICLOSPORINA NO REPARO ALVEOLAR
APÓS EXODONTIA EM RATOS***

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Estomatopatologia, área de Patologia

PIRACICABA

2001

200117233

KARINA GOTTARDELLO ZECCHIN

CIRURGIÃ-DENTISTA

***AVALIAÇÃO DO EFEITO DA
CICLOSPORINA NO REPARO ALVEOLAR
APÓS EXODONTIA EM RATOS***

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Estomatopatologia, área de Patologia

Orientador: Prof. Dr. Jacks Jorge Junior

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Jacks Jorge Junior

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz

Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida

Suplente: Prof. Dr. Ricardo Della Coletta

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CPG-036/83
CPG-036/83
Assinatura do Orientador



PIRACICABA

2001

Ficha Catalográfica

Z19a	<p>Zecchin, Karina Gottardello. Avaliação do efeito da ciclosporina no reparo alveolar após exodontia em ratos. / Karina Gottardello Zecchin. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2001. xxiv, 109p. : il.</p> <p>Orientador : Prof. Dr. Jacks Jorge Junior. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p>1. Densitometria. 2. Radiografia. 3. Cirurgia. 4. Histologia dentária. I. Jorge Junior, Jacks. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.</p>
------	--

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 02 de Março de 2001, considerou a candidata KARINA GOTTARDELLO ZECCHIN aprovada.

1. Prof. Dr. JACKS JORGE JUNIOR

Handwritten signature of Jacks Jorge Junior in black ink, written over a horizontal line.

2. Prof. Dr. JOÃO GUALBERTO DE CERQUEIRA LUZ

Handwritten signature of João Gualberto de Cerqueira Luz in black ink, written over a horizontal line.

3. Prof. Dr. OSLEI PAES DE ALMEIDA

Handwritten signature of Oslei Paes de Almeida in black ink, written over a horizontal line.

“Todos são inteligentes! Mas aqueles que sabem desenvolver com maior empenho a sua inteligência e as suas faculdades espirituais são também mais modestos e mais humildes do que os outros. Porque a verdadeira inteligência é humilde e a humildade é a compreensão sincera e respeito aos outros. Quem quer emergir sobre os outros desprezando ou invejando a grandeza não desenvolve a inteligência, mas consome todas as suas energias lutando inutilmente.”

Gabriele Adani

“Tudo o que você faz só porque os homens, os regulamentos, os eventos lhe impõem é treinamento, hábito e, talvez, escravidão. Se, ao contrário, você decide pessoalmente com a sua vontade, cumprir o que se impõe, você age como homem. Na ação, no trabalho, coloque reflexão, coloque decisão pessoal, coloque amor onde há apenas hábito e resignação.”

Gabriele Adani

Dedicatória

A Deus,

por me levar em seus braços nos momentos em que mais preciso. Todo o meu amor e devoção.

A meus pais Wagner e Malvina,

aos quais entrego o fruto de todo esforço e de todo amor com que nos educam. Meu respeito, amor e minha gratidão.

A meus irmãos Henrique e Victor,

pela conclusão de mais uma etapa que compartilhamos juntos, passo a passo, unidos pelo carinho.

A meu amado Daniel,

por me dar todo o incentivo e por estar presente em todos os momentos de minha vida. A você todo o meu amor.

Dedicatória

Ao Professor Doutor Jacks Jorge Junior,

lhe dedico este trabalho como forma de homenageá-lo pela honrada orientação, pela amizade e confiança e por todos os esforços realizados ao longo de minha orientação. Todo o meu carinho e minha admiração.

Ao Professor Doutor Oslei Paes de Almeida,

pelo exemplo de dignidade e trabalho com os quais se apresenta a todos nós, por respeitar os meus limites e por me incentivar nesta carreira que apenas inicio. Todo o meu respeito e gratidão.

Agradecimentos Especiais

Agradeço ao **Prof. Dr. Ricardo Della Coletta** pelo exemplo de bondade, otimismo e pela amizade e consolo nos momentos em que precisei.

Ao **Prof. Dr. Edgard Graner** por ter acreditado em mim e neste trabalho desde o princípio e pelo carinho que têm por todos nós.

Ao **Prof. Dr. Pablo Agustin Vargas** por sua amizade e pela confiança e credibilidade neste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Osvaldo Di Hipólito Junior** pelas palavras de apoio, pela orientação e pela visão graciosa da vida.

Ao **Prof. Dr. Márcio Ajudarte Lopes** pelo exemplo de dignidade, respeito e responsabilidade.

Aos meus queridos e preciosos amigos **Beatrice Gonçalves Carvalho, Daniela Pasquarelli, Fabiana Yoshinaga e Gilberto Bosco Neto** que sempre acreditaram em mim e por estarem ao meu lado há tantos anos. Meu carinho por vocês!

Às minhas queridas amigas e companheiras de faculdade **Alessandra Matias Rentes, Juliana Salton Leites, Maria Carolina Erhardt e Maria Yuki Mochizuki** por terem me ajudado a superar obstáculos, por toda a amizade e para que este trabalho lhes possa servir como exemplo de perseverança. Saudades!

À minha querida amiga e companheira de mestrado **Cíntia de Souza Alferes Araújo** por estar sempre pronta a me ajudar e a me ouvir e por ter se mostrado um exemplo admirável de uma verdadeira amizade. Obrigada pelo carinho!

A meu querido amigo **Rui Barbosa de Brito Junior** pela presença e participação neste trabalho, pela amizade e pelo exemplo de honestidade. OBRIGADA!

Ao Prof. Dr. **Lourenço Correr Sobrinho** pela amizade, pelas palavras de apoio e confiança, meu MUITO OBRIGADA!

A meu primo e cirurgião-dentista **Ricardo Campane** por ter me incentivado desde o início a seguir o caminho da pesquisa, por todo o seu apoio e amizade. Também à minha prima **Valéria Campane** por sua visão otimista desta minha experiência.

À toda a família **Gottardello**, em especial às minhas tias e ao meu primo **Otávio Gottardello Ferrarresso** por estarem sempre presentes e por todo o carinho que têm por mim.

Aos meus queridos **Sidiney Brito da Silveira**, **Ana Verônica Miranda da Silveira** e **Eduardo Miranda da Silveira** que acompanharam de perto este trabalho e que sempre me apoiaram de maneira terna e amável.

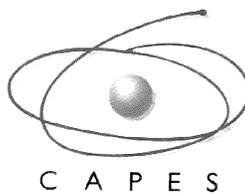
Agradecimentos

À



Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo auxílio financeiro
concedido ao Prof. Dr. Jacks Jorge Junior, processo número **98/02831-5**.

À



Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de mestrado
concedida.

À **Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP**, na pessoa do diretor Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum.

À **Profª Dra. Altair Antoninha Del Bel Cury**, coordenadora dos cursos de pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP.

Aos **Profs. Drs. Heron Fernando de Souza Gonzaga, Lourenço Bozzo e Luis Carlos Spolidório** por compartilharem conosco seus conhecimentos e experiências.

Aos funcionários da Patologia, **Adriano Luis Martins, Ana Cristina do Amaral Godoy, João Carlos Gomes da Silva Júnior, Maria Helena de Vasconcelos Peron, Rosa Maria Fornasiari** por toda a ajuda, apoio e bons momentos compartilhados.

Ao biólogo **Sérgio Amaral de Campos** e ao bioterista **Wanderlei Francisco Vieira** pela ajuda fundamental para a realização da fase prática deste trabalho.

Ao cirurgião-dentista **Rogério de Andrade Elias** e à funcionária do Orocentro **Aparecida Conceição Campion** pelo carinho e companhia ao longo destes anos.

Ao engenheiro agrônomo **Marcelo Corrêa Alves** pela realização da análise estatística deste trabalho, por toda a paciência e orientação ao me ensinar.

Ao aluno de pós-graduação **Rogério da Silva Jorge** pelo carinho e por me ajudar a desenvolver a técnica de exodontia necessária para a realização deste trabalho.

Ao aluno de pós-graduação **Halbert Villalba** por todo o auxílio prestado em etapas fundamentais deste trabalho e de minha formação científica. Muito obrigada!

À aluna de pós-graduação **Gláucia Bolzani** por toda a assistência e atenção nas fases iniciais deste trabalho.

Às queridas **Blanca Liliana Torres Leon, Cristina de Moura Leite Lourenço, Emilena Maria Castro Xisto Lima, Kira Anayansi Singh e Marlene de Oliveira Razera** pela agradável convivência e companhia.

A todos os meus colegas do curso de estomatopatologia pelos bons momentos que compartilhamos, pela ajuda que cada um soube prestar ao longo deste trabalho e de minha formação. Obrigada a todos!

A todos aqueles que não foram citados porém têm conhecimento deste trabalho e de sua importância, bem como àqueles que ajudaram em momentos específicos e essenciais, minha gratidão.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	01
LISTA DE TABELAS DO ANEXO	03
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	05
1.1 RESUMO	07
1.2 ABSTRACT	09
2.1 INTRODUÇÃO	11
2.2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.2.1 Indicações terapêuticas da csa	13
2.2.2 Mecanismo de ação da csa	14
2.2.3 Absorção e metabolismo da csa	15
2.2.4 Vias de administração e posologia da csa	15
2.2.5 Efeitos colaterais da csa	16
2.2.6 Efeito da csa sobre o tecido cutâneo	17
2.2.7 Efeito da csa sobre o tecido ósseo	18
2.2.8 Efeito da csa sobre os tecidos bucais	19
2.2.9 Reparo alveolar após exodontia	21
2.2.10 Densitometria radiográfica	24
2.2.11 Histomorfometria	26
2.3 PROPOSIÇÃO	29
2.4 MATERIAL E MÉTODOS	31
2.4.1 Delineamento do experimento e manuseio dos animais	31

2.4.2	Processamento do material	33
2.4.3	Avaliação macroscópica das mandíbulas	39
2.4.4	Densitometria radiográfica	39
2.4.5	Determinação das medidas lineares, superfícies e demais reparos	41
2.4.6	Histomorfometria	43
2.4.7	Análise estatística	44
2.5	RESULTADOS	47
2.5.1	Técnica cirúrgica e manejo dos animais	47
2.5.2	Peso dos animais	48
2.5.3	Densitometria radiográfica	49
2.5.4	Avaliações sob lupa estereoscópica	54
2.5.5	Avaliações sob microscopia ótica	55
2.5.6	Avaliações sob microscopia computadorizada	56
2.6	DISCUSSÃO	65
2.7	CONCLUSÕES	73
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
	ANEXO	91

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 1 – Distribuição dos grupos de ratos de acordo com os tratamentos aplicados	31
Figura 1 – Seqüência dos procedimentos cirúrgicos – parte I	35
Figura 2 – Seqüência dos procedimentos cirúrgicos – parte II	37
Figura 3 – Alvéolo do primeiro molar de rato, com os campos para microscopia ótica	43
Figura 4 – Alvéolo do primeiro molar de rato para microscopia ótica computadorizada	44
Tabela 2 – Relação das hemi-mandíbulas perdidas durante o experimento	47
Tabela 3 – Evolução média dos pesos, em gramas, dos ratos	49
Figura 5 – Radiografias obtidas a partir das hemi-mandíbulas dos animais	51
Tabela 4 – Densidade ótica em relação aos tempos estudados	53
Tabela 5 – Densidade ótica em relação aos grupos estudados	53
Tabela 6 – Variáveis avaliadas por meio de lupa estereoscópica	54
Tabela 7 – Presença de ulceração avaliada por meio de microscópio ótico	55
Tabela 8 – Percentual de cobertura epitelial através de microscopia computadorizada	56
Tabela 9 – Densidade volumétrica de fibroblastos em microscopia computadorizada	58
Tabela 10 – Densidade volumétrica de colágeno em microscopia computadorizada	59
Tabela 11 – Área ocupada por tecido ósseo através de microscopia computadorizada	61
Tabela 12 – Área ocupada por espaços medulares em microscopia computadorizada	62

LISTA DE TABELAS DO ANEXO

Tabela 1 – Efeito da csa sobre o peso dos animais em seis pesagens	92
Tabela 2 – Confirmação da identidade das hemi-mandíbulas	93
Tabela 3 – Resultados das leituras densitométricas realizadas em duas ocasiões	94
Tabela 4 – Hiperqueratose gengival observada por meio de lupa estereoscópica	95
Tabela 5 – Crescimento gengival observado por meio de lupa estereoscópica	96
Tabela 6 – Ulcerações observadas por meio de lupa estereoscópica	97
Tabela 7 – Cobertura epitelial observada por meio de lupa estereoscópica	97
Tabela 8 – Índice de cobertura epitelial observado por meio de lupa estereoscópica	98
Tabela 9 – Cobertura epitelial observada na lupa estereoscópica	99
Tabela 10 – Área de colágeno observada em microscopia ótica	100
Tabela 11 – Quantificação de fibroblastos realizada em microscopia ótica	100
Tabela 12 – Quantificação de osso neoformado realizada em microscopia ótica	101
Tabela 13 – Exposição óssea observada por meio de microscópio ótico	101
Tabela 14 – Restos radiculares no alvéolo observados em microscópio ótico	102
Tabela 15 – Presença de ulcerações observadas por meio de microscópio ótico	103
Tabela 16 – Índice de cobertura epitelial observado em microscópio ótico	103
Tabela 17 – Cobertura epitelial observada por meio de microscópio ótico	104
Tabela 18 – Revestimento epitelial observado em microscópio ótico	105
Tabela 19 – Vasos sanguíneos neoformados em microscopia ótica computadorizada	107
Tabela 20 – Espaços vazios em microscopia ótica computadorizada	108
Tabela 21 – Raiz residual observada em microscopia ótica computadorizada	109

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CD4+ – Linfócitos T “helper”

CD8+ – Linfócitos T citotóxicos

Cont – Solução salina a 0,9%

Csa – Ciclosporina A

Csa1 – Ciclosporina a 10 mg/dia/kg de peso

Csa2 – Ciclosporina a 20 mg/dia/kg de peso

DP – Desvio padrão

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético

Fig – Figura

HE – Hematoxilina e Eosina

IL – Interleucina

kDa – Quilodalton

KVA – QuiloVoltAmpere

K-W – Teste de Kruskal-Wallis

NaCl – Solução salina a 0,9%

RNA_m – Ácido ribonucléico mensageiro

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

X² – Teste do Qui - Quadrado

RESUMO

Ciclosporina (csa) é um polipeptídeo cíclico usado como imunossupressor em transplantes homogêneos de órgãos. Seus efeitos em processos de reparo ainda são contraditórios. Neste trabalho analisamos a influência do uso da csa sobre o processo de reparo alveolar após exodontia bilateral do primeiro molar inferior de rato. O experimento foi realizado com 150 ratos Wistar machos, divididos em 3 grupos (controle, Csa1 e Csa2) de 50 animais cada. Os animais receberam injeções subcutâneas diárias de ciclosporina (Sandimun[®]) ou de solução salina, a partir de 7 dias antes da extração até o sacrifício. Dez ratos de cada grupo foram sacrificados aos 3, 7, 14, 21 e 28 dias após a extração do primeiro molar inferior. Após fixação em formol, suas hemi-mandíbulas foram radiografadas e a análise densitométrica foi realizada na região alveolar dos primeiros molares inferiores. Cortes histológicos seriados das hemi-mandíbulas foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE) e analisados por meio de microscopia ótica e computadorizada. Áreas ocupadas por osso neoformado, índice de cobertura epitelial sobre o alvéolo e a densidade volumétrica de fibroblastos e colágeno foram quantificadas. A técnica desenvolvida neste trabalho para exodontia mostrou-se prática e eficaz e a densitometria radiográfica dos alvéolos mostrou padrão bipolar. O uso da csa não interferiu significativamente no recobrimento epitelial, na angiogênese, na produção de colágeno e na neoformação óssea alveolar. Em conclusão, a csa não influenciou o processo de reparo alveolar ao final do período avaliado, apesar de causar alterações em alguns dos parâmetros mensurados.

Palavras-chave: ciclosporina, reparo alveolar, densitometria radiográfica, histomorfometria.

ABSTRACT

Cyclosporin (csa) is a cyclic polypeptide used as an immunosuppressive drug for halogenous organ transplants. Its effects on repair processes are still controversial. In the present study, we analyzed the influence of cyclosporin therapy over the process of alveolar repair after bilateral first inferior molar extraction in rats. The experiment was done with 150 male Wistar rats divided into 3 groups (control, Csa1, and Csa2) of 50 animals each. Each animal received subcutaneous daily injections of cyclosporin (Sandimun[®]) or saline for 7 days before the experiment. Ten rats from each group were sacrificed at 3, 7, 14, 21 and 28 days after the extraction of the first inferior molar. After fixed in formalin, their jaws were radiographed and the bone densitometry of the first inferior molar socket was analyzed. Serial sections of the material were stained with Hematoxylin and Eosin (HE), and analyzed with optical and computerized microscopy. The neoformed bone areas, the index of epithelial coverage over this neoformed bone and the volumetric density of both fibroblasts and collagen were measured. The technique developed in this study for extraction was straightforward and efficient, and the socket radiographic densitometry showed an irregular pattern. The csa therapy did not significantly interfere with epithelial growing, angiogenesis, collagen production or alveolar bone neoformation. In conclusion, csa did not influence the alveolar healing in the end of the experimental period, but caused some alterations in the pattern of some evaluated characteristics.

Key words: cyclosporin, alveolar repair, radiographic densitometry, histomorphometry.

2.1 INTRODUÇÃO

Descoberta em 1972 por BOREL (1976), a ciclosporina (csa) foi primeiramente aplicada como agente antifúngico, mas suas atividades antibióticas são restritas e o uso atual ocorre quase exclusivamente em transplantes homogêneos de órgãos devido a sua capacidade imunossupressora (CALNE et al. 1979, STARZL et al. 1980, MORRIS 1981, DALEY & WYSOCKI 1984, BOREL 1988, FU et al. 1997), que está associada à ação sobre linfócitos T, com efeitos mínimos sobre a imunidade humoral (CARP et al. 1997). Passadas mais de duas décadas do início do uso extensivo da csa em transplantes, seus efeitos sobre o metabolismo ósseo ainda não foram claramente estabelecidos (RANDZIO et al. 1991, HARPENAU et al. 1995, FU et al. 1997). Enquanto alguns autores relatam aumento do tempo de cicatrização (FLETCHER et al. 1993), outros relatam não haver qualquer interferência da droga sobre o processo de reparo e migração celular (GUATELLI et al. 1996), sendo encontrados ainda relatos demonstrando efeito favorável sobre a cicatrização (BARTOLD et al. 1989, SPOLIDORIO 1991).

Por outro lado, o processo de reparo alveolar após exodontia é um assunto amplamente estudado e a seqüência de eventos conhecida em relativo detalhe (DEVLIN 2000). Inicialmente o coágulo preenche o alvéolo, onde será maturado e substituído pelo tecido de granulação. As células epiteliais iniciam intensa atividade mitótica com a finalidade de recobrir a ferida, ocorre angiogênese e fibroblastos sintetizam grande quantidade de fibras colágenas. Em seguida, tem início a ossificação e maturação das trabéculas ósseas, processo este que poderá estender-se por 6 meses até que não haja

diferença na densidade do osso neoformado e do osso alveolar adjacente (CARVALHO et al. 1997).

Apenas nos Estados Unidos da América, cerca de 12 mil transplantes renais e 8 mil de outros órgãos foram realizados no ano de 1996, tendo sido observada tendência de crescimento deste número desde 1988 (UNOS 1997a). Cerca de 80% dos pacientes que receberam órgãos de doadores vivos e 66% dos que receberam órgãos de cadáveres tiveram sobrevida de 4 anos (UNOS 1997b). No Brasil foram realizados mais de 9 mil transplantes renais entre 1987 e 1997 (RBT 1995) e, somente no Estado de São Paulo, foram realizados 279 transplantes renais no primeiro semestre de 2000 (CT 2000).

A necessidade de tratamento odontológico é uma das conseqüências da sobrevida prolongada dos pacientes transplantados em uso de csa e exodontias são parte das opções terapêuticas freqüentemente adotadas por dentistas, no entanto, pouco se sabe sobre os reais efeitos desta droga sobre o processo de reparo alveolar apos exodontia.

2.2 REVISÃO DA LITERATURA

2.2.1 INDICAÇÕES TERAPÊUTICAS DA CSA:

A csa é uma droga imunossupressora largamente utilizada na profilaxia e tratamento da rejeição em transplantes de órgãos (BOREL 1988, VOLPE et al. 1997, MYRILLAS et al. 1999, NIEH et al. 1999). Em modelos experimentais em animais, curtos períodos de administração da droga permitem uma sobrevida prolongada do órgão transplantado (BOREL & MESZAROS 1980, REITZ et al. 1981, MORRIS 1984, DOI et al. 1998), podendo esta ser aumentada em 25% em transplantes renais e cerca de 50% em transplantes hepáticos (STARZL et al. 1983). Bons resultados têm sido obtidos em transplantes cardiopulmonares, diferentemente do que têm ocorrido em transplantes de pâncreas e de medula óssea (OYER et al. 1983, SUTHERLAND et al. 1983).

A csa tem sido empregada no tratamento de diversas condições clínicas como pênfigos vulgar e bolhoso (BARTHELEMY et al. 1993, THIVOLET et al. 1993), penfigóide cicatricial ocular (PALESTINE et al. 1984), líquen plano oral (HARPENAU et al. 1995, JAMES et al. 1998), síndrome de Behçet (NUSSENBLATT et al. 1985), lupus eritematoso sistêmico (FEUTREN et al. 1986, JAMES et al. 1998), diabetes mellitus tipo 1 (STILLER et al. 1983), artrite reumatóide (MULLER & HERRMAN 1979, SUGANO et al. 1998), psoríase (ELLIS et al. 1986, SUGANO et al. 1998), alopecia areata (PARODI & REBORA 1987), micose fungóide (JENSEN et al. 1987), esquistossomose (BUEDING et al. 1981), malária (THOMMEN 1981), esclerose múltipla (MERTIN et al. 1980, JAMES et al. 1998), colite ulcerativa (GUPTA et al. 1984) sarcoidose pulmonar (REBUCK et al.

1984), asma (SUGANO et al. 1998), pioderma gangrenoso (CARP et al. 1997), dentre outras.

2.2.2 MECANISMO DE AÇÃO DA CSA:

A csa é um agente imunossupressor com alta capacidade seletiva reversível (KAHAN & GREVEL 1988, VOLPE et al. 1997) para inibir a ativação de linfócitos, especialmente os linfócitos T “helper” e alguns linfócitos B (BOREL et al. 1977, VOLPE et al. 1997). As células T citotóxicas (CD8+) parecem ser mais resistentes à csa, quando comparadas aos linfócitos T “helper” (CD4+), talvez em decorrência da interação da molécula de csa com a estrutura das células (HESS & COLOMBANI 1987). A csa não deprime a hematopoiese e não age sobre a função das células fagocitárias (VOLPE et al. 1997). Esta droga pode atuar em vários estágios da resposta imunológica a um antígeno, inibindo seletivamente funções específicas dos linfócitos, restringindo a expansão clonal, a ativação funcional de linhagens celulares (LEONI et al. 1978) ou interferindo nos estágios iniciais do ciclo celular (BURCKHARDT & GUGGENHEIM 1979, HESS et al. 1988). A atividade imunossupressora seletiva da csa parece ocorrer associada a três fatores principais: inibição da ativação dos macrófagos, interferindo na síntese de IL-1, interrupção da produção de IL-1 nas células T “helper” impedindo a síntese de IL-2 e bloqueio da expressão de receptores da IL-2, reduzindo a síntese de células T “helper” e linfócitos “natural killer” (DALEY & WYSOCKI 1984, CARP et al. 1997). No citoplasma celular a csa fixa-se a duas proteínas cálcio-dependentes chamadas ciclofilina (16kDa) e calmodulina (17kDa) (COLOMBANI et al. 1985) e no núcleo interage com cromossomos específicos, interferindo na transcrição do RNAm para IL-2 (STILLER et al. 1983).

2.2.3 ABSORÇÃO E METABOLISMO DA CSA:

A absorção da csa é incompleta em humanos, sendo 2% a 89% da droga administrada parcialmente absorvida no trato gastrintestinal (GUERCKI et al. 1985, KAHAN & GREVEL 1988). A biodisponibilidade varia entre 20% e 50% e as concentrações máximas ocorrem entre 3 e 4 horas, com meia vida de cerca de 6 horas (BEVERIDGE et al. 1981). No sangue, aproximadamente 50% da droga é encontrada nos eritrócitos, 40% no plasma e 10% nos leucócitos. Aproximadamente 95% da droga está ligada a lipoproteínas plasmáticas (BUONPANE 1990). A concentração sérica máxima em ratos é de 3µg/ml após 6 a 8 horas (RYFFEL 1982). O metabolismo é semelhante em cães, coelhos, ratos e humanos e a oxidação ocorre no fígado, mediada pelo citocromo P₄₅₀ (MAURER et al. 1985, KAHAN & GREVEL 1988). A csa é degradada em 14 metabólitos diferentes e não há uma via metabólica única (SEYMOUR & JACOBS 1992). A excreção ocorre principalmente pela bile sendo somente 10% excretada pela urina (KAHAN 1989, BRYNSKOV et al. 1992).

2.2.4 VIAS DE ADMINISTRAÇÃO E POSOLOGIA DA CSA:

Csa é comumente administrada por via oral, mas também pode ser utilizada por via intramuscular ou endovenosa. Em ratos, a aplicação pela via subcutânea é aparentemente vantajosa por não requerer anestesia, ser melhor tolerada pelo animal e permitir que a droga atinja níveis plasmáticos adequados e uniformes (WASSEF et al. 1985). Em transplantes renais a dose inicial recomendada está em torno de 15 mg/kg de peso corporal/dia, diminuindo gradualmente durante o primeiro mês e mantendo-se de 5 a 10 mg/kg de peso

corporal/dia no restante do tratamento (WASSEF et al. 1985). Em transplantes compostos as doses podem ser reduzidas para cerca de 8 mg/kg de peso corporal/dia sem perda do enxerto (HEWITT et al. 1985). O nível adequado para imunossupressão com mínimos efeitos colaterais em ratos é obtido com cerca de 10 mg/kg de peso corporal/dia, administrados por via subcutânea, o pico do nível sorológico ocorre em cerca de 5 dias e o valor adequado é obtido por volta do 7º dia, permanecendo estável até cerca de 21 dias, quando sofre nova elevação (STILLER et al. 1983).

2.2.5 EFEITOS COLATERAIS DA CSA:

Estão bem estabelecidos alguns dos efeitos colaterais da csa, sendo o rim e o fígado os órgãos mais afetados (SEYMOUR & JACOBS 1992, CARP et al. 1997, DOI et al. 1998). Segundo KAHAN (1989) e MAZZALI (1999), o efeito nefrotóxico da csa é decorrente de uma vasoconstrição da arteríola aferente, com redução da taxa de filtração glomerular, redução do fluxo sanguíneo renal e aumento da resistência vascular renal, efeitos estes reversíveis após a redução da dose administrada. Outros efeitos colaterais incluem anemia aplástica, hipercalcemia, linfomas malignos, cirrose hepática, síndrome da angústia respiratória do adulto, diabetes mellitus, hiperplasia gengival e hipertensão arterial. (DALEY & WYSOCKI 1984, HARDMAN et al. 1996, FU et al. 1999, SPRATT et al. 1999, NIEH et al. 1999). Maior susceptibilidade a infecções oportunistas por citomegalovírus, *Pneumocystis carinii*, *Candida sp* e infecções no trato urinário está relacionada ao uso prolongado e à conseqüente depressão das defesas celulares (MIN & MONACO 1991, ZANKER et al. 1998). Estes efeitos estão diretamente relacionados à

dose de csa utilizada e, em alguns casos, são revertidos pela diminuição ou interrupção do uso do medicamento (MORRIS 1981, MIN & MONACO 1991, DOI et al. 1998).

2.2.6 EFEITO DA CSA SOBRE O TECIDO CUTÂNEO:

Os efeitos da csa sobre o processo de reparo têm recebido atenção limitada e a influência da csa sobre a reação inflamatória ainda é controversa (FU et al. 1997). Alguns autores apontaram inibição ou retardo deste processo (FISCHEL et al. 1983, NEMLANDER et al. 1983) mas outros observaram maior desenvolvimento de tecido de granulação com resultante aceleração do processo de cicatrização (SPOLIDORIO et al. 1996).

FLETCHER et al. (1993) realizaram estudo para determinar o ritmo de cicatrização de ulcerações nos membros inferiores em pacientes imunossuprimidos. Utilizaram dois grupos de pacientes diabéticos insulino-dependentes: um grupo controle e outro constituído por 16 transplantados renais. Os transplantados foram submetidos a terapia imunossupressora contendo csa, azatioprina e prednisona. Os pacientes diabéticos imunossuprimidos apresentaram maior taxa de amputação, aumento no tempo de cicatrização e tiveram maior necessidade de procedimentos cirúrgicos. Avaliando também os efeitos da csa na cicatrização, CARP et al. (1997) relatam caso clínico de paciente com pioderma gangrenoso, doença de Cröhn e múltiplas úlceras nos membros inferiores. A terapêutica inicial para o tratamento das úlceras não obteve sucesso e a opção foi a administração endovenosa de csa por 10 dias (4mg/kg/dia). Os autores relataram

diminuição do eritema ao redor das úlceras após 5 dias e presença de tecido de granulação com posterior diminuição da extensão, profundidade e inflamação destas lesões.

2.2.7 EFEITO DA CSA SOBRE O TECIDO ÓSSEO:

O efeito da csa sobre o tecido ósseo ainda permanece controverso, havendo relatos de ação positiva da csa sobre a produção e manutenção óssea (del POZO & ZAPF 1994, LEE et al. 1995, DOI et al. 1998) enquanto outros (SCHLOSBERG et al. 1989, FU et al. 1997, FU et al. 1999) relatam diminuição da neoformação óssea e aumento da osteoclasia em animais imunossuprimidos com csa.

LEE et al. (1995), realizaram estudo para determinar o efeito da csa em halotransplantes de tecido ósseo vascularizado em ratos. O transplante foi realizado na porção distal do fêmur sob dosagem de 10mg/kg/dia de csa. Foram feitas análises radiográficas, histológicas e imunológicas e os autores concluíram que a csa foi eficaz contra a rejeição dos transplantes. O uso intermitente ou a interrupção na administração da csa levaram ao insucesso do transplante, concordando com os achados anteriores de AEBI et al. (1986) segundo os quais a csa previne a rejeição a curto prazo e é necessária a longo prazo para se obter completa anastomose microvascular primária. Recentemente DOI et al. (1998), em estudo realizado em cães, comprovaram a eficácia da terapêutica de csa a curto prazo para prevenir a rejeição de transplante osteocondral.

Administração oral de 7mg/kg/dia de csa causou diminuição da reabsorção óssea e aumento da atividade e do número de osteoblastos em tíbia de ratos, enquanto concentrações maiores foram associadas a predomínio da reabsorção óssea, especialmente em animais jovens (del POZO et al. 1995). Estudo semelhante demonstrou diminuição do

trabeculado ósseo em tíbias de ratos tratados com 5mg/kg/dia de csa (PEREIRA et al. 1996) e aumento da remodelação óssea induzida pela csa (KAHAN 1989).

Diminuição significativa da densidade mineral óssea na coluna lombar e quadril foi relatada em pacientes transplantados de pulmão (ARINGER et al. 1998) e csa pareceu induzir alta taxa de perda óssea também em outros grupos de pacientes (ARIS et al. 1996, FERRARI et al. 1996, PARRY et al. 1998, KANG et al. 2000). Não se sabe ao certo qual o papel exato da csa nesta perda óssea uma vez que usualmente a droga é empregada em associação a outros fármacos como a prednisona, por exemplo.

2.2.8 EFEITO DA CSA SOBRE OS TECIDOS BUCAIS:

McGAW et al. (1988) sugerem que o aumento gengival causado pela csa pôde ser resultado do aumento da proliferação celular, aumento da atividade de síntese de matriz extracelular, decréscimo da degradação dessa matriz ou a uma combinação de todos esse fatores. Alguns autores relacionam a patogênese deste aumento gengival com aumento no número de fibroblastos (WYSOCKI et al. 1983), enquanto outros demonstraram aumento no volume de colágeno extracelular, devido a um aumento na síntese, a uma diminuição de sua degradação ou a ambos (TYLDESLEY & ROTTER 1984, McGAW et al. 1988, SEYMOUR & JACOBS 1992). Tem sido relatado um mecanismo de supressão através do qual a csa diminui a atividade de colagenase em culturas de fibroblastos e em células imunológicas (FU et al. 1997). Também foi reportada a presença de uma população heterogênea de fibroblastos, o que justificaria a susceptibilidade individual (McGAW & PORTER 1988). AYANOGLU & LESTY (1999) avaliaram histomorfologicamente as alterações epiteliais em ratos tratados com 30mg/kg/dia de csa. Os autores encontraram

aumento na espessura da camada de queratina e aumento do número de camadas do epitélio gengival. Concluíram que o aumento gengival induzido pela csa é resultado de uma associação de vasodilatação e aumento no volume de matriz extracelular e que o aumento da espessura do epitélio é decorrente de hipertrofia das células da camada queratinizada e de hiperplasia do epitélio juncional.

Segundo DALEY e WYSOCKI (1984), a imunossupressão causada pela csa pode causar uma redução na citotoxicidade dos fibroblastos e dos linfócitos “natural killer”, bem como redução na atividade dos osteoclastos, observando-se redução na reabsorção óssea alveolar e no infiltrado inflamatório presentes na gengiva e no periodonto em casos de doenças periodontais avançadas. FU et al. (1999) observaram redução na formação óssea e aumento da osteoclasia no ligamento periodontal da mandíbula de ratos tratados com 30mg/kg/dia de csa. Relataram também que a csa inibiu a proliferação de osteoblastos, diminuiu o número de células e de mitoses e reduziu os níveis de fosfatase alcalina. Segundo os autores, os efeitos controversos da csa no metabolismo ósseo podem ser explicados, em parte, pela dosagem administrada. RANDZIO et al. (1991), relataram crescimento significativo no corpo, mas não nos primeiros molares e ramo mandibular após halotransplante de hemimandíbula em coelhos imunossuprimidos com csa. Estudos “in vitro” sugerem efeito inibitório da csa sobre a reabsorção óssea estimulada pelo paratormônio, interleucina 1, prostaglandina E₂ e vitamina D (FU et al. 1999).

Estudo do efeito da csa sobre o processo de reparo ósseo alveolar em ratos foi realizado por FERNANDES et al. (1997). Após exodontia dos incisivos superiores direitos a análise histológica dos alvéolos mostrou que os animais, tratados com 5mg/kg/dia de csa, apresentaram atraso na cronologia do processo de reparo, demonstrando efeito negativo da

mesma. Também tem sido relatado aumento na taxa de remodelação óssea em estudos com animais (EPSTEIN et al. 1990). Pacientes tratados com csa em associação com transplantes renais ou enxertos ósseos vascularizados exibiram aumento na atividade osteoblástica e diminuição dos parâmetros de reabsorção (WILMINK et al. 1989, LI et al. 1991). Hipoplasia mandibular com diminuição da altura facial posterior, ângulo mandibular acentuado e diminuição da espessura da cartilagem condilar têm sido relatadas em pacientes jovens que fazem uso da csa (NIEH et al. 1999).

Segundo AYANOGLU & LESTY (1997) a csa induziu a formação e deposição de cimento novo em alvéolos de molares de ratos tratados com 30mg/kg/dia da droga administrada oralmente. Este novo cimento é responsável por recobrir extensas áreas de fibras extrínsecas acelulares de cimento em todas as superfícies das raízes, sendo mais abundante no terço cervical. As características deste cimento novo são: largo volume, aspecto irregular, linhas incrementais raras e presença de corpos globulares.

2.2.9 REPARO ALVEOLAR APÓS EXODONTIA:

O reparo alveolar após exodontia tem início com o preenchimento do alvéolo pelo coágulo e obliteração das extremidades dos vasos sanguíneos rompidos nas primeiras horas que sucedem a cirurgia. Restos celulares e alimentares estão aderidos à superfície do coágulo. Durante as primeiras 24 horas ocorre migração de leucócitos vindos dos vasos do ligamento periodontal remanescente que se organizam ao redor do coágulo constituído principalmente por rede de fibrina, e após 24 horas inicia-se proliferação de vasos oriundos do ligamento periodontal. Após cerca de 3 dias inicia-se a proliferação de fibroblastos, que infiltram o coágulo formando tecido conjuntivo jovem e sem orientação definida. Ao final

da 1ª semana, o coágulo já sofreu maturação e a rede de fibrina foi substituída pelo tecido de granulação com evidente proliferação de fibroblastos e vasos sanguíneos neoformados. Por volta do 5º dia inicia-se a formação de osso no espaço alveolar propriamente dito e o ligamento periodontal perde a individualidade. Osteoblastos revestem trabéculas de osso jovem, imaturo e fibrilar, que se liga ao osso preexistente e prolifera a partir das paredes alveolares e do fundo do alvéolo. A presença de osteoclastos derivados de células pluripotentes do ligamento periodontal é evidente na crista alveolar. Ao final desta semana o epitélio recobre quase toda a ferida. Na 2ª semana, os fibroblastos presentes no tecido de granulação produzem fibras colágenas que passam a preencher o alvéolo e observam-se sinais evidentes de ossificação no fundo do mesmo. Por volta do 10º dia, estas fibras passam a assumir orientação mais definida, com o longo eixo vertical em profundidade e horizontal ao nível da crista alveolar. Por volta do 13º dia, o alvéolo está praticamente preenchido por osso jovem e o epitélio está amadurecido. Também podem estar presentes fragmentos de osso necróticos resultados de fraturas durante a extração. Por volta do 20º dia, a camada cortical do osso alveolar sofre remodelação e as trabéculas ósseas estão em fase de amadurecimento. Passados 30 dias, o alvéolo está totalmente reparado mas continua a ocorrer o processo de calcificação e reabsorção remodeladora do osso presente. Os remanescentes do ligamento periodontal são de importantes para o início da proliferação do tecido de granulação e para o reparo alveolar (SMITH 1974, GUGLIELMOTTI & CABRINI 1985, HSIEH et al. 1994, DEVLIN et al. 1996).

AMLER et al. (1960), avaliaram o reparo após extração não complicada em humanos entre 2 e 50 dias e relataram a seguinte seqüência: formação do coágulo, substituição do mesmo por tecido de granulação por volta do 7º dia, que é substituído por

tecido conjuntivo por volta do 12º dia. Segue-se o aparecimento do tecido osteóide na base do alvéolo por volta do 17º dia e preenchimento de dois terços do alvéolo por trabéculas ósseas por volta do 38º dia. A formação óssea iniciou-se no osso perialveolar e não no interior do alvéolo (BOYNE 1966) sendo que neste, a formação óssea iniciou-se junto aos restos do ligamento periodontal entre 9 e 10 dias após a remoção do dente.

GREEN et al. (1969) realizaram estudo do processo de reparo alveolar após extração dos terceiros molares superiores esquerdos em ratos utilizando o radioisótopo estrôncio-85 em períodos de 0 a 42 dias e concluíram que o período de maior formação óssea ocorreu entre o 10º e o 14º dia após extração. As primeiras evidências histológicas de neoformação óssea ocorreram na área óssea perialveolar entre o 3º e o 7º dia após a extração. No alvéolo, o período de maior atividade radioativa foi entre o 10º e o 14º dia. A incorporação de radioisótopos continuou até o 35º e 42º dias após a extração, indicando que a maturação óssea continua mesmo após ter ocorrido a reparação histológica, que se completa por volta do 21º dia.

SMITH (1974) avaliou comparativamente o reparo alveolar após extração dos primeiros molares inferiores de ratos por meio de radiografias e cortes histológicos. Assim como BODNER et al. (1993a, b), dividiu o processo de reparo em 3 fases: *recente*: quando há organização completa do coágulo e epitelização sobre quase todo o alvéolo e que se estende do 1º ao 5º dia após a exodontia, *formação óssea* (5º ao 20º dia) e *remodelação*: quando há maturação do osso jovem e crista alveolar e que se estende do 20º ao 50º dia após a cirurgia. A seqüência de cicatrização em ratos é similar a de outros animais e a do homem sendo porém mais rápida (PIETROKOVSKI & MASSLER 1967, GREEN et al. 1969, BODNER et al. 1993b). Larga neoformação óssea entre o 7º e 14º dia ocorre fora do

alvéolo, na região subperiostal (GREEN et al. 1969). Recentemente, DEVLIN (2000) identificou a presença de numerosos osteoclastos em alvéolos de molares de ratos. Segundo o autor, estas células circundaram as paredes alveolares entre os dias 2 e 7 após as cirurgias e estariam relacionadas aos eventos de remodelação óssea.

As características radiográficas evoluem de maneira comparável ao observado nos cortes histológicos e a calcificação inicia-se por volta do 5º dia, tornando-se inequívoca no 8º dia. O início da formação de osso jovem coincide com a rápida perda de definição radiográfica da lâmina dura (SMITH 1974). Logo após a exodontia, a lâmina dura aparece como uma linha radiopaca delimitando o alvéolo radiolúcido. GUGLIELMOTTI & CABRINI (1985) descreveram o 7º dia como estágio onde há perda de definição da lâmina dura e presença de tecido radiopaco na porção apical do alvéolo. SMITH (1974) descreveu no 10º dia a semelhança entre a radiopacidade da lâmina dura e do osso alveolar adjacente, além de aumento generalizado de tecido radiopaco no alvéolo. Por volta do 13º dia não é mais possível a distinção entre lâmina dura e osso adjacente e no 20º dia a radiopacidade de ambos é similar. GUGLIELMOTTI & CABRINI (1985) acrescentaram ainda as características radiográficas após 60 dias da extração, quando o alvéolo inicialmente radiolúcido foi preenchido por tecido radiopaco semelhante ao osso alveolar adjacente, não havendo mais distinção das paredes do alvéolo.

2.2.10 DENSITOMETRIA RADIOGRÁFICA:

Um dos primeiros autores a relatar a utilização da densitometria radiográfica para avaliar a reparação alveolar foi SMITH, em 1974. Radiografias dos alvéolos dos primeiros molares inferiores foram avaliadas visualmente para obtenção da seqüência das

características radiográficas e, posteriormente, foram examinadas com auxílio de degrau metálico. Tendência similar aos resultados obtidos através da inspeção visual pôde ser observada.

Posteriormente, VICTOR et al. (1977) afirmaram que as técnicas radiográficas convencionais não permitiam estabelecer o 21^o dia após exodontia em ratos, como o término do processo de reparo, como demonstrado histologicamente, sugerindo que as divergências entre as análises histológicas e radiográficas poderiam ser minimizadas através do uso de métodos densitométricos. Baseados nesta teoria, DUINKERKE et al. (1978) avaliaram a eficácia da utilização do método de densitometria radiográfica em mandíbula humana. Segundo os autores, fatores como tempo de exposição, processamento e revelação dos filmes bem como inspeção visual contribuem para a variabilidade dos resultados de análises do material. A utilização de degrau metálico eliminou os efeitos do tempo de exposição e da revelação das radiografias.

CARVALHO et al. (1980) testaram a eficácia da densitometria radiográfica para o estudo do processo de reparo alveolar em ratos, após exodontia do incisivo superior direito. Os autores puderam comprovar a sensibilidade do método densitométrico, sugerindo a extensão de sua aplicação para avaliações clínicas de eventos biológicos envolvendo o tecido ósseo.

ORTMAN et al. (1985) estudaram a acurácia do método densitométrico para quantificação de perdas ósseas em cristas alveolares após confecção de defeitos ósseos, simulando a perda óssea periodontal. Também fizeram uso do degrau de alumínio e concluíram que este método foi eficaz e sensível para o estudo da perda óssea em decorrência da doença periodontal. Para PAYOT et al. (1987) esta técnica não somente

permitiu a observação das imagens radiográficas, como também tornou possível o reconhecimento e a quantificação de variações que não seriam identificadas apenas pela inspeção visual das imagens.

BODNER et al. (1993a, b), avaliaram a reparação após extração do primeiro molar inferior esquerdo em ratos por meio de densitometria radiográfica das regiões apical e da crista alveolar. A formação óssea foi indicada por aumento na densidade radiográfica no 7º dia. A densidade óssea máxima na região apical foi alcançada no 28º dia. O aumento da densidade ocorreu mais lentamente na região da crista que na região apical do alvéolo. Os autores afirmaram que a evolução radiográfica reflete as características histológicas da cicatrização alveolar.

2.2.11 HISTOMORFOMETRIA:

A mensuração linear de estruturas microscópicas é relativamente simples, podendo ser feita com auxílio de réguas milimetradas diretamente no microscópio óptico ou lupa estereoscópica. Também pode ser feita sobre imagens microscópicas projetadas com o auxílio de microprojektor, desde que o aumento seja conhecido (MANDARIN DE LACERDA 1994), ou através de programas de computador específicos (FISCHER & KLING 1994).

BERGLUNCH et al. (1991), utilizou histomorfometria através de microscópio óptico convencional para mensurar linearmente estruturas histológicas do periodonto de cães jovens e adultos. Para avaliar as dimensões do epitélio bucal da gengiva, fixou as regiões coronária, média e apical e, para avaliar as dimensões do tecido conjuntivo, mediu a distância entre a junção cimento-esmalte e o epitélio oral. Esta metodologia foi também

utilizada por CARVALHO et al. (1997) para quantificar tecido conjuntivo e trabeculado ósseo em alvéolo de ratos após exodontia dos incisivos superiores.

FISCHER & KLING (1994) avaliaram através da morfometria feita com programa para computador, as dimensões lineares do epitélio bucal e juncional em lâminas coradas em HE no aumento gengival induzido pela csa. GUGLIELMOTTI & CABRINI (1985) utilizaram a histometria computadorizada para avaliar a porcentagem de osso neoformado, áreas de reabsorção óssea e medir a altura das cristas lingual e vestibular em alvéolos de ratos. BODNER et al. (1991) utilizaram metodologia similar para avaliar coágulo sangüíneo, necrose, inflamação, proliferação epitelial, tecido de granulação e formação óssea após exodontia em ratos dessalivados.

2.3 PROPOSIÇÃO

Baseado nestes dados, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do uso da csa em processo de reparo alveolar após exodontia dos primeiros molares inferiores de rato por meio de:

- 1- Determinação das características morfológicas do processo de reparo alveolar após extração dentária em ratos normais e tratados com csa.
- 2- Verificação do eventual efeito da dose de csa utilizada sobre o processo de reparo alveolar após extração dental em ratos.
- 3- Comparação densitométrica radiográfica do reparo alveolar após extração dentária em ratos normais e tratados com csa.
- 4- Comparação da área e densidade volumétrica ocupadas por fibroblastos, fibras colágenas e tecido ósseo durante o processo de reparo alveolar em ratos normais e tratados com csa.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1 DELINEAMENTO DO EXPERIMENTO E MANUSEIO DOS ANIMAIS:

Foram utilizados 150 ratos (*Ratus norvegicus albinus*, Wistar) machos, com 2 a 3 meses de idade e cerca de 200 a 300 gramas de peso. Foram constituídos 3 grupos de 50 ratos cada, tendo sido o grupo Csa1 medicado com 10mg/kg/dia e o grupo Csa2 com 20mg/kg/dia de ciclosporina (Sandimun®). Ampolas para infusão endovenosa em concentração de 50mg/ml foram diluídas com solução de NaCl a 0,9% estéril para obtenção de concentração de 10 mg/ml. O grupo controle passou pelas mesmas etapas dos grupos Csa1 e Csa2 sendo o medicamento substituído por volume similar de solução salina a 0,9% estéril. Todos os animais receberam administrações subcutâneas das soluções correspondentes. Todos os eventos relevantes foram anotados em ficha individual e os animais foram pesados a cada sete dias. Dez ratos de cada grupo foram sacrificados, após inalação excessiva de éter etílico, aos 3, 7, 14, 21 e 28 dias após a extração dental. A distribuição dos grupos e dos tempos de experimento pode ser vista na tabela 1 abaixo.

Tabela 1 - Distribuição dos grupos de ratos e os respectivos tratamentos recebidos.

Grupos e períodos após exodontia	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	Total
Cont: NaCl 0,9% - sc**	10	10	10	10	10	50
Csa1: 10mg/kg/dia de Csa – sc*	10	10	10	10	10	50
Csa2: 20mg/kg/dia de Csa – sc*	10	10	10	10	10	50
Total	30	30	30	30	30	150

*sc: Via subcutânea; ** Via subcutânea e volume similar ao utilizado na dose de 10/mg/kg de csa.

Após período de condicionamento medicamentoso de 7 dias, cada rato recebeu medicação pré-anestésica (cloridrato de xylazina 2%, Virbac®, 5mg/kg, intramuscular).

Após verificados os sinais de sedação, o animal foi anestesiado com cloridrato de ketamina 10% (Agener[®], 10mg/kg, intramuscular) e posicionado em aparato similar ao de Doku (DOKU et al. 1966). Tão logo os sinais de anestesia foram observados, gaze umedecida foi colocada sobre os olhos dos animais afim de evitar o ressecamento e opacificação das córneas. A gengiva ao redor do primeiro molar inferior direito foi descolada com holleback 3ss e o dente seccionado no sentido vestibulolingual com auxílio de broca carbide esférica $\frac{1}{4}$ em turbina de alta rotação. Irrigação constante com soro fisiológico estéril foi mantida com o objetivo de manter a loja cirúrgica limpa e evitar superaquecimento dos tecidos. A avulsão das raízes foi realizada com o auxílio de micro-cinzel cirúrgico e pinça Kelly curva adaptada como fórceps, seguida por sutura com fio de nylon agulhado 5.0. Procedimento similar foi realizado no lado esquerdo da mandíbula. Durante o procedimento cirúrgico foram tomados cuidados para remoção do excesso de sangue e debris da cavidade bucal do rato. Os animais foram mantidos em observação em gaiolas individuais após a cirurgia e receberam água *ad libitum* até a recuperação total da anestesia, cerca de 20 a 24 horas. No dia da cirurgia, os animais receberam a injeção da solução medicamentosa correspondente enquanto estavam sob efeito anestésico. Os animais receberam ração moída durante a primeira semana do pós-cirúrgico para reduzir o trauma pós-operatório. O uso de csa continuou até o final do experimento nas dosagens anteriormente descritas. Todas as medidas possíveis foram tomadas para evitar sofrimento desnecessário dos animais, bem como para reduzir as perdas durante o trans e pós-operatório e, conseqüentemente, o número de animais utilizados durante o experimento

(Figuras 1 e 2). Sempre que possível, foram seguidas as normas éticas internacionais de manejo de animais de laboratório (HAP 1999).

2.4.2 PROCESSAMENTO DO MATERIAL:

Após o sacrifício, as hemi-mandíbulas foram removidas, separadas, dissecadas, fixadas em formol tamponado a 10% por 24 horas em embalagens individuais identificadas. Após terem sido radiografadas e avaliadas em lupa estereoscópica, as hemi-mandíbulas esquerdas foram descalcificadas em solução de tricloacético 60% por cerca de 5 dias e as hemi-mandíbulas direitas foram descalcificadas com EDTA, por cerca de 60 dias. Realizou-se a secção prévia da hemi-mandíbula com lâmina descartável de micrótomo, a 2,0mm da face mesial do 2^o molar e a inclusão foi realizada em posição para cortes vestibulo-linguais (transversais). Foram realizados cortes seriados de 6 µm até o término do alvéolo da raiz mesial do primeiro molar e os cortes corados com hematoxilina e eosina (HE) para posterior análise.

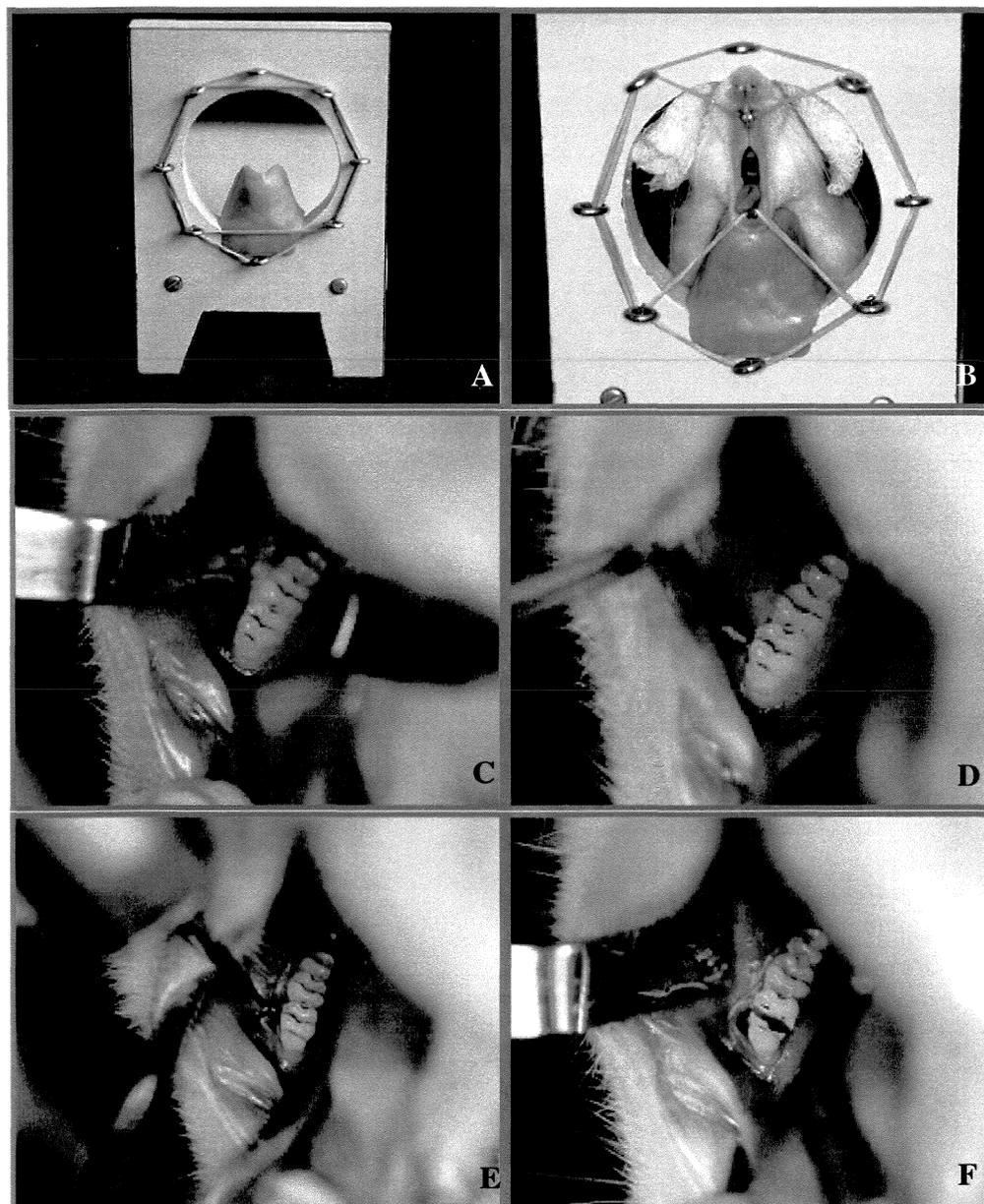


Figura 1– Sequência cirúrgica para exodontia dos molares inferiores: (A) mesa cirúrgica utilizada para cirurgias; (B) animal posicionado para exodontias; (C) vista dos molares inferiores, lado direito; (D) sindesmotomia do primeiro molar inferior; (E) posicionamento da turbina de alta rotação; (F) primeiro molar após a odontosseção com broca esférica ¼.

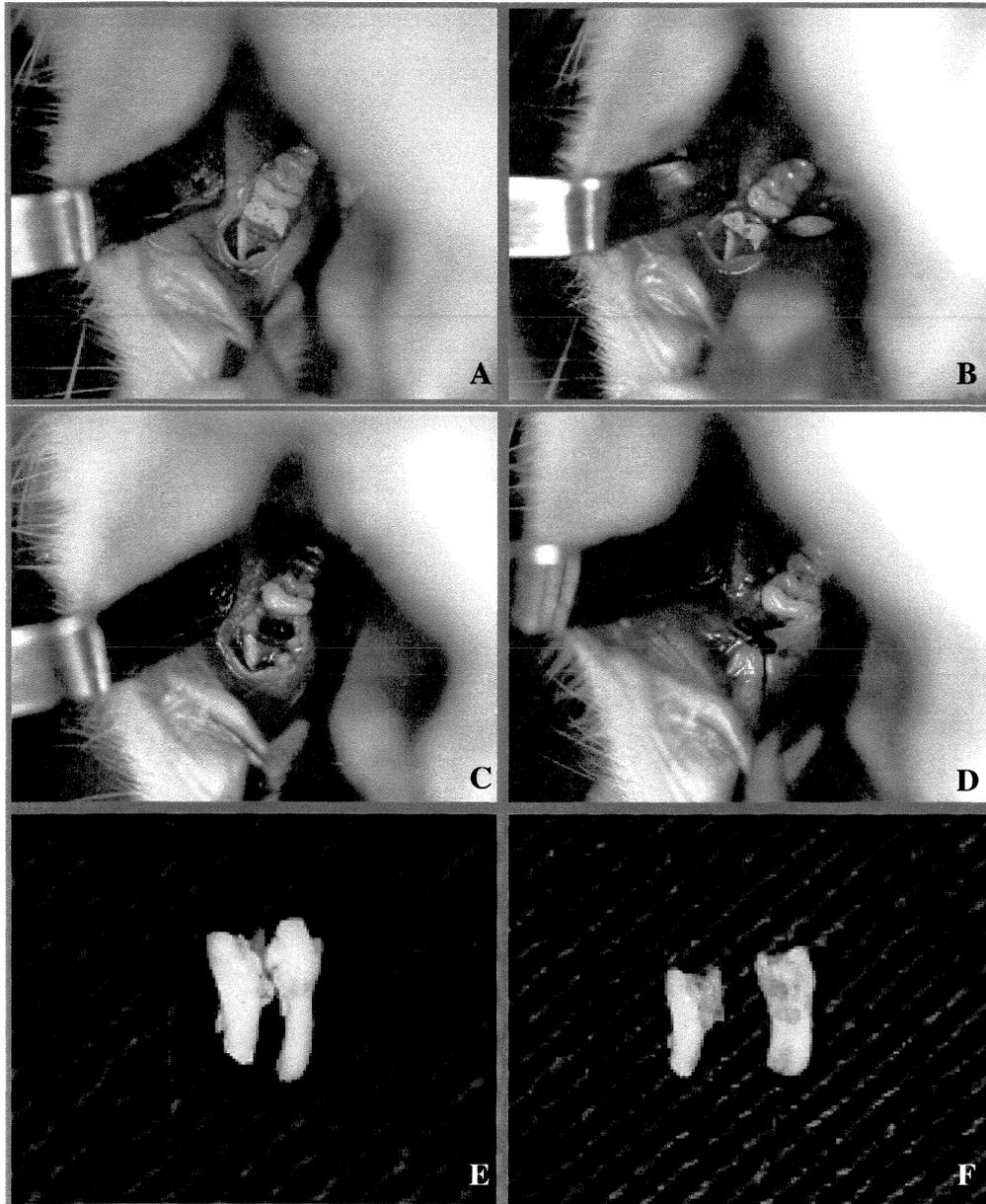


Figura 2 – Etapas finais da seqüência cirúrgica para exodontia dos molares inferiores. (A) Aspecto do alvéolo mesial após exodontia da porção radicular mesial; (B) avulsão da porção distal do molar; (C) alvéolo do primeiro molar após exodontia; (D) alvéolo após sutura; (E) Primeiro molar após remoção cirúrgica; (F) raízes dentárias separadas pela odontosseção.

2.4.3 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DAS HEMI-MANDÍBULAS:

Após dissecação e fixação em formol, as hemi-mandíbulas removidas foram avaliadas em lupa estereoscópica (SV 11[®], Zeiss) sob iluminação direta quanto às seguintes características: cobertura epitelial, presença de ulcerações, de corpos estranhos, crescimento gengival e restos radiculares.

Para quantificar a cobertura epitelial através da lupa, foi utilizada escala visual de 0 a 3, sendo:

- 0 - ausência total de epitélio recobrindo a loja cirúrgica.
- 1 - epitélio recobrindo apenas as margens laterais da loja cirúrgica.
- 2 - epitélio recobrindo parte da loja cirúrgica.
- 3 - epitélio recobrindo totalmente a loja cirúrgica.

As demais características foram avaliadas como se segue: presença ou ausência de hiperqueratose (áreas epiteliais esbranquiçadas e elevadas sobre o alvéolo), crescimento gengival (aumento de volume tecidual no rebordo alveolar), ulcerações (destruição do epitélio adjacente ao alvéolo) e restos radiculares (presença de fragmentos dentários visíveis na região cervical do alvéolo) sendo os resultados anotados em fichas individuais para cada hemi-mandíbula.

2.4.4 DENSITOMETRIA RADIOGRÁFICA:

Densitometria da área do alvéolo dental foi determinada a partir de radiografias realizadas, após a fixação com formol e remoção do excesso de tecido mole das peças, com filme periapical (Ektaspeed plus[®], Kodak) identificados. Utilizou-se aparelho radiográfico

periapical (RX 6010[®], Gnatus) em padrão de 65KVA, tempo de exposição de 0,5 segundos e 21cm de distância em posicionador especialmente construído para esta finalidade. As hemi-mandíbulas foram colocadas com a face vestibular sobre filme periapical, como em posição para radiografia lateral de mandíbula. Foi também utilizado penetrômetro de alumínio com degraus de 1mm de espessura, posicionado no suporte e cobrindo a borda direita da radiografia. Um degrau em posição central foi marcado e utilizado como medida padrão durante as leituras na densitometria. Dois lotes de 150 radiografias, identificadas individualmente foram revelados em processadora automática (Level 360[®], J Morita) utilizando soluções fixadora e reveladora recém preparadas e testadas. Cada radiografia foi identificada de acordo com a numeração do animal e mantida em envelopes individuais. As radiografias foram digitalizadas em scanner (GS 700[®], Bio-Rad) e analisadas pelo respectivo programa de computador (Molecular Analyst 1.5[®], Bio-Rad). Análise densitométrica da região alveolar dos primeiros molares inferiores foi realizada em grupos de 20 radiografias. Todas as etapas de obtenção e equalização da imagem foram padronizadas após testes e o protocolo seguido para todas as leituras. O tamanho da área analisada também foi padronizado de modo que pudesse ser facilmente reproduzido. A área que melhor correspondeu ao alvéolo foi um quadrado de 8,157 mm², que era posicionado sobre a imagem tomando como referência a face mesial do segundo molar e a lâmina dura superior do alvéolo do incisivo inferior, abrangendo todo o alvéolo do primeiro molar inferior do rato. O mesmo quadrado era replicado sobre o degrau marcado, oferecendo uma medida padrão para cada radiografia. A divisão da leitura da área operada pela leitura de área similar do padrão permitiu obter uma razão equilibrada, eliminando ou reduzindo ao

máximo as variações radiográficas causadas por fatores independentes à reparação óssea. Os dados obtidos nas leituras foram exportados para o programa EPI-INFO[®] para análise estatística. Após período aproximado de 15 dias, todas as hemi-mandíbulas foram novamente radiografadas e analisadas com a mesma metodologia empregada inicialmente para verificar a variabilidade de operador e técnica. Logo após esta análise, cerca de 25 hemi-mandíbulas foram selecionadas e radiografadas novamente por apresentarem características particulares, tais como fratura do côndilo e/ou ramo da mandíbula ocorridas durante a dissecação para remoção das hemi-mandíbulas e presença de raiz residual presentes após os procedimentos cirúrgicos (ANEXO, tabela 2). Estas radiografias foram comparadas com as iniciais e com o livro de registro de cirurgias para confirmar a identidade das hemi-mandíbulas e descartar possíveis trocas de material.

2.4.5 DETERMINAÇÃO DAS MEDIDAS LINEARES, SUPERFÍCIES E DEMAIS REPAROS:

Cobertura epitelial foi quantificada sob microscópio ótico em lâminas coradas pelo HE utilizando-se escala visual de 0 a 2, sendo:

- 0 - ausência total de epitélio recobrindo a loja cirúrgica.
- 1 - epitélio recobrindo parcialmente a loja cirúrgica.
- 2 - epitélio recobrindo completamente a loja cirúrgica.

Além da cobertura epitelial, foram avaliadas as áreas ocupadas por colágeno (presença de fibras eosinofílicas na extensão do alvéolo) e por osso neoformado (osso altamente celularizado) e realizada a contagem de fibroblastos (identificados como células

fusiformes ou estreladas, núcleo ovóide ou alongado). Adicionalmente, foram determinadas as presenças de ulceração (presença de tecido necrótico sobre o tecido conjuntivo subjacente ao epitélio), exposição óssea (ausência total de recobrimento tecidual no alvéolo) ou restos radiculares (presença de fragmentos dentários no alvéolo), descritas em sistema de *sim* ou *não* (presença/ausência). Todas as características foram anotadas em fichas individuais para cada hemi-mandíbula.

Para avaliação das medidas lineares foi utilizada ocular milimetrada 12,5x (Ernst Lertz Wetzlar[®], Germany) e objetiva de 10x. A determinação das medidas de superfície foi realizada com auxílio de ocular kpl 10x com retículo de integração II Zeiss de 100 pontos quadriculados e objetiva de imersão (100x), de acordo com a fórmula proposta por MANDARIM DE LACERDA (1994),

$A = (A_p) \times \sum P_t$, onde:

A = Área da estrutura,

A_p = Área do ponto no sistema teste adotado,

P_t = Número de pontos sobre a estrutura a ser medida.

Foram estabelecidos três campos quadrangulares no alvéolo do primeiro molar, com 640 μ mX480 μ m de lado e as mensurações foram realizadas sobre estas áreas, como ilustrado na figura 1. Os resultados foram expressos em μ m².

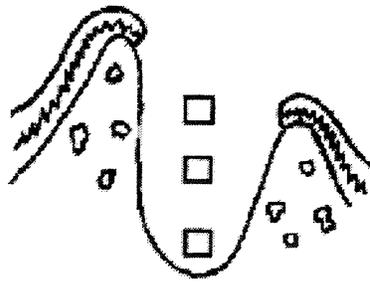


Figura 3 - Esquema do alvéolo dental do primeiro molar de rato, mostrando os campos usados para as medidas de superfície ocupada por colágeno, fibroblastos e osso. Resumidamente: apical, médio e cervical.

2.4.6 HISTOMORFOMETRIA:

A determinação da densidade volumétrica de fibroblastos (identificados como células fusiformes ou estreladas, núcleo ovóide ou alongado) e de fibras colágenas, bem como da área ocupada por osso neoformado e outras estruturas (espaços medulares, vasos sanguíneos, raízes residuais e espaços vazios) foi realizada em cortes de 6 μm de espessura dos alvéolos dentários dos 1^{os} molares inferiores. A quantificação foi realizada com ocular kpl 10x com retículo de integração II Zeiss de 100 pontos quadriculados e objetiva de imersão (100x) e auxílio de programa de análise computadorizada de imagens (KS 400[®] Karl Zeiss, Germany). Foram contados 100 pontos sobre as estruturas histológicas de cada um dos 7 campos do corte central de cada alvéolo, perfazendo 700 pontos por alvéolo (Figura 2).

A determinação da densidade de volume das estruturas em análise foi baseada no princípio fundamental da estereologia estabelecido por DELESSE (1848) e aplicado à

histologia por WEIBEL (1969). O volume relativo em porcentagem foi calculado através da fórmula $P_{pi} = P_i/P$, onde:

P_{pi} = densidade de volume das estruturas da área.

P_i = soma do número de pontos coincidentes sobre cada estrutura.

P = número total de pontos do retículo, multiplicando-se pelo número de campos examinados.

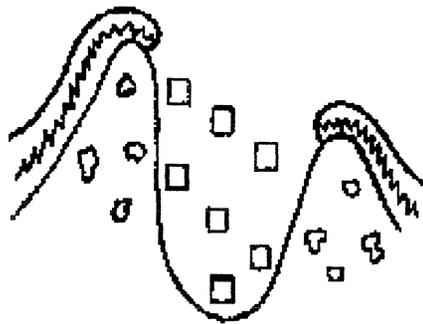


Figura 4 - Esquema do alvéolo dental do primeiro molar de rato, mostrando os campos usados para a estereomorfometria. Resumidamente: apical, lingual-médio, médio, vestibular-médio, lingual-cervical, cervical, vestibular-cervical.

Também foi determinada a extensão da cobertura epitelial sobre o local da extração, em μm . A medida linear recoberta pelo epitélio foi aplicada à distância entre as duas cristas alveolares e o resultado expresso em percentual de cobertura epitelial.

2.4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Os dados foram digitados em planilha eletrônica (EXCEL[®] 9.0/2000, Microsoft) ou em banco de dados (EPI-INFO 6.04b, CDC-OMS). De acordo com o tipo de cada variável,

dos objetivos do estudo de cada uma delas e do estudo de suposições, os resultados foram analisados por meio dos testes de F, t, χ^2 , Wilcoxon, Kruskal-Wallis e Tukey, como calculados pelos programas acima ou pelo SAS[®], versão 6.12.

2.5 RESULTADOS

2.5.1 TÉCNICA CIRÚRGICA E MANEJO DOS ANIMAIS:

Os resultados obtidos indicam que a técnica cirúrgica desenvolvida para a remoção dos dentes é adequada, possibilitando um pós-operatório satisfatório com um pequeno número de fraturas e acidentes cirúrgicos nas 300 exodontias realizadas. Em 58 (19,3%) hemi-mandíbulas ocorreu fratura da porção mesial do primeiro molar. Em 11 casos (3,7%), ocorreram hemorragias durante o ato cirúrgico, em geral quando havia a exodontia acidental de 2^{os} ou 3^{os} molares ou por punção acidental de vasos no ventre lingual e soalho bucal com agulha de sutura, agravadas pela vasodilatação periférica causada pela ketamina. Hemorragias foram controladas por meio de compressão com gaze e os ratos não apresentaram seqüelas.

O pós-operatório dos animais ocorreu de forma adequada e com poucas perdas como pode ser visto na tabela 2. Com exceção das hemi-mandíbulas perdidas nas etapas de processamento histológico, todas as perdas foram repostas.

Tabela 2 - Relação das causas e do número de hemi-mandíbulas perdidas durante todo o experimento (n=300 hemi-mandíbulas).

Causa	Hemi-mandíbulas - n
Anestesia	20
Infecção generalizada	6
Substituição devido a perda do epitélio	22
Substituição devido a fratura do 2 ^o molar	2
Processamento inadequado	12
Ulcerações	4
Total	66

2.5.2 PESO DOS ANIMAIS:

A tabela 3 mostram a evolução dos pesos dos animais e o efeito da medicação sobre o metabolismo geral dos animais. Grupos utilizando doses de 20mg/kg/dia apresentam nitidamente menor ganho de peso e menor recuperação após a cirurgia, período em que há uma perda geral de peso em todos os grupos. Os pesos foram tomados com uma semana de intervalo. Os dados foram tabelados considerando o término de cada subgrupo do experimento. Em geral, todos apresentaram evolução similar com relação à média de peso, exceção feita ao grupo Csa2 (20mg/Kg/dia de ciclosporina) cujo peso final foi similar ao peso inicial. O teste de Kruskal-Wallis (K-W) mostrou diferenças estatisticamente significativas na comparação entre as médias de pesos dos grupos experimentais a partir da imunossupressão ou seja, após a primeira semana (dia -7). Houve ganho de peso com o passar das semanas, com ligeira queda após a cirurgia, mas os grupos Csa1 e Csa2 apresentaram menor ganho de peso que o grupo controle, sendo a recuperação mais lenta no grupo Csa2 que no Csa1. A avaliação comparativa entre os grupos confirmou o intenso efeito da ciclosporina sobre a evolução dos pesos dos animais e a dose-dependência do mesmo, ou seja, maior dose causando efeito mais intenso. Análise detalhada dos pesos para cada etapa do experimento pode ser observada no ANEXO, tabela 1.

Tabela 3 - Evolução da média de peso, em gramas, dos animais a partir da semana de condicionamento (Dia -7) até o sacrifício (Dia 28). A primeira e segunda pesagens incluem todos os 150 ratos e as demais correspondem aos restantes após o sacrifício de cada subgrupo (30 ratos).

Droga	Dia -7 (n=150)	Dia 0 (n=150)	Dia 7 (n=120)	Dia 14 (n=90)	Dia 21 (n=60)	Dia 28 (n=30)
Cont	262,3 ± 65,0	286,9 ± 59,0	308,3 ± 44,7	338,2 ± 34,3	358,4 ± 32,1	366,0 ± 36,9
Csa1	257,1 ± 47,9	260,0 ± 43,1	269,0 ± 42,4	282,9 ± 37,0	308,1 ± 35,7	338,4 ± 31,0
Csa2	252,0 ± 48,8	240,0 ± 40,4	228,2 ± 37,9	218,9 ± 29,9	231,5 ± 30,8	249,4 ± 42,1
K-W (p)	0,632	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9% K-W = Teste de Kruskal-Wallis

2.5.3 DENSITOMETRIA RADIOGRÁFICA:

Os dados obtidos a partir da densitometria radiográfica (tabela 4), correlacionando período e grupo de tratamento, mostram que houve um comportamento irregular das leituras, alternando picos de aumento e diminuição do valor da leitura entre o 3º e o 28º dias. No geral, houve tendência à redução do valor das leituras, confirmando a tendência da reparação óssea. Esta tendência foi um pouco diferente no grupo Csa2, com aumentos sucessivos da razão da densidade radiográfica entre o 7º e o 21º dias, indicando certo retardo na evolução do reparo ósseo. Apesar do padrão não ser o esperado, tendo em vista a irregularidade do comportamento, os valores são efetivos. A releitura e checagem de erros de procedimento em todas as etapas confirmou os resultados, e a avaliação estatística das leituras mostrou que as mesmas foram homogêneas. Como esperado, houve diferença significativa entre as leituras da densidade óptica das radiografias com relação ao tempo de cicatrização. Exemplos das imagens radiográficas podem ser vistas na figura 5.

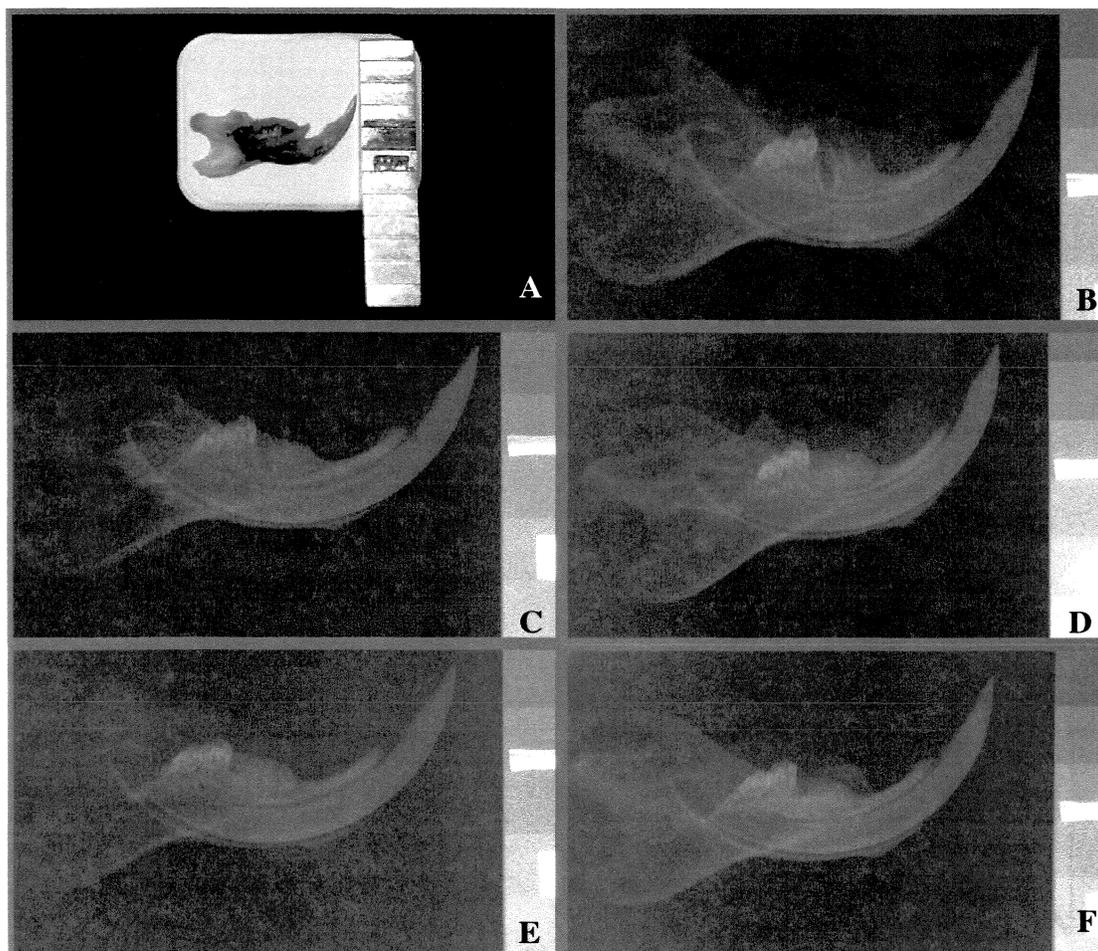


Figura 5 – Hemi-mandíbula posicionada sobre filme periapical para tomada radiográfica (A); Radiografias das hemi-mandíbulas esquerdas dos animais após 3 (B), 7 (C), 14 (D), 21 (E) e 28 (F) dias da exodontia do primeiro molar inferior, respectivamente. Estas radiografias foram obtidas a partir de animais do grupo controle.

Tabela 4 - Razão da densidade ótica em relação ao tempo de cicatrização alveolar e grupo estudado. Foram realizadas 20 observações para cada tempo em cada grupo e os resultados submetidos ao teste de K-W (n=300 radiografias).

Período	Cont	Csa1	Csa2
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
3 dias	1,710 ± 0,069 ^a	1,587 ± 0,103 ^e	1,593 ± 0,063 ⁱ
7 dias	1,598 ± 0,090 ^{a,b}	1,531 ± 0,089 ^{e,f}	1,538 ± 0,047 ^{i,j}
14 dias	1,629 ± 0,044 ^{b,c}	1,624 ± 0,030 ^{f,g}	1,640 ± 0,083 ^{j,k}
21 dias	1,443 ± 0,045 ^{c,d}	1,480 ± 0,076 ^{g,h}	1,678 ± 0,064 ^{k,l}
28 dias	1,578 ± 0,071 ^d	1,567 ± 0,070 ^h	1,596 ± 0,114 ^l
K-W (p)	0,000000	0,000000	0,000001

K-W = Teste de Kruskal-Wallis Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9% DP = Desvio padrão. K-W significativo: a, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l K-W não-significativo: b.

Padrão não linear também foi observado quando realizada análise da influência dos grupos sobre a razão da densidade radiográfica (tabela 5). Em geral, as leituras do grupo controle foram maiores que as leituras do grupo Csa1 e este por sua vez apresentou menores leituras que no grupo Csa2, exceto no 21^o dia. Esta diferença foi confirmada estatisticamente para os períodos de 3, 7 e 21 dias, mas não para os períodos de 14 e 28 dias.

Tabela 5 - Razão da densidade ótica em relação ao grupo estudado e tempo de cicatrização alveolar. Realizadas 20 observações para cada tempo em cada grupo e os resultados submetidos ao teste de K - W (n=300 radiografias).

Grupo	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
	Média ± DP				
Cont	1,710 ± 0,069 ^{a,b}	1,598 ± 0,090 ^{d,e}	1,629 ± 0,044 ^{g,h}	1,443 ± 0,045 ^{j,k}	1,578 ± 0,071 ^{m,n}
Csa1	1,587 ± 0,103 ^{a,c}	1,531 ± 0,089 ^{d,f}	1,624 ± 0,030 ^{g,i}	1,480 ± 0,076 ^{j,l}	1,567 ± 0,070 ^{m,o}
Csa2	1,593 ± 0,063 ^{b,c}	1,538 ± 0,047 ^{e,f}	1,640 ± 0,083 ^{h,i}	1,678 ± 0,064 ^{k,l}	1,596 ± 0,114 ^{n,o}
K-W(p)	0,000025	0,012801	0,878162	0,000000	0,449398

K-W = Teste de Kruskal-Wallis Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9% DP = Desvio padrão. K-W significativo: a, b, d, e, k, l K-W não-significativo: c, f, g, h, i, j, m, n, o.

A avaliação das médias das leituras em duplicata da densitometria radiográfica dos alvéolos dos molares em cada subgrupo e em cada tempo mostrou homogeneidade em

quase todas as etapas, exceção feita aos subgrupos da Csa2, onde houve diferença estatisticamente significativa nos tempos de 3, 7 e 28 dias entre as leituras (ANEXO, tabela 3).

2.5.4 AVALIAÇÕES SOB LUPA ESTEREOSCÓPICA:

Corpos estranhos e raízes dentárias não foram detectadas no exame sob lupa estereoscópica. Foram evidenciadas numerosas áreas de hiperqueratinização na gengiva (tabela 6), característica confirmada pela avaliação histológica subsequente. A maioria das hiperqueratoses foi observada no grupo Csa1 (39%) seguida pelo grupo Csa2 com 15% (X^2 , $p=0,0006$). Os tempos mais prolongados de acompanhamento mostraram diferença mais acentuada. Crescimento gengival ocorreu em 53 casos. Deste total, 47 pertenciam ao grupo Csa2 e 5 ao grupo Csa1. A diferença foi estatisticamente significativa (X^2 , $p=0,0000$), mostrando que a dose de ciclosporina administrada apresenta relação direta com a presença de crescimento gengival. Ulcerações foram observadas com maior frequência no grupo Csa2 (34%) enquanto os valores observados para Csa1 e controle foram similares (X^2 , $p=0,0347$). Análise detalhada destas variáveis encontra-se no ANEXO, tabelas 4 a 6.

Tabela 6 - Avaliação de hiperqueratose, crescimento gengival e ulcerações por meio de lupa estereoscópica, nos três grupos experimentais (n=300 hemi-mandíbulas).

Droga	Hiperqueratose	Crescimento gengival	Ulcerações
	Ausência / Presença	Ausência / Presença	Ausência / Presença
Cont (n=100)	85 / 15	99 / 1	81 / 19
Csa1 (n=100)	61 / 39	95 / 5	78 / 22
Csa2 (n=100)	68 / 32	53 / 47	66 / 34
Total	214 / 86	247 / 53	225 / 75

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%, $p<0,05$

A avaliação através da lupa, das hemi-mandíbulas removidas, mostrou que a cobertura epitelial completa ocorreu em 60,7% dos casos. Das hemi-mandíbulas que não

tiveram recobrimento epitelial, 6 (2%) casos pertenciam ao grupo Csa2, sendo que este mesmo grupo apresentou o menor número de hemi-mandíbulas com completo recobrimento epitelial (53%, 17,7%), diferença estatisticamente não significativa (X^2 , $p=0,4698$) como pode ser visto no ANEXO, tabelas 7 a 9.

2.5.5 AVALIAÇÕES SOB MICROSCOPIA ÓTICA:

Os resultados das leituras feitas em microscópio ótico não revelaram influência estatisticamente significativa do tratamento sobre colágeno, fibroblastos, área ocupada por osso neoformado, exposição óssea e presença de restos radiculares. Estes resultados podem ser observadas no ANEXO, tabelas 10 a 14.

Houve influência estatisticamente significativa do uso da csa sobre a presença de ulceração (tabela 7), como observado ao microscópio ótico (X^2 - $p=0,0000$), sendo a maioria dos casos de ulceração (14,5%) do grupo Csa2. Os grupos Cont e Csa1 mostraram baixos índices de ulceração, 1,4% e 2,2% respectivamente. Resultados dessa característica em detalhe podem ser vistos no ANEXO, tabela 15.

Tabela 7 - Ulceração observada por meio do microscópio ótico nos três grupos experimentais (n=276 hemi-mandíbulas).

Droga	Ausência - n (%)	Presença - n (%)
Cont	100 (32,5%)	0 (0,0%)
Csa1	82 (34,7%)	6 (2,2%)
Csa2	54 (22,9%)	40 (14,5%)
Total	236 (76,7%)	46 (16,7%)

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%, $p<0,05$

Os resultados da leitura da cobertura epitelial através do microscópio ótico mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa em qualquer dos tempos

experimentais, entre os diferentes tipos de tratamento empregados, como pode ser visto no ANEXO, nas tabelas 16 e 17.

Os percentuais de revestimento epitelial do alvéolo, avaliados sob microscopia ótica, não evidenciaram diferença estatisticamente significativa em qualquer dos tempos experimentais, entre os diferentes tipos de tratamento empregados neste trabalho, como pode ser visto no ANEXO, tabela 18.

2.5.6 AVALIAÇÕES SOB MICROSCOPIA COMPUTADORIZADA:

A análise do percentual médio de cobertura epitelial em microscopia ótica com auxílio de computador não mostrou diferenças estatisticamente em relação aos grupos tratados. A evolução pelo tempo mostrou aumento estatisticamente significativo do percentual de cobertura epitelial entre o dia 3 e dia 7, mas não houve alteração significativa após o dia 7, permanecendo os valores próximos de 100% de cobertura (tabela 8).

Tabela 8 - Percentual médio de cobertura epitelial em %, avaliada através de microscopia ótica com auxílio de computador, em cortes corados pelo HE, em relação aos tratamentos e aos tempos empregados (n=268 hemi-mandíbulas). Teste de Wilcoxon com nível de significância de 5%. Letras maiúsculas são comparações de médias entre tratamentos e letras minúsculas comparam médias entre tempos. Letras diferentes significam médias com diferença estatisticamente significativa.

Tempo	Média	Cont	Csa1	Csa2
03 dias	59,65±43,69 ^b	55,53±45,52 ^{a,A}	77,78±44,10 ^{a,A}	41,64±37,18 ^{a,A}
07 dias	96,16±14,67 ^a	100,00±0,00 ^{a,A}	91,42±24,28 ^{a,A}	96,12±12,26 ^{a,A}
14 dias	82,66±36,15 ^a	95,25±15,01 ^{a,A}	80,00±42,16 ^{a,A}	71,62±44,47 ^{a,A}
21 dias	94,72±20,74 ^a	100,00±0,00 ^{a,A}	100,00±0,00 ^{a,A}	83,51±35,54 ^{a,A}
28 dias	95,52±16,27 ^a	93,20±21,51 ^{a,A}	100,00±0,00 ^{a,A}	94,51±17,64 ^{a,A}

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

Em geral, a densidade volumétrica de fibroblastos, em μm^3 , não foi afetada significativamente pelo tratamento. No dia 3, o grupo controle apresentou maior densidade de fibroblastos que os grupos tratados com ciclosporina, mas essa diferença não foi

estatisticamente significativa. Houve tendência de redução da densidade volumétrica de fibroblastos com o passar do tempo em nível estatisticamente significativo, mas isto não foi verificado em todos os grupos, como exposto na tabela 9.

No geral, a densidade volumétrica do colágeno não foi afetada significativamente pelo tratamento. Por outro lado, houve aumento da densidade volumétrica de colágeno no dia 7 em relação ao dia 3, em geral sem significância estatística, seguida por redução acentuada nos períodos de 14, 21 e 28 dias com diferença estatisticamente significativa em relação aos tempos de 3 e 7 dias, como pode ser visto na tabela 10.

Tabela 9 - Efeito de tempo e tratamento sobre a densidade volumétrica de fibroblastos, em μm^3 , nos sete campos alveolares estudados através de microscopia ótica com auxílio de computador, em cortes corados pelo HE (n=268 hemi-mandíbulas). Teste de Tukey com nível de significância de 5%. Letras maiúsculas são comparações de médias entre tratamentos e letras minúsculas comparam médias entre tempos. Letras diferentes significam médias com diferença estatisticamente significativa.

	Média	Cont	Csa1	Csa2
Apical				
03 dias	22,54±13,06 ^a	32,89±17,82 ^{a.A}	18,56±4,64 ^{a.A}	15,38±7,52 ^{a.A}
07 dias	15,86±8,16 ^a	21,00±4,59 ^{a.b.A}	14,50±9,85 ^{a.b.A}	11,67±6,71 ^{a.A}
14 dias	11,07±8,60 ^a	10,00±7,39 ^{b.c.A}	14,00±10,42 ^{a.b.A}	8,75±7,42 ^{a.A}
21 dias	6,96±8,85 ^a	9,63±13,33 ^{b.c.A}	3,00±5,12 ^{b.A}	9,25±5,63 ^{a.A}
28 dias	6,56±7,96 ^a	5,00±9,98 ^{c.A}	6,25±6,61 ^{a.b.A}	9,14±6,44 ^{a.A}
Média		15,60±14,79 ^A	11,32±9,45 ^A	10,90±6,90 ^A
Lingual-Médio				
03 dias	17,54±6,67 ^a	22,11±4,01 ^{a.A}	15,11±5,60 ^{a.A}	15,13±7,97 ^{a.A}
07 dias	10,93±8,32 ^a	8,30±7,92 ^{b.A}	14,30±8,86 ^{a.A}	10,11±7,74 ^{a.b.A}
14 dias	2,93±5,38 ^a	6,10±7,75 ^{b.A}	1,00±2,11 ^{b.A}	1,38±2,50 ^{b.c.A}
21 dias	1,58±3,66 ^a	2,63±5,21 ^{b.A}	0,40±1,26 ^{b.A}	2,00±3,89 ^{b.c.A}
28 dias	0,84±2±13 ^a	1,00±2,54 ^{b.A}	1,00±2,45 ^{b.A}	0,43±1,13 ^{c.A}
Média		7,96±9,36 ^A	6,40±8,40 ^A	6,05±7,87 ^A
Médio				
03 dias	13,08±6,65 ^a	17,44±7,84 ^{a.A}	11,89±7,91 ^{a.A}	9,50±9,20 ^{a.A}
07 dias	8,48±9,19 ^{a.b}	8,60±9,89 ^{a.A}	7,60±9,03 ^{a.A}	9,33±9,60 ^{a.A}
14 dias	3,21±5,36 ^{b.c}	2,90±3,87 ^{a.A}	2,00±4,24 ^{a.A}	5,13±7,88 ^{a.A}
21 dias	3,08±6,55 ^c	1,50±4,24 ^{a.A}	1,40±4,43 ^{a.A}	6,75±9,38 ^{a.A}
28 dias	2,44±6,04 ^c	3,70±7,80 ^{a.A}	0,88±2,48 ^{a.A}	2,43±6,43 ^{a.A}
Média		6,83±8,98 ^A	4,77±7,32 ^A	6,80±8,62 ^A
Vestibular-Médio				
03 dias	14,58±7,21 ^a	19,89±3,95 ^{a.A}	15,67±5,15 ^{a.A.B}	7,38±6,35 ^{a.b.B}
07 dias	9,72±8,37 ^a	5,10±7,05 ^{b.B}	9,60±8,19 ^{a.b.A.B}	15,00±7,48 ^{a.A}
14 dias	3,93±6,73 ^a	3,60±6,50 ^{b.B}	3,60±7,52 ^{b.c.B}	4,75±6,82 ^{b.A}
21 dias	1,62±5,61 ^a	3,25±9,19 ^{b.A}	0,00±0,00 ^{c.A}	2,00±4,57 ^{b.A}
28 dias	0,20±1,00 ^a	0,00±0,00 ^{b.A}	0,63±1,77 ^{c.A}	0,00±0,00 ^{b.A}
Média		6,21±9,05 ^A	5,91±8,03 ^A	6,20±7,74 ^A
Lingual-Cervical				
03 dias	13,88±8,43 ^a	21,00±7,68 ^{a.A}	9,11±5,64 ^{a.A}	11,25±6,92 ^{a.A}
07 dias	9,90±8,35 ^a	11,90±9,47 ^{a.A}	6,40±6,64 ^{a.b.A}	11,56±8,38 ^{a.A}
14 dias	4,68±8,58 ^a	1,60±3,06 ^{b.A}	4,80±10,16 ^{a.b.A}	8,38±10,49 ^{a.b.A}
21 dias	0,96±3,42 ^a	1,36±3,89 ^{b.A}	0,00±0,00 ^{b.A}	1,75±4,95 ^{a.b.A}
28 dias	0,76±2,11 ^a	0,60±1,90 ^{b.A}	1,63±3,02 ^{a.b.A}	0,00±0,00 ^{b.A}
Média		7,26±9,84 ^A	4,40±6,82 ^A	6,88±8,39 ^A
Cervical				
03 dias	11,85±10,39 ^a	18,56±11,39 ^{a.A}	9,22±8,66 ^{a.A}	7,25±7,78 ^{a.A}
07 dias	11,86±7,76 ^a	15,20±8,01 ^{a.A}	8,90±5,95 ^{a.A}	11,44±8,57 ^{a.A}
14 dias	4,76±9,51 ^b	7,00±13,83 ^{a.A}	2,70±6,96 ^{a.A}	3,50±5,07 ^{a.A}
21 dias	2,15±7,62 ^b	4,63±13,08 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	2,38±4,78 ^{a.A}
28 dias	0,76±3,07 ^b	1,50±4,74 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	0,57±1,51 ^{a.A}
Média		9,38±12,06 ^A	4,23±6,82 ^A	5,30±7,14 ^A
Vestibular-Cervical				
03 dias	11,96±8,57 ^c	15,78±8,18 ^{a.A}	9,00±7,35 ^{a.A}	11,00±9,65 ^{a.A}
07 dias	12,31±8,33 ^a	12,80±10,02 ^{a.A}	9,50±7,44 ^{a.A}	14,89±7,08 ^{a.A}
14 dias	5,57±10,00 ^b	2,10±4,58 ^{a.A}	7,40±13,95 ^{a.A}	7,63±9,05 ^{a.A}
21 dias	0,88±2,76 ^{b.c}	1,38±3,89 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	1,50±3,21 ^{a.A}
28 dias	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
Média		6,43±9,01 ^A	5,32±8,76 ^A	7,38±8,73 ^A

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

Tabela 10 - Comparação do efeito de tempo e tratamento sobre a densidade volumétrica de colágeno, em μm^3 , nos sete campos alveolares estudados através de microscopia ótica com auxílio de computador, em cortes corados pelo HE (n=268 hemi-mandíbulas). Teste de Tukey com nível de significância de 5%. Letras maiúsculas são comparações de médias entre tratamentos e letras minúsculas comparam médias entre tempos. Letras diferentes significam médias com diferença estatisticamente significativa.

	Média	Cont	Csa1	Csa2
Apical				
03 dias	39,15±18,41 ^a	48,78±17,17 ^{a, b, A}	44,33±16,82 ^{a, A}	22,50±8,96 ^{a, A}
07 dias	58,28±23,85 ^a	65,00±9,29 ^{a, A}	46,80±28,70 ^{a, A}	63,56±26,73 ^{a, A}
14 dias	28,36±24,17 ^a	21,00±16,05 ^{a, b, A}	40,80±29,96 ^{a, A}	22,00±20,58 ^{a, A}
21 dias	33,81±36,34 ^a	21,00±33,91 ^{a, b, A}	23,30±37,59 ^{a, A}	59,75±25,22 ^{a, A}
28 dias	21,44±31,08 ^a	6,50±13,04 ^{b, A}	26,25±33,79 ^{a, A}	37,29±39,76 ^{a, A}
Média		32,60±28,41 ^A	36,55±30,52 ^A	41,68±30,50 ^A
Lingual-Médio				
03 dias	24,50±8,67 ^a	31,67±3,67 ^{a, A}	18,33±7,07 ^{a, A}	23,38±8,93 ^{a, A}
07 dias	36,66±27,91 ^a	29,60±25,64 ^{a, A}	42,00±27,26 ^{a, A}	38,56±32,40 ^{a, A}
14 dias	5,89±9,65 ^b	11,20±13,24 ^{a, A}	2,40±5,08 ^{a, A}	3,63±6,07 ^{a, A}
21 dias	5,92±14,09 ^b	8,88±17,05 ^{a, A}	0,50±1,58 ^{a, A}	9,75±18,61 ^{a, A}
28 dias	2,56±7,66 ^b	1,40±3,10 ^{a, A}	1,63±3,29 ^{a, A}	5,29±13,98 ^{a, A}
Média		16,55±18,96 ^A	13,34±20,75 ^A	16,95±22,72 ^A
Médio				
03 dias	17,08±10,56 ^a	16,78±7,55 ^{a, A}	20,67±12,73 ^{a, A}	13,38±10,77 ^{a, A}
07 dias	27,45±31,10 ^a	34,00±36,92 ^{a, A}	17,30±19,18 ^{a, A}	31,44±35,19 ^{a, A}
14 dias	7,14±12,55 ^b	6,30±8,37 ^{a, A}	3,50±7,41 ^{a, A}	12,75±19,76 ^{a, A}
21 dias	9,19±20,00 ^b	7,38±20,86 ^{a, A}	4,70±14,86 ^{a, A}	16,63±24,77 ^{a, A}
28 dias	7,12±18,37 ^b	8,10±17,35 ^{a, A}	2,88±8,13 ^{a, A}	10,57±27,97 ^{a, A}
Média		14,77±23,05 ^A	9,87±14,90 ^A	17,48±25,24 ^A
Vestibular-Médio				
03 dias	20,31±9,84 ^a	22,33±4,44 ^{a, A}	25,67±9,73 ^{a, A}	12,00±9,68 ^{b, A}
07 dias	34,21±31,32 ^a	20,70±31,45 ^{a, b, B}	27,50±23,91 ^{a, A, B}	56,67±28,74 ^{a, A}
14 dias	9,43±17,47 ^a	6,90±11,85 ^{a, b, A}	7,70±17,99 ^{a, b, A}	14,75±23,14 ^{b, A}
21 dias	5,00±14,57 ^a	4,00±11,31 ^{b, A}	0,00±0,00 ^{b, A}	12,25±23,08 ^{b, A}
28 dias	0,36±1,80 ^a	0,00±0,00 ^{b, A}	1,13±3,18 ^{b, A}	0,00±0,00 ^{b, A}
Média		10,83±18,11 ^A	12,60±18,37 ^A	20,55±28,12 ^A
Lingual-Cervical				
03 dias	18,92±9,80 ^a	27,00±7,60 ^{a, A}	11,56±5,94 ^{a, A}	18,13±9,08 ^{a, A}
07 dias	42,72±32,68 ^a	55,00±29,83 ^{a, A}	25,50±32,08 ^{a, A}	48,22±31,42 ^{a, A}
14 dias	8,79±16,19 ^b	3,30±6,50 ^{a, A}	10,70±22,91 ^{a, A}	13,25±14,53 ^{a, A}
21 dias	2,35±8,43 ^b	3,13±8,84 ^{a, A}	0,00±0,00 ^{a, A}	4,50±12,73 ^{a, A}
28 dias	2,04±6,55 ^b	0,40±1,26 ^{a, A}	5,88±10,96 ^{a, A}	0,00±0,00 ^{a, A}
Média		18,19±25,90 ^A	10,91±20,13 ^A	18,03±24,40 ^A
Cervical				
03 dias	16,35±11,26 ^b	21,67±11,49 ^{a, A}	12,33±9,07 ^{a, A}	14,88±12,17 ^{a, A}
07 dias	55,00±30,65 ^a	71,30±26,80 ^{a, A}	39,10±33,28 ^{a, A}	54,56±24,20 ^{a, A}
14 dias	9,71±19,64 ^c	13,30±25,86 ^{a, A}	7,40±18,73 ^{a, A}	8,13±12,15 ^{a, A}
21 dias	4,12±13,68 ^c	7,75±21,92 ^{a, A}	0,00±0,00 ^{a, A}	5,63±12,09 ^{a, A}
28 dias	2,20±8,31 ^c	1,60±5,06 ^{a, A}	0,00±0,00 ^{a, A}	5,57±14,74 ^{a, A}
Média		23,81±32,24 ^A	12,26±22,81 ^A	18,98±24,93 ^A
Vestibular-Cervical				
03 dias	19,32±14,31 ^b	16,89±8,12 ^{a, A}	12,00±7,71 ^{a, A}	31,86±19,48 ^{a, A}
07 dias	55,76±33,91 ^a	56,50±39,46 ^{a, A}	43,80±32,75 ^{a, A}	68,22±26,68 ^{a, A}
14 dias	12,61±20,96 ^c	5,00±10,91 ^{a, A}	14,10±25,42 ^{a, A}	20,25±23,62 ^{a, A}
21 dias	3,88±16,87 ^c	10,75±30,41 ^{a, A}	0,00±0,00 ^{a, A}	1,88±3,48 ^{a, A}
28 dias	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^{a, A}	0,00±0,00 ^{a, A}	0,00±0,00 ^{a, A}
Média		18,15±30,31 ^A	14,62±24,83 ^A	26,00±31,58 ^A

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

O tratamento não mostrou influência significativa sobre a área ocupada por osso neoformado porém, a média da área de tecido ósseo apresentada pelo grupo controle foi significativamente maior que a do grupo Csa2 no nível cérvico-vestibular. Houve aumento progressivo da área ocupada por osso entre os dias 3 e 28. Aos 03 dias, os valores para área de osso neoformado foram em geral significativamente menores quando comparados aos demais tempos, como pode ser visto na tabela 11. Em geral, em quase todos os níveis avaliados, houve a formação de três “grupos” de leituras, 3 dias, com menores leituras, 7 e 14 dias com valores intermediários e 21 e 28 dias com as maiores áreas ocupadas por osso.

Tratamento e tempo não exerceram influência estatisticamente significativa sobre a área ocupada por vasos sanguíneos neoformados (ANEXO, tabela 19), com exceção de poucos pontos isolados no nível cervical, o que não mudou o quadro geral.

A área ocupada por espaços medulares não foi influenciada significativamente pelo tratamento. Em relação ao tempo, houve uma tendência de aumento gradual até 14 dias, quando em geral as leituras foram significativamente maiores que nos demais dias, seguida por redução gradual até o final do experimento, quando as leituras foram discretamente maiores que aos 3 dias mas em geral sem significância estatística. Essa tendência não ocorreu em todos os níveis, como visto na tabela 12.

Tabela 11: Efeito de tempo e tratamento sobre a área ocupada por tecido ósseo, em μm^2 , nos sete campos alveolares estudados através de microscopia ótica com auxílio de computador, em cortes corados pelo HE (n=268 hemi-mandíbulas). Teste de Tukey com nível de significância de 5%. Letras maiúsculas são comparações de médias entre tratamentos e letras minúsculas comparam médias entre tempos. Letras diferentes significam médias com diferença estatisticamente significativa.

	Média	Cont	Csa1	Csa2
Apical				
03 dias	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
07 dias	665,90±1846,87 ^b	0,00±0,00 ^{a.A}	1293,94±2812,56 ^{a.A}	707,97±1410,53 ^{a.A}
14 dias	1335,98±2679,80 ^b	943,55±2236,30 ^{a.A}	1576,44±3132,44 ^{a.A}	1525,95±2882,70 ^{a.A}
21 dias	5033,04±5338,15 ^a	6745,80±5646,64 ^{a.A}	6644,76±5728,56 ^{a.A}	1305,63±2179,88 ^{a.A}
28 dias	4557,58±5012,49 ^a	6875,76±4998,42 ^{a.A}	3779,17±5303,60 ^{a.A}	2135,51±3687,70 ^{a.A}
Média		2811,90±4585,30 ^A	2667,76±4459,07 ^A	1099,32±2316,63 ^A
Lingual-Médio				
03 dias	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
07 dias	3540,62±3047,63 ^b	5037,02±2261,08 ^{a.A}	1633,11±2877,17 ^{a.A}	3997,41±3140,35 ^{a.A}
14 dias	4049,11±3442,33 ^b	3041,48±3837,31 ^{a.A}	4533,30±3422,69 ^{a.A}	4703,41±3071,98 ^{a.A}
21 dias	7551,92±4206,05 ^a	7536,31±4778,60 ^{a.A}	8111,43±4691,76 ^{a.A}	6868,15±3344,15 ^{a.A}
28 dias	7500,21±4026,46 ^a	8084,26±4644,23 ^{a.A}	6277,41±4167,04 ^{a.A}	8063,35±3050,52 ^{a.A}
Média		4721,66±4517,65 ^A	4106,33±4451,72 ^A	4624,81±3845,74 ^A
Médio				
03 dias	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
07 dias	1220,14±2080,06 ^{b.c}	1755,65±2362,22 ^{a.A}	359,07±1135,47 ^{a.A}	1581,87±2445,96 ^{a.A}
14 dias	4089,62±3776,23 ^{a.b}	3178,69±3904,85 ^{a.A}	4955,92±3792,30 ^{a.A}	4145,39±3827,09 ^{a.A}
21 dias	4922,32±5364,27 ^a	5516,48±5925,65 ^{a.A}	6650,21±5447,17 ^{a.A}	2168,29±4021,19 ^{a.A}
28 dias	4517,26±4959,11 ^{a.b}	6017,14±5362,17 ^{a.A}	4700,84±5130,02 ^{a.A}	2164,77±3779,89 ^{a.A}
Média		3269,08±4489,39 ^A	3345,93±4501,36 ^A	1997,49±3282,10 ^A
Vestibular-Médio				
03 dias	102,38±522,06 ^c	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	332,75±941,16 ^{a.A}
07 dias	2342,65±2391,75 ^b	3984,48±2199,79 ^{a.A}	1831,25±2428,46 ^{a.A}	1086,62±1572,20 ^{a.A}
14 dias	3994,90±3581,27 ^b	3883,36±3967,69 ^{a.A}	3844,07±3423,86 ^{a.A}	4322,85±3739,51 ^{a.A}
21 dias	8089,79±3819,24 ^a	9064,15±3761,81 ^{a.A}	8744,04±4255,55 ^{a.A}	6297,62±3048,37 ^{a.A}
28 dias	8525,89±3965,41 ^a	8636,40±4701,96 ^{a.A}	7760,62±3848,99 ^{a.A}	9242,63±3324,28 ^{a.A}
Média		5054,37±4651,52 ^A	4388,91±4538,82 ^A	4052,59±4158,86 ^A
Lingual-Cervical				
03 dias	195,32±995,96 ^c	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	634,80±1795,49 ^{a.A}
07 dias	2338,77±2715,73 ^b	2458,58±2804,73 ^{a.A}	2717,61±3023,45 ^{a.A}	1784,72±2477,23 ^{a.A}
14 dias	5124,90±4333,38 ^b	6255,27±4631,22 ^{a.A}	6281,01±4134,15 ^{a.A}	2266,82±3131,97 ^{a.A}
21 dias	8320,15±3636,15 ^a	8607,68±3714,69 ^{a.A}	10013,85±2434,45 ^{a.A}	5915,51±3873,02 ^{a.A}
28 dias	8264,47±3575,91 ^a	8607,16±4266,69 ^{a.A}	8213,25±3887,11 ^{a.A}	7833,43±2407,86 ^{a.A}
Média		5150,46±4806,67 ^A	5443,20±4693,79 ^A	3535,84±3797,81 ^A
Cervical				
03 dias	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
07 dias	1263,98±2354,04 ^c	929,12±2938,13 ^{a.A}	1884,02±2598,63 ^{a.A}	947,10±1163,17 ^{a.A}
14 dias	4609,43±3661,24 ^b	5291,05±3914,75 ^{a.A}	5587,48±3610,39 ^{a.A}	2534,86±2879,51 ^{a.A}
21 dias	6826,53±4898,57 ^{a.b}	6485,47±5427,89 ^{a.A}	8662,07±4636,81 ^{a.A}	4873,17±4391,84 ^{a.A}
28 dias	7712,04±4249,04 ^a	6519,00±5208,91 ^{a.A}	8865,40±4455,51 ^{a.A}	8098,27±2009,53 ^{a.A}
Média		3814,37±4737,17 ^A	4941,68±4866,87 ^A	3111,90±3752,91 ^A
Vestibular-Cervical				
03 dias	279,61±1425,75 ^c	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	908,74±2570,32 ^{a.A}
07 dias	1445,13±2895,50 ^c	2369,99±3893,82 ^{a.A}	1571,62±2823,98 ^{a.A}	276,97±830,92 ^{a.A}
14 dias	5713,15±3845,09 ^b	7435,86±3191,14 ^{a.A}	5982,17±4370,39 ^{a.A}	3223,48±2819,46 ^{a.A}
21 dias	8015,58±4402,19 ^a	9239,29±4165,28 ^{a.A}	8475,73±4576,33 ^{a.A}	6216,69±4384,46 ^{a.A}
28 dias	9316,06±2897,41 ^a	9678,71±3613,96 ^{a.A}	9793,29±1998,17 ^{a.A}	8252,57±2736,48 ^{a.A}
Média		5718,29±5019,59 ^A	5077,48±4926,91 ^{A.B}	3576,30±4087,65 ^B

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

Tabela 12: Efeito de tempo e tratamento sobre a área ocupada por espaços medulares, em μm^2 , nos sete campos alveolares estudados através de microscopia ótica com auxílio de computador, em cortes corados pelo HE (n=268 hemi-mandíbulas). Teste de Tukey com nível de significância de 5%. Letras maiúsculas são comparações de médias entre tratamentos e letras minúsculas comparam médias entre tempos. Letras diferentes significam médias com diferença estatisticamente significativa.

	Média	Cont	Csa1	Csa2
Apical				
03 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
07 dias	680,83±2028,97 ^a	0,00±0,00 ^{a.A}	1001,00±2218,69 ^{a.A}	1081,57±2825,32 ^{a.A}
14 dias	1210,61±2629,95 ^a	1351,38±3026,69 ^{a.A}	964,14±2534,26 ^{a.A}	1342,72±2551,04 ^{a.A}
21 dias	332,55±1066,67 ^a	112,85±319,19 ^{a.A}	240,04±391,51 ^{a.A}	667,90±1889,10 ^{a.A}
28 dias	913,22±1655,35 ^a	1063,90±1800,51 ^{a.A}	523,84±1202,87 ^{a.A}	1142,97±2026,89 ^{a.A}
Média		533,10±1672,43 ^A	558,35±1622,18 ^A	845,50±2076,21 ^A
Lingual-Médio				
03 dias	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
07 dias	698,71±1781,15 ^{a.b}	1594,74±2558,96 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	479,47±1438,41 ^{a.A}
14 dias	1859,14±2375,64 ^a	1035,94±1806,90 ^{a.A}	1639,83±2302,26 ^{a.A}	3162,30±2788,96 ^{a.A}
21 dias	500,93±1193,44 ^{a.b}	211,93±528,96 ^{a.A}	169,06±534,61 ^{a.A}	1204,79±1902,77 ^{a.A}
28 dias	1164,54±2050,70 ^a	432,71±655,38 ^{a.A}	1428,50±2081,70 ^{a.A}	1908,34±3080,66 ^{a.A}
Média		687,86±1548,49 ^A	628,02±1514,95 ^A	1315,26±2282,96 ^A
Médio				
03 dias	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
07 dias	697,91±2149,63 ^{b.c}	2023,95±3375,52 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
14 dias	1663,53±2258,81 ^a	884,76±1450,18 ^{a.A}	1859,91±2375,25 ^{a.A}	2391,50±2862,74 ^{a.A}
21 dias	435,52±931,19 ^{a.b.c}	220,86±624,68 ^{a.A}	395,36±807,84 ^{a.A}	700,38±1316,22 ^{a.A}
28 dias	957,48±1615,72 ^{a.b}	862,46±1579,41 ^{a.A}	992,01±1495,55 ^{a.A}	1053,78±2015,79 ^{a.A}
Média		839,97±1923,06 ^A	648,70±1448,81 ^A	802,79±1794,20 ^A
Vestibular-Médio				
03 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{b.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
07 dias	880,85±1996,44 ^a	2554,45±2765,87 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.B}	0,00±0,00 ^{a.B}
14 dias	1867,65±2653,71 ^a	896,25±1950,18 ^{a.b.A}	2398,13±2630,78 ^{a.A}	2418,81±3358,14 ^{a.A}
21 dias	367,38±913,33 ^a	509,42±825,65 ^{a.b.A}	141,25±298,13 ^{a.A}	508,00±1436,83 ^{a.A}
28 dias	774,01±1521,01 ^a	477,52±1012,97 ^{a.b.A}	1284,54±2147,53 ^{a.A}	614,11±1345,48 ^{a.A}
Média		922,50±1834,04 ^A	758,94±1739,63 ^A	692,83±1871,25 ^A
Lingual-Cervical				
03 dias	246,01±1254,41 ^b	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	799,53±2261,42 ^{a.A}
07 dias	893,76±1966,87 ^{a.b}	977,11±2287,95 ^{a.A}	1614,80±2327,37 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
14 dias	1794,66±2338,05 ^a	1057,34±1284,81 ^{a.A}	2091,01±2476,25 ^{a.A}	2345,89±3135,19 ^{a.A}
21 dias	619,87±1269,93 ^{a.b}	880,90±1721,39 ^{a.A}	260,30±371,07 ^{a.A}	808,32±1521,95 ^{a.A}
28 dias	676,82±1365,22 ^{a.b}	78,85±167,46 ^{a.A}	770,18±1509,85 ^{a.A}	1424,35±1869,28 ^{a.A}
Média		599,58±1422,37 ^A	974,95±1815,87 ^A	1040,01±2069,85 ^A
Cervical				
03 dias	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
07 dias	523,07±1474,44 ^{b.c}	218,35±690,48 ^{a.A}	1298,57±2289,49 ^{a.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
14 dias	2457,20±2588,24 ^a	2343,33±2461,96 ^{a.A}	2795,73±2559,55 ^{a.A}	2176,37±3057,84 ^{a.A}
21 dias	920,58±1549,85 ^{a.b}	686,20±970,98 ^{a.A}	517,66±855,76 ^{a.A}	1658,62±2403,55 ^{a.A}
28 dias	500,16±1404,04 ^{b.c}	23,87±75,48 ^{a.A}	154,53±350,93 ^{a.A}	1575,59±2417,94 ^{a.A}
Média		666,92±1501,81 ^A	1007,57±1886,86 ^A	1042,73±2116,83 ^A
Vestibular-Cervical				
03 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{b.A}	0,00±0,00 ^{b.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
07 dias	391,31±1192,02 ^a	736,81±1597,18 ^{a.b.A}	397,98±1258,51 ^{a.b.A}	0,00±0,00 ^{a.A}
14 dias	2214,63±2279,40 ^a	2219,70±1637,08 ^{a.A}	2050,10±2015,08 ^{a.A}	2413,97±3360,02 ^{a.A}
21 dias	979,21±1964,10 ^a	127,37±287,42 ^{b.A}	592,36±1071,37 ^{a.b.A}	2314,62±3022,90 ^{a.A}
28 dias	921,80±1776,88 ^a	107,51±177,20 ^{b.A}	1107,56±1866,43 ^{a.b.A}	1872,78±2512,32 ^{a.A}
Média		673,60±1331,55 ^A	835,42±1543,91 ^A	1273,45±2428,60 ^A

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

A interação dos tempos e das drogas sobre a área ocupada por espaços vazios, nos sete campos alveolares estudados através de microscopia ótica com auxílio de computador, mostrou que não houve influência significativa de sua presença com a interação droga e tempo, bem como o efeito isolado dos tratamentos aplicados (ANEXO, tabela 20).

A interação do efeito de tempo e do tratamento sobre a área ocupada por raiz residual nos sete campos alveolares avaliados através de microscopia ótica computadorizada não mostrou diferenças estatisticamente significativas (ANEXO, tabela 21).

2.6 DISCUSSÃO

A técnica apresentada neste trabalho para exodontia de 1º molar inferior em ratos mostrou-se acessível, de realização relativamente fácil e rápida, durando cerca de 15 a 20 minutos por animal, além de proporcionar pós-operatório adequado. Em grande parte dos casos, a utilização do micro-cinzel cirúrgico como elevador permitiu realizar a correta avulsão da porção radicular mesial nos casos de fratura coronária. Em nosso conhecimento, não há na literatura indexada trabalho similar a este, baseando-se em técnicas de odontosseção. Todo cuidado possível foi tomado para que o experimento fosse realizado da maneira mais ética possível e estabelecendo protocolo que poderá ser utilizado em futuros trabalhos. A utilização de alvéolos de molares ao invés de incisivos permitiu melhor qualidade de vida pós-operatória ao animal, permitindo a manutenção do mesmo por períodos prolongados (GUGLIELMOTTI & CABRINI, 1985). Possivelmente, parte do ganho de peso pós-operatório, especialmente no grupo controle, está ligada a esse fator.

Foi constatado um efeito intenso da csa sobre a evolução do peso dos animais sendo esse efeito de características negativas e dose-dependente, uma vez que, quanto maior a dose administrada da droga, menor o ganho de peso dos animais, confirmando com os achados de RYFFEL (1982), del POZO et al. (1995) e FU et al. (1997). Os dados também confirmam os achados de STILLER et al. (1983), os quais observaram que animais tratados com doses iguais ou superiores a 15mg/kg/dia apresentaram comportamento negativo dose-dependente em relação ao peso. Para del POZO & ZAPF (1994) esta redução de peso ocorre por hiponutrição decorrente do uso da csa, mas esta característica pode estar

relacionada com a redução do apetite do animal causada pela droga bem como ao aumento do catabolismo de proteínas e ao estresse pelo qual os animais passam durante o tratamento (WASSEF et al. 1985).

Na avaliação da densidade radiográfica, o grupo Csa1 se comportou de maneira semelhante ao grupo controle, com redução nos valores das leituras indicando o processo de reparação óssea alveolar, o que está de acordo com BODNER et al. (1993a, b). A primeira redução na densidade óptica foi observada em 7 dias, em todos os grupos experimentais, de acordo com SMITH (1974) e ELOVIC et al. (1994), segundo os quais neste período inicia-se a neoformação óssea. No entanto, outros pesquisadores enfatizaram o predomínio dos processos de reabsorção óssea nas paredes alveolares que se inicia por volta do 2º e atinge o máximo ao 7 dias pós-exodontia (CARVALHO et al. 1980, DEVLIN et al. 1996). Todos os grupos, porém, apresentaram um aumento no valor das leituras no período de 14 dias, indicando predomínio da atividade de reabsorção sobre a formação óssea (SMITH 1974). GUGLIELMOTTI & CABRINI (1985) e HSIEH et al. (1994) entretanto, destacaram que a maior atividade osteoclástica ocorre aos 10 dias. Estes dados demonstram o efeito dose-dependente da csa em relação ao metabolismo ósseo (del POZO et al. 1995). A perda da densidade óssea induzida pela csa também foi demonstrada em pacientes transplantados (ARINGER et al. 1998) e em ratos imunossuprimidos (PEREIRA et al. 1996), porém está em desacordo com DALEY & WYSOCKI (1984) segundo os quais o tratamento com csa leva a diminuição da atividade de osteoclastos e conseqüente diminuição da reabsorção óssea alveolar. A análise da correlação entre as leituras densitométricas repetidas mostrou homogeneidade quase absoluta, exceção feita ao grupo Csa2. Esses resultados talvez estejam relacionados com irregularidades na anatomia final

do alvéolos nesse grupo ou com falhas do próprio método. Metodologias para padronização e checagem de erros, tais como utilização de um degrau metálico e releituras dos alvéolos, estão de acordo com o proposto por SMITH (1974), BRAEGGER et al. (1987), BODNER (1993a,b) e SOUTHARD et al. (1999).

Ao exame com lupa estereoscópica, foram observadas áreas de hiperqueratose, confirmadas posteriormente em microscopia ótica, sobre a região do alvéolo em 28,7% das hemi-mandíbulas. O grupo mais afetado foi a Csa1 (13%). Influência da csa na presença de hiperqueratinizações e acantose já havia sido reportada anteriormente (TYLDESLEY & ROTTER 1984, SPOLIDORIO 1996, VOLPE et al. 1997). Para AYANOGLU & LESTY (1999) a csa é responsável tanto por aumento da espessura da queratina quanto pelo aumento do número de camadas epiteliais em decorrência de um maior tempo de vida dos queratinócitos. Os resultados estão em desacordo com o trabalho de WYSOCKI et al. (1983) os quais relataram presença de fina camada de epitélio em crescimentos gengivais induzidos pela csa. Também discordam dos achados de ESPOSITO et al. (2000) que relataram efeito antiproliferativo da csa sobre células epiteliais “in vitro”, por induzir apoptose.

Também foi encontrado crescimento gengival nos grupos tratados com a droga, principalmente no grupo Csa2, confirmando o efeito colateral da droga e estando de acordo com os achados SEYMOUR & JACOBS (1992), VOLPE et al. (1997) e FU et al. (1999). Para AYANOGLU & LESTY (1999) a vasodilatação é um fator importante no que diz respeito ao aumento gengival decorrente do tratamento com csa. Este aumento de volume também pode ser decorrente de um aumento no número de fibroblastos ou aumento na

síntese de colágeno, assim como descrito por WYSOCKI et al. (1983) e SPOLIDORIO et al. (1996), no entanto estes parâmetros não foram analisados neste trabalho.

A presença de ulcerações presentes no tecido conjuntivo acima do alvéolo foi outra característica avaliada sob lupa estereoscópica e por meio de microscópio ótica convencional, mostrando influência estatisticamente significativa do uso da csa. O grupo Csa2 apresentou maior presença de ulcerações quando comparado aos demais grupos experimentais, indicando haver uma relação dose-dependente desta droga, como relatado por FLETCHER et al. (1993) e VOLPE et al. (1997). Esta presença de ulcerações pode ser justificada em parte pelo mecanismo de ação da csa, responsável por imunossupressão do animal tratado, tornando os animais mais susceptíveis a infecções oportunistas (RANDZIO et al. 1991, MIN & MONACO 1991, ZANKER et al. 1998). Entretanto, tais resultados diferem de achados clínicos e pesquisas que avaliaram outros aspectos do reparo em pacientes e animais submetidos ao tratamento com csa (FISCHEL et al. 1983, NEMLANDER et al. 1983, SPOLIDORIO 1991). Esta dificuldade no processo de reparo também não está de acordo com CARP et al. (1997) para os quais a csa acelerou o processo de reparo de úlceras em pacientes com pioderma gangrenoso e doença de Cröhn e com os resultados de HARPENAU et al. (1995), segundo os quais a csa diminuiu a presença de ulcerações de pacientes com líquen plano atrófico e erosivo.

A presença de exposição óssea e de restos radiculares não foi influenciada pelo tratamento. Apesar disso, deposição abundante de cimento novo no terço cervical das raízes após o uso de csa já foi relatada na literatura (AYANOGLU & LESTY 1997) e a presença de fragmentos radiculares pode interferir com o processo de reparo, fato este que não foi observado neste trabalho (SMITH 1974, PIETROKOVSKI & MASSLER 1967).

A área ocupada por espaços medulares não foi influenciada significativamente pelo tratamento porém aumentou gradativamente até os 14 dias após a cirurgia, reduzindo em seguida, concordando com os achados de LIKUZA et al. (1992) e de HSIEH et al. (1994). Este comportamento reflete os estágios de neoformação óssea seguido por posterior maturação do tecido ósseo alveolar (SMITH 1974, GUGLIELMOTTI & CABRINI 1985).

Cobertura epitelial avaliada por meio de lupa estereoscópica, por microscopia ótica convencional e computadorizada não mostrou influência estatisticamente significativa do tratamento. Estes resultados discordam de FERNANDES et al. (1997) que relataram atraso no recobrimento epitelial de alvéolos de ratos tratados com csa, tendo este ocorrido somente após 15 do procedimento cirúrgico, enquanto os resultados deste trabalho indicam que este evento ocorreu após 7 dias das cirurgias. Para outros autores entretanto, csa parece não interferir na formação de novo epitélio (HOFFMANN et al. 1986, FILIPEC et al. 1992), ou parece apresentar efeito positivo da csa sobre a capacidade proliferativa do epitélio (SPOLIDORIO 1991, CARP et al. 1997). Apesar de não ter ocorrido em todas as hemi-mandíbulas, o recobrimento epitelial estava praticamente completo uma semana após as exodontias, concordando com os achados de LIZUKA et al. (1992) e DEVLIN et al. (1996) e confirmando que o reparo alveolar em ratos ocorre em período menor quando comparado aos humanos (PIETROKOVSKI & MASSLER 1967 e BODNER et al. 1993b).

Sob microscopia ótica, a contagem de fibroblastos não foi alterada pelo tratamento utilizado, sugerindo não haver influência direta do uso da droga sobre esse parâmetro, ainda que alguns grupos tratados com csa tenham apresentado contagens mais elevadas de fibroblastos que os grupos controle, o que já foi reportado anteriormente (WYSOCKI et al. 1983). A análise por microscopia computadorizada não alterou substancialmente o quadro

das análises anteriores, apenas no nível apical onde houve ordem decrescente na seqüência controle, Csa1 e Csa2. Entretanto, a influência da csa sobre fibroblastos e seus produtos ainda não foi bem determinada. Alguns experimentos demonstraram que csa é capaz de induzir a proliferação de fibroblastos (COLEY et al. 1986, ZEBROWSKI et al. 1986, JACOBS et al. 1990 e SCHINCAGLIA et al. 1992, SEYMOUR & JACOBS 1992), sem alterar drasticamente sua atividade de síntese (BARTOLD 1987), enquanto outros afirmaram que ocorre diminuição do número de fibroblastos e aumento da produção de colágeno (TYLDESLEY & ROTTER 1984, SPOLIDORIO et al. 1996, FERNANDES et al. 1997, AYANOGLU & LESTY 1999) ou aumento apenas da matriz extracelular (ROSTOCK et al. 1986). A média do número de fibroblastos que foi maior no nível apical, seguida pelos níveis médios e cervicais, respectivamente, refletiu a origem do ligamento periodontal destas células e proximidade com a alimentação vascular do alvéolo (SMITH 1974, GUGLIELMOTTI & CABRINI 1985).

Sob microscopia ótica, a quantificação de colágeno não foi influenciada pela droga utilizada, apresentando homogeneidade em seus valores durante os períodos experimentais. Análise da densidade volumétrica de colágeno por microscopia computadorizada confirmou os resultados em microscopia ótica, sugerindo que a csa não interfere na formação de colágeno. Apesar disso, resultados relatados na literatura apontam aumento da produção de colágeno em ratos tratados com csa (TYLDESLEY & ROTTER 1984, SCHINCAGLIA et al. 1992, SPOLIDORIO et al. 1996) ou aumento do volume de colágeno (McGAW et al. 1988, VOLPE et al. 1997), podendo este comportamento ser explicado pela diminuição da degradação de colágeno pela ação da csa em fibroblastos, ou pelo estímulo de sua síntese pelas células endoteliais (ESPOSITO et al. 2000).

A csa não mostrou influência estatisticamente significativa sobre a neoformação óssea avaliada sob microscopia ótica e por microscopia computadorizada. Neste trabalho, as primeiras evidências de neoformação óssea ocorreram entre o 3º e o 7º dias após as exodontias, concordando com GREEN et al. (1969), SMITH (1974) e DEVLIN (2000), para o qual a neoformação óssea alveolar não é possível de ser identificada histologicamente antes do 4º dia após a exodontia. Por outro lado, estes resultados discordam de BOYNE (1966) que relatou a presença de tecido ósseo apenas a partir de 9 dias. Para HSIEH et al. (1994), há início da neoformação óssea alveolar no 5º dia pós-cirúrgico, principalmente na região apical. O período de maior neoformação óssea encontrado neste trabalho ocorreu entre os dias 21 e 28 após as cirurgias, discordando de GREEN et al. (1969) que observaram o mesmo evento entre os dias 10 e 14. Em seus estudos, LIN et al. (1994) descreveram o preenchimento por osso jovem, em quase todo o alvéolo cerca de 5 dias após a exodontia, discordando dos achados deste trabalho. Nos períodos de 21 e 28 dias, os alvéolos apresentaram-se preenchidos por tecido ósseo neoformado, espaços medulares e vasos sanguíneos, conforme descrito por DEVLIN et al. (1996) e CARVALHO et al. (1997). Mais uma vez o assunto é controverso, havendo relatos de ação positiva da csa sobre a produção e manutenção óssea (del POZO & ZAPF 1994, LEE et al. 1995, DOI et al. 1998) enquanto outros (SCHLOSBERG et al. 1989, FU et al. 1997, FU et al. 1999 e KANG et al. 2000) relatam diminuição da neoformação óssea e aumento da osteoclasia em humanos e animais imunossuprimidos com csa. Exceção ocorreu no campo cérvico-vestibular, onde a média de tecido ósseo neoformado foi significativamente maior no grupo controle do que nos grupos tratados com a droga. Esta discordância pode estar relacionada com as diferenças entre os modelos experimentais.

Deficiências na acurácia do método também podem estar envolvidas. A utilização de colorações específicas, utilizando tecido não fixado e incluído em resina talvez pudesse aumentar essa precisão. Todos os grupos avaliados apresentaram aumento significativo da área ocupada por tecido ósseo neoformado nos sete campos avaliados em relação ao tempo, indicando ter ocorrido o processo de reparo ósseo alveolar nos grupos avaliados. A histomorfometria realizada por meio de microscopia ótica convencional e computadorizada apresentaram resultados similares.

Devem ser seguidos os cuidados gerais preconizados para os demais pacientes quando forem realizadas exodontias em pacientes imunossuprimidos pelo uso de csa. Entretanto, a prevenção de infecções deve ser enfatizada, especialmente nas duas primeiras semanas após a cirurgia.

Certamente a controvérsia sobre influência da csa sobre o metabolismo ósseo e epitelial persistirá por algum tempo e mais estudos são necessários para o esclarecimento de dúvidas fundamentais nesse campo de eminente importância clínica.

2.7 CONCLUSÕES

1. A técnica para exodontia de primeiro molar inferior de rato desenvolvida neste trabalho mostrou-se prática e eficaz.
2. O uso da csa causou redução do ganho de peso pós-cirurgia sendo este efeito mais intenso para a dose mais elevada.
3. A densitometria radiográfica do reparo ósseo alveolar mostrou padrão bipolar, alternando fases de reabsorção e neoformação óssea.
4. O uso da csa aumentou o número de ulcerações sobre o alvéolo.
5. A csa induziu o crescimento gengival, que demonstrou relação direta do mesmo com a dose administrada.
6. O uso da csa não interferiu de forma significativa na angiogênese, na produção de colágeno, na neoformação óssea alveolar e na presença de espaços medulares.
7. O uso da csa não interferiu significativamente com o reparo alveolar ao final do período avaliado, apesar de causar alterações em alguns dos parâmetros mensurados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

AEBI M, REGAZZONI P, PERREN SM, et al. Microsurgically revascularized bone allografts with immunosuppression with cyclosporine. **Transplantation** 1986; 42: 564-7.

AMLER MH, JOHNSON PL, SALMAN I. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. **JADA** 1960; 61:32-44.

ARINGER M, KIENER HP, KOELLER MD, et al. High turnover bone disease following lung transplantation. **Bone** 1998; 23: 485-8.

ARIS RM, NEURINGER IP, WEINER MA, et al. Severe osteoporosis before and after lung transplantation. **Chest** 1996; 109: 1176-83.

AYANOGLU CM, LESTY C. New cementum formation induced by cyclosporin A: a histological, ultrastructural and histomorphometric study in the rat. **J Periodontal Res** 1997; 32: 543-56.

AYANOGLU CM, LESTY C. Cyclosporin A-induced gingival overgrowth in the rat: a histological, ultrastructural and histomorphometric evaluation. **J Periodontol Res** 1999; 34: 7-15.

BARTHELEMY H, FRAPPAZ A, CAMBAZARD F, et al. Treatment of nine cases of pemphigus vulgaris with cyclosporine. **J Am Acad Dermatol** 1993; 18: 1262-6.

* Baseado nas normas da revista ORAL SURGERY, ORAL MEDICINE, ORAL PATHOLOGY, ORAL RADIOLOGY AND ENDODONTICS

- BARTOLD PM. Cyclosporine and gingival overgrowth. **J Oral Pathol** 1987; 16: 463-8.
- BARTOLD PM, HAY S, VERNON-ROBERTS B. Effect of cyclosporin A on connective tissue deposition in experimental inflammatory lesions. **Matrix** 1989; 9: 293-300.
- BERGLUNCH T, LINDHE J, STERRET JD. Clinical and structural tissues characteristics in young and old dogs **J Clin Periodontol** 1991; 18: 616-23
- BEVERIDGE T, GRATWOHL A, MICHOT F. Cyclosporin A: pharmacokinetics after a single dose in man and serum levels after multiple dosing in recipients of allogenic bone marrow grafts. **Cur Therapeutic Res** 1981; 30: 5.
- BODNER L, DAYAN D, ROTHCHILD D, et al. Extraction wound healing in desalivated rats. **J Oral Pathol Med** 1991; 20: 176-8.
- BODNER L, KAFFE I, COHEN Z, DAYAN D. Long-term effect of desalivation on extraction wound healing: a densitometric study in rats. **Dentomaxillofac Radiol** 1993a; 22:195-8.
- BODNER L, KAFFE I, LITTNER MM et al. Extraction site healing in rats. A radiologic densitometric study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1993b; 75:367-72.
- BOREL JF, FEURER C, GUBLER HV. Biological effects of cyclosporin. A new antilymphocyte agent. **Agents and Action** 1976; 6: 468-75.
- BOREL JF, FEURER C, MAGNÉE C, et al. Effects of the New Antilymphocytic peptide cyclosporin A in animals. **Immunology** 1977; 32: 1117-25.
- BOREL JF, MESZAROS J. Skin transplantation in mice and dogs. **Transplant** 1980; 29: 161-2.

- BOREL JF. Basic Science Summary in: KAHAN, B. Cyclosporin: nature of the agent and its immunologic actions. New York, N.Y. **Grune & Stratton** 1988: 722-30.
- BOYNE P J. Osseous repair of the postextraction alveolus in man. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1966; 21: 805-13.
- BRAEGGER U, LITCH J, PASQUALI L, et al. Computer assisted densitometric image analysis for the quantitation of radiographic alveolar bone changes. **J Periodontal Res** 1987; 22: 227-9.
- BRYNSKOV S, FREUND L, CAMPANINI MC, KAMPMANN JP. Cyclosporine pharmacokinetics after intravenous and oral administration in patients with Crohn's disease. **Scand J Gastroenterol** 1992; 27: 961-7.
- BUEDING E, HAWKINS J, CHA YN. Antischistosomal effects of cyclosporin A. **Agents and Actions** 1981; 11: 380-3.
- BUONPANE E. Therapeutic Drug monitoring of cyclosporine. **Connecticut Med** 1990; 54: 17-9.
- BURCKHARDT JJ, GUGGENHEIM B. Cyclosporin A "in vivo" and "in vitro" suppression of rat lymphocyte function. **Immunology** 1979; 36: 753.
- CALNE RY, ROLLES K, THIRU S, et al. Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidney, 2 pancreases, and 2 liver. **Lancet** 1979; 2: 1033-6.
- CARP JM, ONUMA E, DAS K, et al. Intravenous Cycloporine Therapy in the Treatment of Pyoderma Gangrenosum Secondary to Crohn's Disease. **Cutis** 1997; 60: 135-8.

CARVALHO A, CASTRO AL, PINTO RS, et al. Mineralização no processo de reparo em feridas de extração dentária em ratos. Contribuição ao estudo densitométrico. **ARS Curandi Odontol** 1980: 304-12.

CARVALHO TLL, ARAÚJO CACA, TEÓFILO JM, et al. Histologic and histometric evaluation of rat alveolar wound healing around polyurethane resin implants. **Int J Oral Maxillofac Surg** 1997; 26: 149-52.

CT - CENTRAL DE TRANSPLANTES (2000) - Secretaria de Estado da Saúde - São Paulo. http://www.saude.sp.gov.br/Transp/Html/ct_dnt03.htm.

COLEY C, JARVIS K, HASSEL T. Effect of cyclosporin-A on human gingival fibroblast in vitro. **J Dent Res** 1986; 65: 228-37.

COLOMBANI PM, ROBB A, HESS AD. Cyclosporin A binding to calmodulin: a possible site of action on T - lymphocytes. **Science** 1985: 228-337.

DALEY TD, WYSOCKI GP. Cyclosporine therapy. **J Periodontol** 1984; 55: 708-12.

del POZO E & ZAPF J. Skeletal growth and bone density as sensitive parameters in experimental arthritis: effect of cyclosporin A. **Bone** 1994;15: 625-8.

del POZO E, LIPPUNER K, RUCH W, et al. Different effects of cyclosporin A on bone remodeling in young and adult rats. **Bone** 1995; 16: 271S-5S.

DELESSE MA. Procédé mécanique pour déterminer la composition des roches. **C R Acad Scie** 1848;25: 544.

- DEVLIN H, GARLAND H, SLOAN P. Healing of tooth extraction sockets in experimental diabetes mellitus. **J Oral Maxillofac Surg** 1996; 54: 1087-91.
- DEVLIN H. Early bone healing events following rat molar tooth extraction. **Cells Tissues Organs** 2000; 167: 33-7.
- DOI K, AKINO T, SHIGETOMI M, et al. Revascularized Inercalary Bone Allografts with Short-Term Immunosuppression with Cyclosporine in the Canine. **Plast Reconstr Surg** 1998; 101: 793-801.
- DOKU HC, SHKLAR G, BUGBEE B. The effect of epsilon aminocaproic acid on the healing of extraction wounds in hamsters. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1966; 23: 569-81.
- DUINKERKE ASH, VAN de POEL ACM, VAN der LINDEN, et al. Compensation of differences in density of radiographs by densitometry. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1978; 45:637-42.
- ELLIS CN, GORSULOWSKY DC, HAMILTON TA, et al. Cyclosporine improves psoriasis in a double-blind-study. **J Am Med Assoc** 1986; 256: 3110-6.
- ELOVIC RP, HIPPIA JA; HAYES WC. Maxillary molar extraction decreases stiffness of the mandible in ovariectomized rats. **J Dent Res** 1994; 73: 1735-41.
- EPSTEIN S, SCHLOSBERG M, FALLON M, et al. 1,25 Dihydroxyvitamin D3 modifies cyclosporine-induced bone loss. **Calcif Tissue Int** 1990; 47: 152-7.
- ESPOSITO C, FORNONI A, CORNACCHIA F, et al. Cyclosporine induces different responses in human epithelial, endothelial and fibroblast cell cultures. **Kidney Int** 2000; 58: 123-30.

- FERNANDES AV, OKAMOTO T, REZENDE MCRA. Efeito da ciclosporina sobre a cronologia do processo de reparo em feridas de extração dental. Estudo histológico em ratos. **Rev Bras Odontol** 1997; 54: 39-42.
- FERRARI SL, NICOD LP, HAMACHER J, et al. Osteoporosis in patients undergoing lung transplantation. **Eur Resp J** 1996; 9: 2378-82.
- FEUTREN G, QUERIN S, TRON F, et al. The effects of cyclosporine in patients with systemic lupus. **Transplant Proc** 1986; 18: 643-4.
- FILIPEC M, PHAN TM, ZHAO TZ, et al. Topical cyclosporine A and corneal wound healing. **Cornea**. 1992 Nov;11: 546-52.
- FISCHEL R, BARBUL A, WASSERKING HL, et al. Cyclosporine A impairs wound healing in rats. **J Surg Res** 1983; 34: 572-5.
- FISCHER RG, KLING B. Clinical and histological evaluation of ligature induced periodontal breakdown in domestic ferrets immunosuppressed by cyclosporin A. **J Clin Periodontol** 1994; 21: 240-9.
- FLETCHER F, AIN M, JACOBS R. Healing of foot ulcers in immunosuppressed renal transplant patients. **Clin Orthop** 1993; 296: 37-42.
- FU E, NIEH S, WIKESJÖ UME, et al. Gingival overgrowth and dental alveolar alterations: possible mechanisms of cyclosporin-induced tooth migration. An experimental study in the rat. **J Periodontol** 1997; 68: 1231-6.
- FU E, HSIEH YD, NIEH S, et al. Effects of cyclosporin A on alveolar bone: na experimental study in the rat. **J Periodontol** 1999; 2: 189-194.

GREEN LJ, GONG JK, NEIDERS ME. Relationship between Sr⁸⁵ uptake and histological changes during healing in dental extraction wounds in rats. **Arch Oral Biol** 1969; 14:865-72.

GUATELLI R, KOH IH, NETO AB, et al. Effect of cyclosporine A on the healing process of ileal anastomosis in rat. **Transplant Proc** 1996; 28: 2589.

GUERCKI J, WARTHY V, SANGHI A. The transport of cyclosporin in association with plasma lipoproteins in heart and liver transplant patients. **Transplant Proc** 1985; 17: 1997.

GUGLIELMOTTI MB, CABRINI RL. Alveolar wound healing and ridge remodeling after tooth extraction in the rat: A histologic, radiographic, and histometric study. **J Oral Maxillofac Surg** 1985; 43:359-64.

GUPTA S, KESHAVARZIAN A, HODGSON HJF. Cyclosporin in ulcerative colitis. **Lancet** 1984; 2: 1277-8.

HAP – Human and Animal Protection. Laboratory animal welfare - December, 1999
<http://grants.nih.gov/grants/oprr/oprr.htm>

HARDMAN JG, LIMBIRD LE, GILMAN AG, et al. Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9^a ed. New York: McGraw Hill, 1996: 1029-56.

HARPENAU LA, PLEMONS JM, REES TD. Effectiveness of a low dose of cyclosporine in the management of patients with oral erosive lichen planus. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1995; 80: 161-7.

HESS AD, COLOMBANI PM. Mechanism of action of cyclosporin: a unifying hypothesis. **Adv Exp Med Biol** 1987; 213: 309-30.

HESS AD, ESA AH, COLOMBANI PM. Mechanisms of action of cyclosporin: effects on cells of the immune system and on subcellular events in T cell activation. **Transplant Proc** 1988; 2: 30-40.

HEWITT CW, BLACK KS, FRASER LA, et al. Composite tissue (limb) allografts in rats. **Transplant** 1985; 4: 360-4.

HSIEH YD, DEVLIN H, ROBERTS C. Early alveolar ridge osteogenesis following tooth extraction in the rat. **Arch Oral Biol** 1994; 39: 425-8.

HOFFMANN F, WIEDERHOLT M, KOSSENDRUP D. Effect of cyclosporin A, dexamethasone and various preservatives on epithelial wound healing in the denervated guinea pig cornea. **Klin Monatsbl Augenheilkd** 1986 Jul;189:30-3.

JACOBS R, HERBERT LE, SCOTT DL. Synovial fluid fibronectin concentrations in chronic arthritis: influence of intra-articular steroids or oral non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Ann Rheum Dis** 1990; 49: 569.

JAMES JA, IRWIN CR, LINDEN GJ. Gingival fibroblast response to cyclosporin A and transforming growth factor β_1 . **J Periodont Res** 1998 ; 33: 40-8.

JENSEN JR, THESTRUP - PEDERSEN K, ZACHARIAE H, et al. Cyclosporin A therapy for mycosis fungoides. **Arch Derm** 1987; 123: 160-3.

KAHAN BD, GREVEL J. Optimization of cyclosporine therapy in renal transplantatoin by pharmacokinetic strategy. **Tranplantation** 1988; 46: 631-3.

- KAHAN BD. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cyclosporine. **Transpl Proc** 1989; 21: 9.
- KANG MI, LEE WY, OH KW, et al. The short-term changes of bone mineral metabolism following bone marrow transplantation. **Bone** 2000; 26: 275-9.
- LEE WP, PAN YC, KESMARKY S, et al. Experimental orthopic transplantation of vascularized skeletal allografts. **Plast Reconstr Surg** 1995; 95: 336-49.
- LEONI C, GARCIA RC, ALLISON AC. Effects of cyclosporin A on human lymphocytes in culture. **J Clin Lab Immunol** 1978; 1: 67.
- LI XQ, STEVENSON S, KLEIN L, et al. Differential patterns of incorporation and remodeling among various types of bone grafts. **Acta Anat** 1991; 140: 236-44.
- LIKUZA T, MILLER SC, MARKS SC. Alveolar bone remodeling after tooth extraction in normal and osteopetrotic (ia) rats. **J Oral Pathol Med** 1992; 21:150-5.
- LIN WL, MCCULLOCH CA, CHO MI. Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. **Anat Rec** 1994; 240: 492-506.
- LUNDGREN S, ROSENQUIST JB. Short term healing in calcium deficiency osteopenia and diffuse osteopenia: experimental studies in adult rats. **Scand J Dent Res** 1992; 100: 337-9.
- MANDARIN DE LACERDA CA. Manual de quantificação morfológica: morfometria, alometria, estereometria, 2^a ed. Rio de Janeiro: **CEBIO** 1994.

McGAW WT, PORTER H. Cyclosporine-induced gingival overgrowth: an ultrastructural stereologic study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1988; 65:186-90.

McGAW WT, PORTER H, EDMONTON BS Cyclosporine - induced gingival overgrowth: an ultrastructural stereologic study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1988; 65: 186-90.

MAZZALI M. Insuficiência Renal Aguda (IRA) Pós Transplante Renal. **Medicina On Line** 1999; 2.

MAURER G, URAYAMA A, KOGURE M. Double maske trial of cyclosporin versus colchicine and long-term open study of cyclosporin in Behçet’s diseases. **Lancet** 1985; 1: 1093.

MERTIN J, KNIGHT SC, RUDGE P, et al. Double blind controlled trial of immunosuppression in treatment of multiple sclerosis. **Lancet** 1980; 2: 949-51.

MIN DI, MONACO AP. Complications associated with immunosuppressive therapy and their management. **Pharmacotherapy** 1991; 11: 119S-125S.

MORRIS PJ. Cyclosporin A. **Transplantation** 1981; 32: 349-54.

MORRIS PJ. The impact of cyclosporin A on transplantation. **Adv Sur** 1984; 17: 99.

MULLER W, HERRMANN B. Cyclosporin A for psoriasis. **New England J Med** 1979; 301: 555.

MYRILLAS TT, LINDEN GJ, MARLEY JJ, et al. Cyclosporin A regulates interleukin-1b and interleukin -6 expression in gingiva: implications for gingival overgrowth. **J Periodontol** 1999; 70: 294-300.

NEMLANDER A, AHONEN J, WIKTOROWICZ K, et al. Effect of cyclosporine on wound healing. **Transplantation** 1983; 36: 1-6.

NIEH S, FU E, HSIEH YD, et al. Effects of cyclosporin A on the mandibular condylar cartilage in rats. **Arch Oral Biology** 1999; 44: 693-700.

NUSSENBLATT RB, PALESTINE AG, CHAN C, et al. Effectiveness of cyclosporin therapy for Behçet's disease. **Arthritis & Rheumatism** 1985; 28: 671-9.

ORTMAN LF, DUNFORD R, MCHENRY K, et al. Subtraction radiography and computer assisted densitometric analyses os standardized radiogrphs. **J Periodont Res** 1985; 20: 644-51.

OYER PE, STINSON EB, JAMIELSON SW. Cyclosporin in cardiac transplantation: A 2^{1/2} year follow up. **Transpl Proc** 1983; 15: 2546.

PALESTINE AG, NUSSEMBLATT RB, CHAN C. Side effects of systemic cyclosporine in patients not undergoing transplantation. **Am J Med** 1984; 77: 652-6.

PARODI A, REBORA A. Topical cyclosporine in alopecia areata. **Arch Dermatol** 1987; 123: 165-6.

PARRY RG, JACKSON J, STEVENS JM, et al. Long-term bone densitometry post-renal transplantation in patients treated with either cyclsporin or prednisolone. **Nephrol Dial Transplant** 1998; 13: 531-2.

- PAYOT P, HAROUTUNIAN B, POCHON Y, et al. Densitometric analysis of lower molar interradicular areas in superposable radiographs. **J Clin Periodontol** 1987; 14: 1-7.
- PEREIRA Jr VG, TENG CS, NAKAGAWA RM, et al. Comparative study between deflazacort, prednisone and cyclosporine effect on bone metabolism in rats. **Bone** 1996; 19: 158S.
- PIETROKOVSKI J, MASSLER M. Ridge remodeling after tooth extraction in rats. **J Dent Res** 1967; 46: 222-31.
- RANDZIO J, KNIHA H, GOLD ME, et al. Growth of vascularized composite mandibular allografts in young rabbits. **Ann Plast Surg** 1991; 26: 140-8.
- RBT - REGISTRO BRASILEIRO DE TRANSPLANTES, 1995
<http://www.epm.br/medicina/registro/95/rgtx95.htm>.
- REBUCK AS, STILLER CR, BRAUDE AC, LAUPACIS A, et al. Cyclosporin for pulmonary sarcoidosis. **Lancet** 1984; 1:1174.
- REITZ BA, BIEBER CP, RANEY AA PENNOCK JL, et al. Orthopic heart and combined heart and lung transplantation with cyclosporin A immunosuppression. **Transpl Proc** 1981; 13: 393-6.
- ROSTOCK MH, FRY HR, TURNER JE. Severe gingival overgrowth associated with cyclosporine therapy. **J Periodontol** 1986; 57: 294-9.
- RYFFEL B. Experimental toxicological studies with cyclosporin A. In: Cyclosporin A. ed. **DJG White**, pp. 45-71. Elsevier, Amsterdam, 1982.

SCHINCAGLIA GP, FORNITI F, CAVALLINI R, et al. Cyclosporin-A increase type 1 procollagen production and mRNA level in human gingival fibroblast in vitro. **J Oral Pathol Med** 1992; 21: 181-5.

SCHLOSBERG M, Movsowitz C, Epstein S, et al. The effects of cyclosporin A administration and its withdrawal on bone mineral metabolism in the rat. **Endocrinology** 1989; 124: 2179-84.

SEYMOUR RA, JACOBS DJ. Cyclosporin and the gingival tissues. **J Clin Periodontol** 1992; 19: 1-11.

SMITH N. A comparative histological and radiographic study of extraction socket healing in the rat. **Aust Dent J** 1974; 8:250-4.

SOUTHARD TE, WUNDERLE DM, SOUTHARD KA, et al. Geometric and densitometric standardization of intraoral radiography through use of a modified XCP system. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 1999; 87: 253-7.

SPOLIDORIO LC. Efeito da ciclosporina sobre o processo de reparo em tecido cutâneo de rato. Piracicaba - SP, 1991 (**Dissertação de Mestrado**). Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP.

SPOLIDORIO LC. Aspectos morfométricos e estereométricos do aumento gengival induzido pela ciclosporina. Piracicaba - SP, 1996 (**Tese de Doutorado**). Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP.

SPOLIDORIO LC, VIZIOLI MR, ALMEIDA OP. Efeito da ciclosporina sobre o processo de reparo em tecido cutâneo de rato. Estudo morfológico e estereométrico. **Rev Odontol UNESP** 1996; 25: 309-18.

SPRATT H, BOOMER S, IRWIN CR, et al. Cyclosporin associated gingival overgrowth in renal transplant recipients. **Oral Diseases** 1999; 5: 27-31.

STARZL TE, WEIL R, IWATSUKI S, et al. The use of cyclosporin A and prednisone in cadaver kidney transplantation. **Surg Gynecol Obstet** 1980; 151: 17-26.

STARZL TE, IWATSUKI S, VAN THIL DH, et al. Report of Colorado - Pisttsburg liver transplantation studies. **Transpl Proc** 1983; 15: 2581-5.

STILLER CR, LAUPACIS A, KEOWN PA, et al. Cyclosporine: Action, pharmacokinetics, and effect in the BB rat model **Metabolism** 1983; 32: 69-72.

SUGANO N, ITO K, MURAI S. Cyclosporin A inhibits collagenase gene expression via AP-1 and JNK supression in human gingival fibroblasts. **J Periodont Res** 1998; 33: 448-52.

SUTHERLAND DER, CHINN PL, GOETZ FC, et al. Experience with cyclosporine versus azathioprine for pancreas transplantation. **Transpl Proc** 1983; 15: 1606-12.

THIVOLET J, BARTHELEMY H, RIGOT - MULLER G, BENDELAC A. Effects of cyclosporin on bullous pemphigoid and pemphigus. **Lancet** 1993; 1: 334-5.

THOMMEN SK. Antimalarial activity of cyclosporin A. **Agents & Actions** 1981; 11: 770-3.

TYLDESLEY WR, ROTTER E. Gingival hyperplasia induced by cyclosporin-A **Br Dent J** 1984; 157: 305-9.

UNOS - United Network for Organ Sharing (UNOS 1997a). Number of transplants: 1988 - March, 1997. http://204.127.237.11/sta_tran.htm

UNOS - United Network for Organ Sharing (UNOS 1997b). Kaplan-Meier Graft and Patient Survival Rates at One, Two, Three, and Four Years. U.S. Transplant Performed: October 1987 - December 1995. http://204.127.237.11/sta_surv.htm

VICTOR JO, MIGUEL RM, CALLESTINI EA, et al. Implante de gesso de Paris em alvéolos dentais de ratos. Contribuição ao estudo radiográfico. **Rer Assoc Pau Cirurg** 1977; 31: 382-6.

VOLPE A, DOMINGUES MG, QUEIRÓZ LM, et al. Hiperplasia gengival induzida pela ciclosporina: estudo clínico e histopatológico. **RPG** 1997; 4: 133-40.

WASSEF R, COHEN Z, LANGER B. Pharmacokinetic profiles of cyclosporine in rats. Influence of rate of administration and dosage. **Transplantation** 1985; 40: 489-93.

WEIBEL ER. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. **Int Ver Cytol** 1969; 26: 235-302.

WILMINK JM, BRAS J, SURACHNO S, et al. Bone repair in cyclosporin treated renal transplant patients. **Transplant Proc** 1989; 21:1492-4.

WYSOCKI GP, GRETZINGER HA, LAUPACIS A, et al. Fibrous hyperplasia of the gingiva: A side effect of cyclosporin A therapy. **Oral Surg Oral med Oral Pathol** 1983; 55: 274-8.

ZANKER B, SCHNEEBERGER H, ROTHENPIELER U, et al. Mycophenolate mofetil-basedm cyclosporine-free induction and maintenance immunosuppression. **Transplantation** 1998; 66: 44-9.

ZEBROWSKI EJ, SINGER DL, BRUNKA JR. Cyclosporin-A, nifedipine and phenytoin: comparative effects on gingival fibroblast metabolism. **J Dent Res** 1986; 65: 331 (Abst. 1456).

ANEXO

A análise detalhada dos pesos para cada etapa do experimento demonstrou que a influência do uso da ciclosporina foi intensa e afetou os animais até o final do experimento, como mostra a tabela 1. Diferenças significativas foram notadas entre todos os grupos a partir do condicionamento (segunda semana), exceção feita à comparação entre o grupo Csa1 e controle na semana 5 talvez indicando tendência à recuperação dos ratos sob menor dosagem de ciclosporina. O efeito foi dose-dependente, como pode ser observado pelos valores de K-W, maiores nas comparações do grupo Csa2 com os demais. A pesagem inicial dos animais (peso 1) não mostrou diferença significativa entre os grupos.

Tabela 1 - Avaliação do efeito da ciclosporina sobre o peso dos animais em cada uma das seis pesagens. Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis e realizadas comparações gerais e duas a duas. Os valores dos pesos 1 e 2 correspondem a 300 animais. Nos demais, foram excluídos os animais sacrificados a cada semana.

	Média ± desvio padrão		K-W	p
Dia -7 (n=150)				
Cont	262,33 ± 65,02	csa2xcont	0,30	0,584
Csa1	257,16 ± 47,95	csa1xcsa2	1,09	0,296
Csa2	252,02 ± 48,83	csa1xcont	0,02	0,885
Geral	257,17 ± 54,48	contxcsa1xcsa2	0,92	0,632
Dia 0 (n=150)				
Cont	286,92 ± 59,03	csa2xcont	30,94	0,000
Csa1	259,96 ± 43,08	csa1xcsa2	10,47	0,001
Csa2	239,64 ± 40,39	csa1xcont	9,75	0,002
Geral	262,17 ± 51,81	contxcsa1xcsa2	34,02	0,000
Dia 7 (n= 120)				
Cont	308,29 ± 44,66	csa2xcont	75,26	0,000
Csa1	269,03 ± 42,43	csa1xcsa2	37,30	0,000
Csa2	228,24 ± 37,84	csa1xcont	25,96	0,000
Geral	264,82 ± 52,52	contxcsa1xcsa2	91,65	0,000
Dia 14 (n=90)				
Cont	338,20 ± 34,31	csa2xcont	90,38	0,000
Csa1	282,89 ± 37,02	csa1xcsa2	61,02	0,000
Csa2	218,94 ± 29,91	csa1xcont	42,52	0,000
Geral	279,26 ± 59,86	contxcsa1xcsa2	124,73	0,000
Dia 21 (n=60)				
Cont	358,35 ± 32,08	csa2xcont	52,66	0,000
Csa1	308,13 ± 35,74	csa1xcsa2	39,52	0,000
Csa2	231,50 ± 30,85	csa1xcont	26,26	0,000
Geral	303,87 ± 62,02	contxcsa1xcsa2	74,96	0,000
Dia 28 (n=30)				
Cont	366,00 ± 36,89	csa2xcont	19,45	0,000
Csa1	338,43 ± 30,98	csa1xcsa2	15,01	0,000
Csa2	249,40 ± 42,06	csa1xcont	3,32	0,068
Geral	330,73 ± 58,29	contxcsa1xcsa2	23,84	0,000

K-W = Teste de Kruskal-Wallis Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

A tabela 2 mostra a relação das radiografias repetidas para descartar a possibilidade de troca das mesmas na etapa inicial do processamento. Estas radiografias foram selecionadas de acordo com características particulares tais como fratura do côndilo e/ou ramo da mandíbula e raiz residual, disponíveis no livro de registro de cirurgias. A partir desta análise, pôde-se observar que não deve ter havido troca de material em qualquer das etapas, a partir da cirurgia, e confirmar os resultados das leituras.

Tabela 2 - Lista de reparos em hemi-mandíbulas que foram radiografadas novamente para confirmação dos resultados da leitura densitométrica, sendo que “Fraturas” inclui fraturas do côndilo ou dentárias (n=25 hemi-mandíbulas).

Causa	Hemi-mandíbulas
Fraturas e/ou raiz residual do 1º molar inferior	13
Fratura do ramo da hemi-mandíbula	2
Fratura do incisivo	1
Ulceração	9
Total	25

A tabela 3 mostra a comparação entre as médias das duas leituras densitométricas realizadas neste experimento. Observa-se homogeneidade nas leituras realizadas, com exceção apenas ao grupo Csa2, nos tempos 3, 7 e 28 dias.

Tabela 3 - Médias das leituras densitométricas em duas ocasiões, comparadas em cada subgrupo e em cada tempo do experimento. Cada subgrupo incluiu 20 radiografias, as variâncias foram avaliadas pelo teste F e as médias pelo teste t.

	Razão 1 (Média ± DP)	Razão 2 (Média ± DP)	F	Teste t
3 dias				
Cont	1,710 ± 0,069	1,685 ± 0,074	0,774	0,285
Csa1	1,587 ± 0,103	1,603 ± 0,102	0,956	0,611
Csa2	1,594 ± 0,063	1,509 ± 0,058	0,741	0,000
7 dias				
Cont	1,598 ± 0,090	1,595 ± 0,094	0,875	0,920
Csa1	1,531 ± 0,089	1,531 ± 0,093	0,848	1,000
Csa2	1,538 ± 0,047	1,493 ± 0,043	0,701	0,003
14 dias				
Cont	1,629 ± 0,044	1,617 ± 0,041	0,811	0,406
Csa1	1,624 ± 0,030	1,619 ± 0,033	0,744	0,639
Csa2	1,640 ± 0,083	1,628 ± 0,090	0,695	0,681
21 dias				
Cont	1,443 ± 0,045	1,455 ± 0,050	0,623	0,410
Csa1	1,480 ± 0,076	1,490 ± 0,089	0,503	0,713
Csa2	1,678 ± 0,064	1,685 ± 0,063	0,912	0,757
28 dias				
Cont	1,578 ± 0,071	1,580 ± 0,088	0,342	0,948
Csa1	1,567 ± 0,070	1,528 ± 0,061	0,532	0,069
Csa2	1,596 ± 0,114	1,522 ± 0,084	0,195	0,025

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9% DP = Desvio padrão
F = teste de variância F t = teste de médias t

AVALIAÇÕES SOB LUPA ESTEREOSCÓPICA:

A análise da correlação entre a presença de hiperqueratoses na gengiva, como observada por meio de lupa estereoscópica, e os tratamentos utilizados, mostrou que houve correlação estatisticamente significativa e negativa em 21 dias entre Csa1 e Csa2, em 28 dias entre Csa1 e controle e entre Csa1 e Csa2, como visto na tabela 4.

Tabela 4 - Análise do nível de correlação entre hiperqueratoses na gengiva observadas por meio de lupa e o uso de ciclosporina O teste utilizado foi o teste t para proporções e o valor de referência foi 2,101 (n=300 hemi-mandíbulas).

	Média	Desvio		Valor do teste
3 dias				
Cont	90	90	csa2xcont	0,632
Csa1	80	160	csa1xcsa2	0,632
Csa2	80	160	csa1xcont	0,000
7 dias				
Cont	70	210	csa2xcont	0,000
Csa1	70	210	csa1xcsa2	0,000
Csa2	70	210	csa1xcont	0,000
14 dias				
Cont	70	210	csa2xcont	-0,520
Csa1	80	160	csa1xcsa2	-0,520
Csa2	80	160	csa1xcont	0,000
21 dias				
Cont	30	210	csa2xcont	-1,952
Csa1	70	210	csa1xcsa2	-3,464
Csa2	90	90	csa1xcont	-1,155
28 dias				
Cont	30	210	csa2xcont	-0,471
Csa1	40	240	csa1xcsa2	-3,464
Csa2	90	90	csa1xcont	-2,752

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

A análise da correlação entre o crescimento gengival, avaliado sob lupa estereoscópica, e os tratamentos utilizados, mostrou que houve correlação estatisticamente significativa com o uso e com a dose de ciclosporina aplicada nos animais nos tempos 3 dias entre Csa1 e Csa2, em 7 dias Csa2 em relação aos demais tratamentos utilizados e, em 28 dias, controle dos demais, como pode ser visto na tabela 5.

Tabela 5 - Análise do nível de correlação entre o crescimento gengival observado na lupa e o uso de ciclosporina. O teste utilizado foi o teste t para proporções e o valor de referência foi 2,101 (n=300 hemi-mandíbulas).

	Média	Desvio		Valor do teste
3 dias				
Cont	80	160	csa2xcont	-1,482
Csa1	100	0	csa1xcsa2	3,162
Csa2	50	250	csa1xcont	1,581
7 dias				
Cont	100	0	csa2xcont	-6,325
Csa1	100	0	csa1xcsa2	6,325
Csa2	20	160	csa1xcont	0,000
14 dias				
Cont	100	0	csa2xcont	-2,070
Csa1	100	0	csa1xcsa2	2,070
Csa2	70	210	csa1xcont	0,000
21 dias				
Cont	100	0	csa2xcont	-1,581
Csa1	80	160	csa1xcsa2	0,000
Csa2	80	160	csa1xcont	-1,581
28 dias				
Cont	100	0	csa2xcont	-2,582
Csa1	100	0	csa1xcsa2	0,000
Csa2	60	240	csa1xcont	2,582

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

A análise da correlação entre a presença de ulcerações na gengiva, sob lupa estereoscópica, e os tratamentos utilizados, mostrou que houve correlação estatisticamente significativa e positiva apenas em 21 dias, ao testar Csa2 e grupo controle, como visto na tabela 6.

Tabela 6 - Análise do nível de correlação entre a presença de ulcerações na gengiva observadas por meio de lupa e o uso de ciclosporina O teste utilizado foi o teste t para proporções e o valor de referência foi 2,101 (n=300 hemi-mandíbulas).

	Média	Desvio		Valor do teste
3 dias				
Cont	50	250	csa2xcont	0,000
Csa1	50	250	csa1xcsa2	0,452
Csa2	40	240	csa1xcont	0,452
7 dias				
Cont	80	160	csa2xcont	1,482
Csa1	50	250	csa1xcsa2	0,520
Csa2	70	210	csa1xcont	-0,933
14 dias				
Cont	80	160	csa2xcont	0,520
Csa1	70	210	csa1xcsa2	-0,632
Csa2	90	90	csa1xcont	-1,155
21 dias				
Cont	100	0	csa2xcont	2,582
Csa1	60	240	csa1xcsa2	1,581
Csa2	80	160	csa1xcont	-1,000
28 dias				
Cont	90	90	csa2xcont	-1,054
Csa1	100	0	csa1xcsa2	-1,054
Csa2	100	0	csa1xcont	0,000

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

Os resultados da cobertura epitelial avaliada através de lupa estereoscópica, segundo os índices utilizados, estão representados na tabela 7. Estes dados mostram que o recobrimento epitelial do alvéolo ocorreu em 60,7% dos casos.

Tabela 7 - Cobertura epitelial observada por meio de lupa estereoscópica nos três grupos experimentais sendo: 0 - ausência total de epitélio recobrindo a loja cirúrgica, 1 - epitélio cobrindo apenas as margens laterais da loja cirúrgica, 2 - epitélio recobrindo parte da loja cirúrgica, 3 - epitélio recobrindo totalmente a loja cirúrgica (n=300 hemi-mandíbulas).

Droga	0 - n	1 - n	2 - n	3 - n
Cont	4	8	25	63
Csa1	4	12	18	66
Csa2	6	13	28	53
Total	14 (4,7%)	33 (11%)	71 (23,7%)	182 (60,7%)

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

A avaliação da cobertura epitelial por meio da lupa estereoscópica não evidenciou influência dos tipos de tratamento empregados, como pode ser visto na tabela 8 abaixo. Praticamente todos os alvéolos estavam recobertos (índice 3) após 14 dias da extração dentária.

Tabela 8 - Avaliação do índice de cobertura epitelial (Média das leituras) como avaliada por meio do exame em lupa estereoscópica após fixação em formol 10% (n=300 hemi-mandíbulas). Foi usado teste de Kruskal-Wallis e os valores do teste para significância de 5% e 1% foram, respectivamente 5,990 e 9,210.

Droga	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Cont	1,6	2,4	2,8	2,9	2,7
Csa1	1,8	2,5	2,5	2,7	3,0
Csa2	2,0	2,3	1,5	2,7	2,9
K-W	0,746	0,574	5,373	0,550	0,194

K-W = Teste de Kruskal-Wallis Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

A análise estatística da avaliação das hemi-mandíbulas removidas por meio da lupa estereoscópica, considerando o índice de cobertura epitelial, mostrou diferenças significativas apenas aos 3 e aos 14 dias, como pode ser visto na tabela 9.

Tabela 9 - Avaliação da cobertura epitelial, como observada por meio de lupa estereoscópica, nos três grupos experimentais (n=300 hemi-mandíbulas). Realizado o teste de Kruskal - Wallis.

	0 - n	1 - n	2 - n	3 - n	K-W (p)
3 dias					0,0237
Cont	2	3	13	2	
Csa1	2	9	8	5	
Csa2	3	1	12	4	
Total	7	13	29	11	
7 dias					0,4571
Cont	0	5	8	7	
Csa1	0	1	9	10	
Csa2	0	3	10	7	
Total	0	9	27	24	
14 dias					0,0015
Cont	0	0	3	17	
Csa1	2	1	0	17	
Csa2	3	7	3	7	
Total	5	8	6	41	
21 dias					0,1456
Cont	1	0	1	18	
Csa1	0	0	5	15	
Csa2	0	2	2	16	
Total	1	2	8	49	
28 dias					0,4232
Cont	1	0	0	19	
Csa1	0	1	0	19	
Csa2	0	0	1	19	
Total	1	1	1	57	

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9% K-W = Teste de Kruskal-Wallis

AVALIAÇÕES SOB MICROSCOPIA ÓTICA:

Os resultados da avaliação categorizada da área ocupada por colágeno, em suas várias formas e estágios de maturação, através do microscópio ótico, mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa, em nenhum dos tempos experimentais, entre os diferentes tipos de tratamento empregados (tabela 10).

Tabela 10 - Avaliação do índice de ocupação de área pelo colágeno (Média das leituras) como avaliado por meio do exame em microscopia ótica em cortes corados pelo HE. Foi usado teste de Kruskal-Wallis (K-W= 3,636) e os valores do teste para significância de 5% e 1% foram, respectivamente, 5,990 e 9,210 (n =276 hemi-mandíbulas).

Droga	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Cont	3,0	2,4	1,7	1,0	0,8
Csa1	2,9	2,5	2,2	0,6	1,1
Csa2	2,4	2,8	2,4	2,0	1,7
K-W	1,853	1,822	4,512	11,364	3,832

K-W = Teste de Kruskal-Wallis Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

Os resultados da quantificação de fibroblastos ao microscópio ótico mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa, em nenhum dos tempos experimentais, entre os diferentes tipos de tratamento empregados neste trabalho, como pode ser visto abaixo, na tabela 11.

Tabela 11 - Quantificação de fibroblastos (Média das leituras) avaliada por meio do exame em microscopia ótica em cortes corados pelo HE. Foi usado teste de Kruskal-Wallis (K-W= 3,636) e os valores do teste para significância de 5% e 1% foram, respectivamente, 5,990 e 9,210 (n=276 hemi-mandíbulas).

Droga	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Cont	2,9	1,9	1,3	1,0	0,8
Csa1	2,9	2,3	1,8	0,7	1,0
Csa2	2,4	2,7	2,4	1,8	1,8
K-W	1,235	8,057	8,205	8,401	5,483

K-W = Teste de Kruskal-Wallis Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

Os resultados da quantificação de osso neoformado ao microscópio ótico, mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa, em nenhum dos tempos experimentais, entre os diferentes tipos de tratamento empregados neste trabalho, como pode ser visto abaixo (tabela 12).

Tabela 12 - Quantificação de osso neoformado (Média das leituras) avaliada por meio do exame em microscopia ótica em cortes corados pelo HE. Foi usado teste de Kruskal-Wallis (K-W= 3,636) e os valores do teste para significância de 5% e 1% foram, respectivamente, 5,990 e 9,210 (n=276 hemimandíbulas).

Droga	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Cont	0,2	1,6	1,9	2,5	2,5
Csa1	0,0	1,3	2,2	2,7	2,5
Csa2	0,0	1,3	1,2	1,7	1,7
K-W	0,210	1,029	3,053	5,039	3,429

K-W = Teste de Kruskal-Wallis Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

A análise entre o nível de exposição óssea e o tratamento testado mostrou que a ciclosporina não influenciou de maneira significativa a presença desta característica, como pode ser visto na tabela 13.

Tabela 13 - Análise do nível de correlação entre exposição óssea no rebordo alveolar observada por meio de microscópio ótico e o uso de ciclosporina. O teste utilizado foi o teste t para proporções e o valor de referência foi 2,101 (n=300 hemimandíbulas).

	Média	Desvio		Valor do teste
3 dias				
Cont	77,78	192,03	csa2xcont	1,603
Csa1	100	0	csa1xcsa2	0
Csa2	100	0	csa1xcont	1,603
7 dias				
Cont	100	0	csa2xcont	0
Csa1	100	0	csa1xcsa2	0
Csa2	100	0	csa1xcont	0
14 dias				
Cont	90	90	csa2xcont	1,054
Csa1	100	0	csa1xcsa2	0
Csa2	100	0	csa1xcont	1,054
21 dias				
Cont	100	0	csa2xcont	0
Csa1	100	0	csa1xcsa2	0
Csa2	100	0	csa1xcont	0
28 dias				
Cont	100	0	csa2xcont	0
Csa1	100	0	csa1xcsa2	0
Csa2	100	0	csa1xcont	0

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

A análise da presença de restos radiculares, como observados no microscópio ótico, e o uso de ciclosporina, mostrou que havia diferença estatisticamente significante entre os grupos Csa1 e controle em 3 dias, entre Csa 2 e controle em 14 dias e entre Csa1 e Csa2 em 21 dias, como pode ser visto na tabela 14. Nos casos onde houve fratura dental a presença de fragmentos de raiz radicular pode ter ocasionado um atraso no reparo alveolar, de acordo com os resultados de SMITH (1974) e PIETROKOVSKI e MASSLER (1967).

Tabela 14 - Análise do nível de correlação entre a presença de restos radiculares no alvéolo observados por meio de microscópio ótico e o uso de ciclosporina. O teste utilizado foi o teste t para proporções e o valor de referência foi 2,101 (n=300 hemi-mandíbulas).

	Média	Desvio		Valor do teste
3 dias				
Cont	55,56	274,343	csa2xcont	-0,230
Csa1	10,44	103,890	csa1xcsa2	-1,939
Csa2	50	312,500	csa1xcont	-2,320
7 dias				
Cont	40	240	csa2xcont	0
Csa1	50	312,500	csa1xcsa2	0,425
Csa2	40	240	csa1xcont	0,425
14 dias				
Cont	30	210	csa2xcont	2,599
Csa1	70	210	csa1xcsa2	-0,520
Csa2	80	160	csa1xcont	1,952
21 dias				
Cont	50	312,500	csa2xcont	-0,875
Csa1	88,88	109,816	csa1xcsa2	3,292
Csa2	30	210	csa1xcont	1,892
28 dias				
Cont	60	240	csa2xcont	-0,196
Csa1	50	312,500	csa1xcsa2	-0,229
Csa2	55,55	274,355	csa1xcont	-0,425

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre a presença de ulceração, observada por meio de microscópio ótico, e o uso de ciclosporina, para os tempos 3, 14 e 28 dias, segundo o teste t para proporções conforme visto na tabela 15.

Tabela 15 - Análise do nível de correlação entre a presença de ulceração observada por meio de microscópio ótico e o uso de ciclosporina. O teste utilizado foi o teste t para proporções e o valor de referência foi 2,101 (n=300 hemi-mandíbulas).

	Média	Desvio		Valor do teste
3 dias				
Cont	100	0	csa2xcont	-4,899
Csa1	100	234,375	csa1xcsa2	4,899
Csa2	25	0	csa1xcont	0
7 dias				
Cont	100	0	csa2xcont	-1,581
Csa1	87,5	136,179	csa1xcsa2	0,435
Csa2	80	160	csa1xcont	-1,069
14 dias				
Cont	100	0	csa2xcont	-4,830
Csa1	30	210	csa1xcsa2	0
Csa2	30	210	csa1xcont	-4,830
21 dias				
Cont	100	0	csa2xcont	-1,581
Csa1	100	0	csa1xcsa2	1,581
Csa2	80	160	csa1xcont	0
28 dias				
Cont	0	0	csa2xcont	-2,121
Csa1	100	0	csa1xcsa2	2,121
Csa2	100	246,901	csa1xcont	0

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

O índice de cobertura epitelial avaliado no microscópio ótico mostrou que não houve diferenças estatisticamente significativas em relação aos tratamentos em função dos tempos avaliados, como visto na tabela 16.

Tabela 16 - Avaliação do índice de cobertura epitelial (Média das leituras) avaliada por meio do exame em microscopia ótica em cortes corados pelo HE. Foi aplicado teste de Kruskal-Wallis (K-W= 3,636) e os valores do teste para significância de 5% e 1% foram, respectivamente, 5,990 e 9,210 (n =276 hemi-mandíbulas).

Droga	3 dias	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Cont	1,6	2,0	1,9	2,0	1,9
Csa1	1,7	1,9	1,6	1,9	2,0
Csa2	1,0	1,9	1,1	1,7	1,9
K-W	3,636	0,238	2,766	0,534	0,182

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9% K-W = Teste de Kruskal-Wallis

O exame do nível de cobertura epitelial através do microscópio ótico (tabela 17) mostrou que a maioria das hemi-mandíbulas analisadas apresentavam cobertura epitelial completa (80,4%) e as hemi-mandíbulas do grupo controle apresentavam evolução comparativamente melhor que as do grupo Csa2. Não foi observado nenhum caso do grupo controle com ausência de recobrimento, mesmo nos grupos experimentais de menor tempo (3 dias). O grupo Csa2 apresentou o menor índice de cobertura epitelial total, cerca de 23,2%, quando comparado aos outros tratamentos. Apesar dessa tendência, não houve influência estatisticamente significativa da droga sobre o índice de cobertura epitelial. (Kruskal-Wallis = 3,636, p = 5,990).

Tabela 17 - Cobertura epitelial observada por meio de microscópio ótico nos três grupos experimentais (n=276 hemi-mandíbulas).

Droga	0 - n (%)	1 - n (%)	2 - n (%)
Cont	0 (0%)	6 (4,3%)	41 (29,8%)
Csa1	3 (2,2%)	3 (2,2%)	38 (27,5%)
Csa2	7 (5,1%)	8 (5,8%)	32 (23,2%)
Total	10 (7,2%)	17 (12,3%)	111 (80,4%)

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

A avaliação dos percentuais de revestimento epitelial dos alvéolos mostrou que não ocorreram diferenças significativas em relação ao uso da csa em função do tempo, como visto na tabela 18.

Tabela 18 - Percentuais de revestimento epitelial do alvéolo como avaliado através do microscópio ótico, em cortes corados pelo HE. Foram usados o teste de variâncias F e teste de médias t (n=276 hemi-mandíbulas).

	Média ± desvio padrão		F	Teste t
3 dias				
Cont	55,53 ± 45,52	csa2xcont	0,6399	0,5238
Csa1	77,78 ± 44,10	csa1xcsa2	0,6968	0,1042
Csa2	41,64 ± 37,18	csa1xcont	0,9306	0,3079
7 dias				
Cont	100,00 ± 0,00	csa2xcont	0,0000	0,0000
Csa1	91,42 ± 24,28	csa1xcsa2	0,0612	0,5992
Csa2	96,12 ± 12,26	csa1xcont	0,0000	0,0000
14 dias				
Cont	94,73 ± 15,82	csa2xcont	0,0037	0,1611
Csa1	80,00 ± 42,16	csa1xcsa2	0,8695	0,6788
Csa2	71,62 ± 44,47	csa1xcont	0,0051	0,3037
21 dias				
Cont	100,00 ± 0,00	csa2xcont	0,0000	0,0000
Csa1	100,00 ± 0,00	csa1xcsa2	0,0000	0,0000
Csa2	83,51 ± 35,54	csa1xcont	0,0000	0,0000
28 dias				
Cont	93,20 ± 21,51	csa2xcont	0,0000	0,0000
Csa1	100,00 ± 0,00	csa1xcsa2	0,0000	0,0000
Csa2	94,12 ± 17,64	csa1xcont	0,0000	0,0000

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9% F = teste de variância F
t = teste de médias t

AVALIAÇÕES SOB MICROSCOPIA COMPUTADORIZADA:

A presença de vasos sangüíneos neoformados avaliada por meio de microscopia computadorizada mostrou que a ciclosporina não interferiu em sua presença. Nos aspectos gerais, a área ocupada por vasos sangüíneos neoformados não se mostrou influenciada pelo tempo, como se observa na tabela 19.

A interação dos tempos e das drogas sobre a área ocupada por espaços vazios (tabela 20) nos sete campos alveolares, estudados através de microscopia ótica com auxílio de computador, mostrou que não houve influência significativa de sua presença com a interação droga e tempo, bem como o efeito isolado dos tratamentos aplicados. No três níveis cervicais a área que corresponde aos espaços vazios foi significativamente maior em 28 dias quando comparada aos demais tempos.

A interação do efeito de tempo e do tratamento sobre a área ocupada por raiz residual nos sete campos alveolares, avaliados através de microscopia ótica computadorizada, não mostrou diferenças estatisticamente significativas, como pode ser visto na tabela 21.

Tabela 19 - Efeito de tempo e tratamento sobre a área ocupada por vasos sanguíneos neoformados, em μm^2 , nos sete campos alveolares estudados através de microscopia ótica com auxílio de computador, em cortes corados pelo HE (n=268 hemi-mandíbulas). Teste de Tukey com nível de significância de 5%. Letras maiúsculas são comparações de médias entre tratamentos e letras minúsculas comparam médias entre tempos. Letras diferentes significam médias com diferença estatisticamente significativa.

	Média	Cont	Csa1	Csa2
Apical				
03 dias	904,55±1231,45 ^{a,b}	750,82±1276,08 ^{a,A}	1259,74±1173,09 ^{a,A}	677,91±1315,67 ^{a,A}
07 dias	1049,94±1039,77 ^{a,b}	1220,76±1233,84 ^{a,A}	779,07±615,63 ^{a,A}	1161,13±1225,87 ^{a,A}
14 dias	1361,55±1530,75 ^a	2127,42±1953,20 ^{a,A}	877,09±1171,72 ^{a,A}	1009,80±1026,27 ^{a,A}
21 dias	483,12±753,41 ^{a,b}	313,02±885,36 ^{a,A}	671,96±884,46 ^{a,A}	417,18±385,54 ^{a,A}
28 dias	406,01±734,99 ^b	224,11±481,08 ^{a,A}	675,52±1059,02 ^{a,A}	357,86±592,07 ^{a,A}
Média		957,11±1414,98 ^A	851,55±975,76 ^A	744,86±996,40 ^A
Lingual-Médio				
03 dias	301,32±535,41 ^a	474,54±715,69 ^{a,A}	270,36±428,31 ^{a,A}	141,27±399,58 ^{a,A}
07 dias	197,04±485,37 ^a	100,83±318,84 ^{a,A}	421,64±730,90 ^{a,A}	54,38±108,05 ^{a,A}
14 dias	296,68±1027,35 ^a	622,51±1589,99 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	260,22±736,02 ^{a,A}
21 dias	198,96±554,53 ^a	481,72±855,23 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	164,90±466,41 ^{a,A}
28 dias	89,48±268,54 ^a	223,71±398,67 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
Média		374,36±885,74 ^A	141,48±411,00 ^A	125,52±418,83 ^A
Médio				
03 dias	41,18±107,45 ^a	49,18±147,53 ^{a,A}	45,48±94,41 ^{a,A}	27,01±76,39 ^{a,A}
07 dias	376,23±1050,07 ^a	397,94±1045,21 ^{a,A}	565,46±1442,82 ^{a,A}	141,86±425,57 ^{a,A}
14 dias	346,88±1071,91 ^a	572,05±1298,86 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	499,00±1411,39 ^{a,A}
21 dias	212,56±581,22 ^a	220,86±624,68 ^{a,A}	143,79±316,42 ^{a,A}	290,22±820,85 ^{a,A}
28 dias	192,77±478,37 ^a	354,06±715,81 ^{a,A}	44,49±125,82 ^{a,A}	131,84±226,47 ^{a,A}
Média		328,72±859,42 ^A	167,18±690,68 ^A	218,24±742,96 ^A
Vestibular-Médio				
03 dias	459,56±459,56 ^a	519,99±570,19 ^{a,A}	348,16±414,38 ^{a,A}	120,93±299,82 ^{a,A}
07 dias	748,38±748,38 ^a	307,83±505,99 ^{a,A}	812,36±963,40 ^{a,A}	309,04±648,14 ^{a,A}
14 dias	793,78±793,78 ^a	525,66±1238,83 ^{a,A}	133,97±356,74 ^{a,A}	225,08±418,27 ^{a,A}
21 dias	940,23±940,23 ^a	997,60±1539,42 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
28 dias	210,93±210,93 ^a	132,67±253,61 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	98,51±226,63 ^{a,A}
Média		474,94±927,42 ^A	268,01±577,96 ^A	155,98±395,45 ^A
Lingual-Cervical				
03 dias	242,93±666,33 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	464,14±986,44 ^{a,A}	267,35±578,07 ^{a,A}
07 dias	153,21±413,80 ^a	26,78±84,69 ^{a,A}	266,00±608,51 ^{a,A}	168,36±372,20 ^{a,A}
14 dias	47,29±169,26 ^a	47,31±99,80 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	106,37±300,86 ^{a,A}
21 dias	131,49±428,52 ^a	289,52±746,15 ^{a,A}	110,24±197,44 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
28 dias	312,30±730,65 ^a	223,80±461,25 ^{a,A}	487,73±1079,09 ^{a,A}	238,22±630,28 ^{a,A}
Média		112,66±377,94 ^A	251,95±680,58 ^A	154,31±418,38 ^A
Cervical				
03 dias	380,74±931,04 ^{ab}	131,58±269,63 ^{a,A}	520,24±866,29 ^{a,A}	504,09±1425,79 ^{a,A}
07 dias	399,77±703,45 ^a	442,63±684,20 ^{a,A}	190,80±384,18 ^{a,A}	584,34±971,62 ^{a,A}
14 dias	36,13±191,18 ^b	0,00±0,00 ^{a,A}	101,16±319,90 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
21 dias	233,03±603,92 ^{ab}	686,20±970,98 ^{a,A}	56,91±120,58 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
28 dias	119,45±276,35 ^{ab}	164,12±391,26 ^{a,A}	29,76±84,17 ^{a,A}	158,16±227,58 ^{a,A}
Média		271,09±579,91 ^A	178,92±463,23 ^A	259,97±795,35 ^A
Vestibular-Cervical				
03 dias	73,06±223,47 ^a	211,06±351,13 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{b,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
07 dias	529,60±1199,94 ^a	96,60±305,46 ^{a,A}	1047,74±1739,67 ^{a,A}	435,12±974,53 ^{a,A}
14 dias	66,68±282,04 ^a	186,71±462,31 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{b,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
21 dias	443,90±1190,97 ^a	606,40±1635,03 ^{a,A}	130,14±411,54 ^{a,b,A}	673,60±1394,11 ^{a,A}
28 dias	170,92±321,12 ^a	73,06±158,51 ^{a,A}	338,09±432,51 ^{a,b,A}	119,68±316,64 ^{a,A}
Média		219,46±726,27 ^A	308,16±904,94 ^A	253,54±795,28 ^A

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

Tabela 20 - Efeito de tempo e tratamento sobre a área ocupada por espaços vazios, em μm^2 , nos sete campos alveolares estudados através de microscopia ótica com auxílio de computador, em cortes corados pelo HE (n=268 hemi-mandíbulas). Teste de Tukey com nível de significância de 5%. Letras maiúsculas são comparações de médias entre tratamentos e letras minúsculas comparam médias entre tempos. Letras diferentes significam médias com diferença estatisticamente significativa.

	Média	Cont	Csa1	Csa2
Apical				
03 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
07 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
14 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
21 dias	64,32±327,96 ^a	209,03±591,24 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
28 dias	70,68±353,41 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	252,44±667,89 ^{a,A}
Média		35,58±243,93 ^A	0,00±0,00 ^A	44,18±279,40 ^A
Lingual-Médio				
03 dias	99,48±507,24 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	323,30±914,43 ^{a,A}
07 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
14 dias	309,68±925,55 ^a	347,70±1099,51 ^{a,A}	519,41±1106,93 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
21 dias	124,38±441,15 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	323,38±684,90 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
28 dias	242,81±777,93 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	758,79±1275,71 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
Média		73,98±507,17 ^A	308,47±814,53 ^A	64,66±408,95 ^A
Médio				
03 dias	191,54±976,67 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	622,51±1760,72 ^{a,A}
07 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
14 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
21 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
28 dias	461,07±2294,52 ^a	1152,67±3626,82 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
Média		245,25±1673,60 ^A	0,00±0,00 ^A	124,50±787,42 ^A
Vestibular-Médio				
03 dias	128,17±653,54 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	416,55±1178,18 ^{a,A}
07 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
14 dias	444,36±1424,41 ^a	545,14±1723,87 ^{a,A}	699,06±1690,03 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
21 dias	390,95±1080,38 ^a	212,56±601,20 ^{a,A}	77,17±244,02 ^{a,A}	961,59±1783,66 ^{a,A}
28 dias	942,52±2609,24 ^a	1147,47±3628,61 ^{a,A}	1511,04±2257,38 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
Média		396,31±1846,83 ^A	422,35±1291,62 ^A	275,63±983,63 ^A
Lingual-Cervical				
03 dias	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
07 dias	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
14 dias	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
21 dias	408,10±1282,64 ^{a,b}	203,16±574,63 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	1123,17±2162,20 ^{a,A}
28 dias	1263,76±2965,42 ^a	1763,64±3874,82 ^{a,A}	880,40±2095,30 ^{a,A}	987,80±2613,47 ^{a,A}
Média		409,82±1870,71 ^A	149,85±883,14 ^A	397,50±1470,30 ^A
Cervical				
03 dias	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
07 dias	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
14 dias	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
21 dias	441,33±2250,37 ^{a,b}	0,00±0,00 ^{a,A}	1147,47±3628,61 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
28 dias	1129,24±2768,08 ^a	1804,45±3975,90 ^{a,A}	691,20±1484,90 ^{a,A}	665,27±1760,13 ^{a,A}
Média		383,93±1910,51 ^A	361,79±1774,04 ^A	116,42±736,31 ^A
Vestibular-Cervical				
03 dias	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
07 dias	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
14 dias	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
21 dias	0,00±0,00 ^b	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}	0,00±0,00 ^{a,A}
28 dias	823,65±2637,74 ^a	1314,34±3608,29 ^{a,A}	53,23±150,56 ^{a,A}	1003,16±2654,12 ^{a,A}
Média		279,65±1686,11 ^A	9,06±62,12 ^A	175,55±1110,30 ^A

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%

Tabela 21 - Efeito de tempo e tratamento sobre a área ocupada por raiz residual, em μm^2 , nos sete campos alveolares estudados através de microscopia ótica com auxílio de computador, em cortes corados pelo HE (n=268 hemi-mandíbulas). Teste de Tukey com nível de significância de 5%. Letras maiúsculas são comparações de médias entre tratamentos e letras minúsculas comparam médias entre tempos. Letras diferentes significam médias com diferença estatisticamente significativa.

	Média	Cont	Csa1	Csa2
Apical				
03 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}
07 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}
14 dias	114,35±605,10 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	400,24±1132,04 ^{aA}
21 dias	348,55±1302,43 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	650,03±2055,56 ^{aA}	320,25±596,73 ^{aA}
28 dias	661,84±1603,00 ^a	472,82±1495,18 ^{aA}	683,74±1933,90 ^{aA}	906,85±1559,33 ^{aA}
Média		100,60±689,68 ^A	254,68±1225,85 ^A	302,80±880,61 ^A
Lingual-Médio				
03 dias	447,55±1600,26 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	1454,55±2733,47 ^{aA}
07 dias	329,08±1558,41 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	954,33±2625,42 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}
14 dias	2602,18±3952,38 ^a	3442,55±4581,67 ^{aA}	2408,99±3943,43 ^{aA}	1793,21±3385,35 ^{aA}
21 dias	1848,41±3198,67 ^a	1899,39±2826,87 ^{aA}	2712,52±4127,33 ^{aA}	717,29±2028,81 ^{aA}
28 dias	1574,67±3164,68 ^a	1752,59±3289,75 ^{aA}	2444,29±4161,26 ^{aA}	326,63±864,19 ^{aA}
Média		1428,65±3037,54 ^A	1708,78±3387,30 ^A	850,17±2174,58 ^A
Médio				
03 dias	2015,13±4304,76 ^a	1274,96±3824,89 ^{aA}	2549,93±5059,85 ^{aA}	2246,16±4366,86 ^{aA}
07 dias	3529,80±5150,26 ^a	2294,93±4838,15 ^{aA}	4180,41±5247,80 ^{aA}	4178,96±5567,60 ^{aA}
14 dias	2856,40±4711,51 ^a	3714,57±5382,38 ^{aA}	2798,91±4804,34 ^{aA}	1855,54±4061,64 ^{aA}
21 dias	3785,08±5302,26 ^a	4747,72±5698,81 ^{aA}	2600,64±4773,17 ^{aA}	4303,00±5938,71 ^{aA}
28 dias	3763,52±5417,91 ^a	1147,47±3628,61 ^{aA}	4589,34±5753,94 ^{aA}	6556,95±6133,47 ^{aA}
Média		2575,03±4712,15 ^A	3307,74±4957,92 ^A	3768,67±5251,59 ^A
Vestibular-Médio				
03 dias	1017,07±2570,20 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	3305,47±3866,23 ^{aA}
07 dias	1052,95±3047,62 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	1549,77±3709,37 ^{aA}	1670,87±3860,66 ^{aA}
14 dias	2224,68±3982,59 ^a	3883,80±5312,93 ^{aA}	1928,18±3453,87 ^{aA}	521,41±1474,78 ^{aA}
21 dias	975,55±2619,78 ^a	254,21±719,03 ^{aA}	1818,58±3839,10 ^{aA}	643,10±1818,97 ^{aA}
28 dias	673,23±2372,40 ^a	1147,47±3628,61 ^{aA}	390,54±1104,60 ^{aA}	318,82±843,53 ^{aA}
Média		1113,75±3238,31 ^A	1193,39±2952,30 ^A	1325,74±2841,78 ^A
Lingual-Cervical				
03 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}
07 dias	358,24±1929,17 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	1154,32±3462,94 ^{aA}
14 dias	692,27±2033,97 ^a	1819,28±3172,85 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	148,85±421,02 ^{aA}
21 dias	1276,97±3012,79 ^a	1051,74±2974,78 ^{aA}	1200,53±2546,23 ^{aA}	1597,76±3879,24 ^{aA}
28 dias	485,61±1757,22 ^a	784,65±2481,28 ^{aA}	536,71±1518,03 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}
Média		733,05±2239,99 ^A	346,78±1363,70 ^A	609,04±2376,55 ^A
Cervical				
03 dias	882,67±3118,20 ^a	1274,96±3824,89 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	1434,33±4056,91 ^{aA}
07 dias	623,75±2421,12 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	2009,86±4169,21 ^{aA}
14 dias	1019,94±2790,80 ^a	397,89±1258,24 ^{aA}	829,20±2622,17 ^{aA}	2035,91±4169,10 ^{aA}
21 dias	1975,11±4266,11 ^a	2868,67±5311,74 ^{aA}	1147,47±3628,61 ^{aA}	2116,09±4235,77 ^{aA}
28 dias	1510,40±3664,86 ^a	2294,93±4838,15 ^{aA}	1763,54±3599,03 ^{aA}	100,33±265,46 ^{aA}
Média		305,37±3593,73 ^A	720,74±2517,60 ^A	1587,05±3662,25 ^A
Vestibular-Cervical				
03 dias	111,15±566,76 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	361,24±1021,73 ^{aA}
07 dias	292,43±1574,78 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	942,27±2826,82 ^{aA}
14 dias	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}
21 dias	1210,59±3452,11 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	2294,93±4838,15 ^{aA}	1065,76±3014,42 ^{aA}
28 dias	112,25±561,24 ^a	0,00±0,00 ^{aA}	350,78±992,15 ^{aA}	0,00±0,00 ^{aA}
Média		0,00±0,00 ^A	547,99±2364,12 ^A	497,41±1915,30 ^A

Csa1 = Csa 10mg/dia/kg de peso Csa2 = Csa 20mg/dia/kg de peso Cont = NaCl 0,9%