

ROSIMAR DE CASTRO BARRETO

**INTERAÇÃO DO EFEITO DO 5,5-DIFENIL - HIDANTOIN - SÓDICO
E DA INFLAMAÇÃO GENGIVAL EXPERIMENTAL EM RATOS
(RATTUS NORVERGICUS ALBINUS).**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, para obtenção do Grau de Mestre em Ciências (Farmacologia Aplicada à Clínica Odontológica.)

PIRACICABA
1979

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

... aos irmãos Oselmar, Josimar (in memorian),
Neurismar e Lourdemila;

... aos cunhados João Batista, José Maria, Ma
ria José e Conceição;

... aos amigos Roberto Coutinho, Cêlio Marinho,
Fernando Souto, Pedro Macedo, Rubens August
to de Souza e Olavo Montenegro,

... ofereço esse trabalho.

Ao meu mestre, orientador e amigo Prof. Doutor Aparecido do Nascimento, a quem devo estes ensinamentos, pela sua valiosa assistência, estímulo e dedicação,

... o meu reconhecimento e gratidão.

Ao Prof. Doutor Antonio Carlos Neder, pela oportunidade que me proporcionou, dando-me as raízes e asas, no Estudo da Farmacologia, ampliando sobremaneira os horizontes da minha vida universitária,

... as minhas homenagens.

AGRADECIMENTOS

Deixo aqui o melhor dos meus agradecimentos a to
dos que, direta ou indiretamente contribuíram pa
ra a realização deste trabalho, em especial...

... Ao Dr. Newton Rodrigues da Silveira, Titular
da Disciplina de Terapêutica Buco-Dental do Curso
de Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal da Paraíba, pela indicação
na realização do Curso de Pós-Graduação;

... Ao Curso de Odontologia do Centro de Ciências
da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, a quem
devo a minha formação profissional;

... À Pró-Reitoria para Assuntos de Pós-Graduação
e Pesquisas da Universidade Federal da Paraíba, pe
la outorgação da bolsa do PICD;

... À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas, pelo Curso de
Pós-Graduação;

... Ao Magnífico Reitor da Universidade Federal da
Paraíba, Prof. Dr. Lynaldo Cavalcanti, pelo inte
resse e incentivo dispensado àqueles que se dedi
cam ao ensino e à pesquisa;

... Ao Digníssimo Diretor do Centro de Ciências
da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, Dr.
Noberto Nogueira de Castro, pela atenção dispensa
da;

... Aos Digníssimos: Coordenador do Curso de Odon

tologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, Dr. Robinson Peregrino Montenegro e ao Chefe do Departamento de Clínica e Odontologia Social, Dr. Espedito de Oliveira, o maior dos agradecimentos pelo apoio e solidariedade;

...Aos colegas professores do meu Departamento, Walkiria Torres, Gileno Cordeiro, Francisco de Assis Dias e Valdomiro D'Lourenço, pelo estímulo e amizade;

... Aos docentes da Disciplina de Farmacologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, Profs. Thales Rocha de Mattos Filho, Samir Tufic Arbex, José Ranali, Amado Leonísio de Azevedo e Maria de Lourdes Garboggini da Gama, pela valiosa orientação nos passos iniciais da minha carreira universitária;

... Aos colegas do Curso de Pós-Graduação: Walter Rocha, Eduardo Dias de Andrade, Sebastião de Souza Filho e Ondina de Souza Terra, pela constante ajuda, convivência e solidariedade;

... Aos senhores Moysés José Maria da Silva e Antonio Kerches de Campos, funcionários das Disciplinas de Farmacologia e Patologia Buco-Dental da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela colaboração na execução dos procedimentos experimentais;

... Ao Prof. Dr. Lourenço Bozzo, Titular da Disciplina de Patologia Buco-Dental da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela correção e ensinamentos dos estudos histopatológicos;

... À Prof^a Dr^a Sônia Vieira, Titular da Disciplina de Bioestatística da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela orientação e correção dos estudos estatísticos;

... Ao Sr. Ulysses de Oliveira Martins, Técnico de Laboratório da Disciplina de Farmacologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela ajuda na parte experimental e excelentes serviços datilográficos;

... À Sr^a Sônia Maria Aparecida Simionato Victória, pela montagem e organização dos processos;

... À Sr^a Ivany do Carmo Guidolin Gerola, Bibliotecária-Chefe da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela revisão da listagem bibliográfica;

... Ao Sr. José Vitti, pelas montagens fotográficas;

... Ao Sr. Sebastião Rodrigues de Barros, pelos serviços de impressão e encadernação.

Í N D I C E

INTRODUÇÃO	Pag.	01
REVISTA DA BIBLIOGRAFIA	Pag.	02
MATERIAL E MÉTODOS	Pag.	15
RESULTADOS	Pag.	22
DISCUSSÃO	Pag.	42
CONCLUSÕES	Pag.	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Pag.	49

*

*

*

INTRODUÇÃO

Vários estudos experimentais em animais e de observações clínicas em humanos, nos dão conta de irrefutáveis relações entre irritantes locais e lesões periodontais. Também se sabe que após introdução do 5,5-difenil-hidantoin-sódico (DPH) como medicação anticonvulsivante por MERRITT & PUTNAM em 1938, KIMBALL em 1939, descreveu pela primeira vez o aumento gengival como um efeito colateral do medicamento. Nestes casos a placa dental induziria o aparecimento da inflamação gengival (STEIBERG & cols., 1974; CONARD & cols., 1975; STAPLE & cols., 1978), o que é considerado pelos pesquisadores como o fator talvez mais importante para o aparecimento de aumento gengival em pacientes sob terapêutica dilantínica.

Até o presente, esta patogenia do tecido periodontal não parece estar completamente esclarecida conforme o que se pode deduzir pela variedade de explicações propostas. Tal situação levou-nos à realização deste trabalho experimental em ratos, para testarmos a hipótese da importância da irritação local associada à administração do DPH no aparecimento de alteração gengival de natureza hiperplásica, com o que procuramos acrescentar alguma contribuição ao estudo deste complexo fenômeno.

REVISTA DA BIBLIOGRAFIA

I - Do grupo das Hidantoínas

Há muito a necessidade de uma medicação anticonvulsivante e agente anti-epiléptico constituía motivo de preocupação dos pesquisadores. Assim é que em 1916 WERNECKE (Apud AAS, 1963), utilizou pela primeira vez o 5,5-fenil-etil-hidantoin (NIRVANOL) como sedativo, o qual sofreu restrições devido a sua marcante toxicidade. Posteriormente, pela substituição de radicais químicos no anel da Hidantoína, foram surgindo outras drogas, assim como o 3-metil 5,5 fenil-etil-hidantoin (MESANTOINA), que embora possa, algumas vezes, ser bem superior ao 5,5-difenil-hidantoin-sódico (DILANTINA) no controle do grande mal e de outros tipos de crises, tem a desvantagem da sua toxicidade. Existe ainda, fazendo parte do grupo o 3-alil-5-isobutil-2-tio-hidantoína (ALBUTOÍNA), comparável à DILANTINA, e tão potente quanto ela no controle das crises do grande mal, mas diferindo pelo seu maior efeito colateral, a sonolência e também pela maior supressão das descargas de potenciais do eletro-encefalograma (EEG); uma outra é o 3-etil-5-fenil-hidantoina (ETOTOÍNA), substância de baixa potência, empregada na maioria das vezes, como auxiliar de outros anti-convulsivantes no tratamento do grande mal (GOODMAN & GILMAN, 1973).

A estrutura do difenil-hidantoin-sódico (DPH) principal representante do grupo das hidantoínas, está intimamente relacionada com os barbitúricos, os mais antigos e potentes anticonvulsivantes conhecidos. Quimicamente o DPH é uma ureida cíclica de núcleo pentagonal, resultante da condensação de uma molécula de uréia com uma de ácido gli

cólico, por isso sendo também chamada de glicolilurêia (CORBETT, 1966) (Fig. 1). Seu nome oficializado e inscrito em todas as farmacopéias é FENITOÍNA, e o patenteado é DILANTINA. É obtida por síntese a partir do benzaldeído, que na presença de NaCN, se transforma em benzoína (I). Esta é em seguida oxidada com HNO₃ diluído, formando o benzilo (II), que condensado com urêia em meio alcoólico com potassa cáustica sofre um rearranjo molecular e forma a FENITOÍNA (MINGOIA, 1967) (Fig. 2).

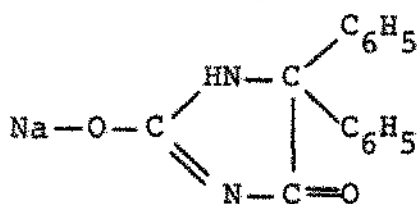


FIGURA 1 - Fórmula Estrutural do 5,5-Difenil-Hidantoin-Sódico

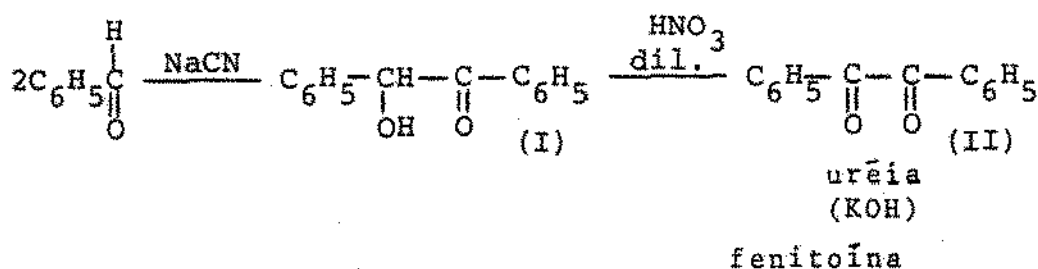
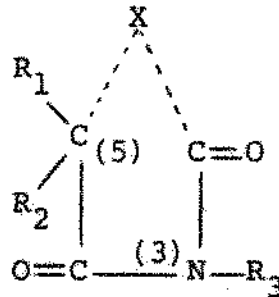


FIGURA 2 - Síntese de Obtenção da FENITOÍNA

A relação estrutura-atividade das hidantoínas foi extensivamente estudada por TOMAN & GOODMAN, (1948), WARE, (1950), TOMAN & TAYLOR, (1952), CLOSE & SPIELMAN, (1961)

(apud GOODMAN & GILMAN, 1973). Constataram que um radical fenil ou seu equivalente aromático no C₅, parece ser essencial para a atividade contra o grande mal clínico e para a supressão do padrão crítico máximo de convulsões por ele trochoque em animais de laboratório. Substitutos alquílicos nesta mesma posição contribuem para a sedação, propriedade ausente no difenil-hidantoin-sódico (Quadro 1.1).



SUBSTITUÍNTES			X	NÚCLEOS E SUBSTÂNCIAS	USOS TÍPICOS	DOSE TÍPICA (gramas)
R ₁	R ₂	R ₃				
Hidantoínas						
C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	H	-NH-	Difenil-Hidantoina	GM, PS	0,5
C ₆ H ₅	H	C ₂ H ₅	"	Etotoína	GM	2,0
C ₆ H ₅	C ₂ H ₅	CH ₃	"	Mefenitoína	GM, PS	0,6

QUADRO 1 - Estrutura comum das Hidantoínas
Principais representantes. Uso anti-epilêptico e Doses.

Em resumo, o mecanismo básico de ação do DPH é promover o efluxo do íon sódio das células cerebrais, assim como impedir o influxo desse íon para tais células. Desta forma o DPH estabiliza as membranas excitáveis contra a estimulação excessiva e alterações do meio interno,

capazes de determinar aumento da concentração intra-celular do íon sódio.

O difenil-hidantoin-sódico é absorvido de forma satisfatória no tracto gastrointestinal, e o princípio de sua ação seja qual for a via de administração, é um pouco mais lento do que no caso dos barbitúricos mais solúveis. A duração de sua ação é relativamente longa, o que sugere uma fixação da substância no tecido nervoso, como foi demonstrado por FIREMARK & cols., (1963) usando difenil-hidantoin marcado, em experimento com gatos.

HINE & KOZELKA, (1941) verificaram que após a administração de 50 mg/kg de DPH, em coelhos, a concentração da droga no fígado era consideravelmente maior que em outros tecidos, durante o período das 10 primeiras horas. No cérebro e nos rins decrescia rapidamente nas 4 primeiras horas, mas persistia fracamente no sangue dos músculos, sugerindo que 16 horas seriam, aproximadamente, o tempo necessário para a completa eliminação da droga do organismo.

Os produtos metabólicos do DPH foram estudados em ratos por NOACH & cols. (1958), introduzindo ^{14}C no C_5 do anel da hidantoína, confirmando o trabalho de SWINYARD & cols., (1952) de que o fígado é o principal local de desintoxicação, aparecendo na bile apenas 2% da substância na forma inalterada. Os metabólitos são excretados pela bile no tubo gastrointestinal, sendo reabsorvidos e finalmente excretados na urina após novas alterações metabólicas. (Ciclo entero-hepático).

No homem, somente de 1 a 5% da administração tem sido encontrado inalterado na urina, assim como remanescentes metabólicos do ácido acético alfa-aminodifenil e 5-fenil-5-(p-hidroxifenil)-hidantoina (HPPH) BUTLER, 1957; MAYNERT, 1960; CONARD, 1972; BOCHNER, 1973; MENDES, 1973; HASSEL, 1978).

DILL & cols. (1956), observaram que em pacientes epilépticos que receberam medicação diária de DPH, por período superior a um ano, o nível da droga no plasma varia de 0,9 até 10,5 µg/ml, sendo, provavelmente, constante para cada indivíduo. Assim, por ajustamento individual da dose, é possível estabelecer o balanceamento entre a absorção e a eliminação da droga pelo organismo.

O difenil-hidantoin-sódico distribue-se na água corporal e as concentrações nos tecidos são semelhantes à concentração sérica. O DPH liga-se às proteínas plasmáticas, ficando 10% livres. Nesta ligação há grande variação, o que é, em parte, responsável pelas discrepâncias da proporção entre dose e nível sérico. A concentração sérica eficaz está entre 10 e 20 mg por litro. Concentrações mais elevadas devem ser evitadas mesmo na ausência de sinais neurológicos.

A elevação do nível sérico leva ao aumento da toxicidade do DPH. Assim BUCHTHAL & cols., (1960) e KUTT & cols., (1964) (Apud MENDES, 1973) referem que concentrações séricas: entre 15 e 30 mg por litro, provoca nistágmo ao olhar lateral, quando acima de 30 mg por litro, provoca ataxia, entre 30 e 40 mg por litro provoca nistágmo ao desvio dos olhos a 45° e em concentrações acima de 40 mg por litro leva ao aparecimento de alterações mentais com sedação, irritabilidade, incapacidade de concentração e fala ininteligível.

A dose para adultos é de 100 mg duas a três vezes ao dia; alguns pacientes exigem maior dose. Deve-se administrar no máximo 300 mg por tomada e 1 g por dia.

Crianças com mais de 6 anos devem tomar 100 mg por dia (no máximo 400 mg diários); com menos de 4 anos, a dose inicial é 30 mg duas vezes ao dia, podendo-se chegar ao máximo de 100 mg diários.

MERRITT & PUTNAM, (1938) foram os responsáveis pela introdução do difenil-hidantoin-sódico (DPH) como droga de uso frequente para tratamento sintomático da epilepsia. Desde então outros similares antiepilépticos foram introduzidos na clínica, porém o DPH tem mantido sua posição como um dos agentes mais efetivos, especialmente nos casos do grande mal e de epilepsia psicomotora. Tal descoberta deu-se como resultado de pesquisas planejadas visando a obtenção de novos compostos orgânicos capazes de suprimir as convulsões por eletrochoque em animais experimentais. Este evento constituiu um marco de progresso na terapêutica sintomática da epilepsia em virtude do DPH ter um rápido aproveitamento aparente e baixo poder de sedação, sem comprometer a consciência do paciente mesmo sob tratamento prolongado (BERGMANN, 1967).

AAS, (1963) e BERGMANN, (1967), esclareceram que o uso constante desta droga, apresenta manifestações tóxicas comuns a todos os pacientes, e fenômenos sensitivos individuais para alguns deles. Assim, podem aparecer manifestações como náuseas, vômitos, constipação, hipertricose, anorexia e perda de peso, perturbações gastrointestinais, pigmentação da pele, redução ou supressão de reflexos dos tendões e hiperplasia gengival.

II - Das alterações Gengivais Associadas à Administração do "DPH".

O desencadeamento de hiperplasia gengival como um efeito colateral da droga já fora descrito por KIMBALL, em 1939, logo após a sua descoberta por MERRITT & PUTINAM, em 1938. Há referência de que aproximadamente 40% dos pacientes

tes epilêpticos sob terapêutica dilantínica apresentam tal aumento gengival. (GARDNER & cols., 1962; AAS, 1963; BERGMANN, 1967).

Embora, em alguns casos, o aspecto da reação seja brando, em muitos, quando na forma severa, o tecido hiperplásico pode chegar a recobrir todos os dentes até a superfície oclusal, interferindo na mastigação dos alimentos e criando grandes problemas de estética (SHAFFER & cols., 1974; CARRANZA, 1976).

A importância da higiene bucal parece estar relacionada com a ocorrência da hiperplasia gengival, o que tem sido principal assunto de discussão (BERGMANN, 1967). Existem, todavia, opiniões divergentes, que relacionam o fato com a dosagem da droga, duração da medicação, idade do paciente e outros fatores locais e sistêmicos, dentre os quais têm sido relacionados: tratamento ortodôntico, próteses fixas e alterações hormonais da gravidez e da puberdade. (ANGELOPOULOS, 1975-a).

FRANKEL, (1940) e POLK, (1942), admitem que a incidência e severidade da hiperplasia gengival estejam relacionadas com a dose diária do DPH, com o que não concordam muitos outros autores como GLICKMAN & LEWITUS, (1941), ZISKIN & cols. (1941), ROBINSON, (1942), MACFARLANE & cols., (1942), STERN & cols., (1943), ESTERBERG & WHITE, (1945), STAPLE, (1953) e VAHR & MERRITT, (1956).

Grande número de investigadores têm considerado que o período de duração da medicação não apresenta nenhuma significância para o desenvolvimento da hiperplasia, (GLICKMAN & LEWITUS, 1941; MACFARLANE & cols., 1942; ESTERBERG & WHITE, 1945; STAPLE, 1953; PANUSKA & cols., 1961, enquanto outros têm atribuído relativa importância a esta condição. (ZISKIN & cols., 1941; STERN & cols., 1943; BHUSRV, 1963).

Muitos estudos sugerem que a incidência de hiperplasia é maior em crianças e adolescentes do que em adultos (ZISKIN & cols., 1941; POLK, 1942; ROBINSON, 1942; ESTERBERG & WHITE, 1945; BABCOCK & NELSON, 1964. Em contravérsia alguns admitem que a ocorrência não tenha nenhuma relação com a idade do paciente (MACFARLANE & cols., 1942; STERN & cols., 1943).

A higiene bucal e a presença de irritantes locais parecem estar intimamente relacionados com o desenvolvimento dessa condição patológica do tecido periodontal (BAER & BENJAMIN, 1974). Embora vários pesquisadores sejam contrários à hipótese da relação entre higiene bucal e hiperplasia gengival durante a medicação do DPH, (MILLHON & OSTERBERG, 1942; STERN & cols., 1943; ESTERBERG & WHITE, 1945), outros sustentam que o tratamento profilático começado ao mesmo tempo da medicação, previne e reprime o desenvolvimento da hiperplasia (ZISKIN & cols., 1941; BADEN, 1950; KERR, 1952).

Por outro lado, PANUSKA & cols. (1961) opinaram que a hiperplasia gengival por si pode ser uma razão para a pouca higiene bucal.

COLLINS & FRY, (1960) e ORBAN & cols. (1960), consideraram que as variações no desenvolvimento da reação gengival em epiléptico sob terapêutica dilantínica podem, em alguns casos, ser influenciadas pelos diferentes estados mentais, na medida que os pacientes débeis possam ser considerados sem habilidades para manter a higiene bucal satisfatória.

Para estudar as possíveis relações entre higiene bucal e tipo de dieta, KING & GIMSON (1947) fizeram estudo experimentais em furões (*Mustela Furo*). Os autores provocaram hiperplasia gengival e formação de cálculos em animais medicados com DPH e dieta de osso fresco; paralelamente ou

tros animais receberam osso seco de costela de cavalo como suplemento da dieta, ficando isentos de cálculos e de lesões gengivais por todo o período experimental, a despeito de dosagem idêntica e diária de DPH. Estes resultados sugeriram que as lesões podem ser prevenidas pela auto limpeza adequada dos dentes e gengivas. Contudo, outros experimentos realizados sem dieta específica e utilizando ratos brancos, camundongos e mesmo furões, foram feitos com resultados negativos (ENNEVER, 1946; SWENSON, 1953).

CONARD & cols. (1975) fizeram estudo em ratos que receberam dieta rica em carboidrato e que tiveram os molares superiores ligados com fio de seda (000) para propiciar o acúmulo de placa dental e irritação gengival. Estes pesquisadores admitiram que a qualidade, bem como a quantidade de placa dental, pode ser o fator crucial para o desenvolvimento da hiperplasia.

Baseados nestes fatos STAPLE & cols. (1978) relataram que em animais de laboratório, (Macaca Arctoide) quando mantidos sob dieta pastosa, facilitando o depósito de placa dental e em seguida medicados com DPH, a hiperplasia gengival aparecia mais severa nos locais onde a deposição de placa era maior. O espaço de tempo decorrido era considerado de evidente importância para o desenvolvimento da hiperplasia, porque possibilitava o espessamento do depósito de placa supra-gengival, o que aumentou o grau de inflamação da gengivite.

Segundo ISHIKAWA & GLICKMAN (1961), a remoção dos cálculos dentais e outras causas freqüentes de irritação local, reduzem a complicação inflamatória da alteração hiperplásica dilatínica, a qual, contudo, ainda persiste parcialmente. A inflamação gengival local teria assim alguma relação com esta alteração patológica observada. Averiguações levadas a efeito por BERGMANN, (1967) e ANGELOPOULOS,

(1975-a) evidenciaram que, nem todos os pacientes sob tratamento com o DPH exibem o aumento gengival característico, valendo salientar que, clinicamente, não ocorre em desdentados, os quais não possuem superfícies dentárias para propiciar acúmulo de placa dental. Isto comprova que a má higiene bucal e conseqüente presença de placa dental está relacionada com a gengivite crônica, da mesma forma que ocorre em pacientes não epiléticos, como foi demonstrado por LOE & cols. (1965). Assim, a inflamação decorrente da irritação pelos produtos de placa dental, parece ser um fator condicionante da hiperplasia gengival naqueles pacientes, como sugere o trabalho experimental de YAMADA & cols. (1977). Estes autores provocaram, experimentalmente, em ratos que receberam injeção intraperitonal de DPH, em doses crescentes, durante 65 dias, o desenvolvimento de aumento gengival, na região do 19 molar superior do lado direito, onde previamente efetuaram um tipo especial de preparo cavitário, para propiciar o acúmulo de placa dental.

Como demonstra a revisão bibliográfica, a procura da causa básica deste fenômeno gengival em pacientes sob terapêutica dilantínica, tem ensejado um número considerável de suposições. Alguns pesquisadores atribuem esta alteração gengival a uma reação de sensibilidade ao DPH (KWAIST, 1956; GAILLARD, 1957; BREG & FALCETTI, 1957; HOLOWACH & cols., 1958; FRANCIS & MELVILLE, 1959; INGLE & cols. 1959; ROBINSON & cols., 1965), enquanto outros admitem ser conseqüência da toxicidade da droga (BRANDON, 1948; NOACH & cols., 1958; BABCOCK & NELSON, 1964; BERGMANN, 1967; STEINBERG & cols., 1973).

GLICKMAN & SMULOW (1974) sugerem que a reação tóxica seja primária, ou mais especificamente uma reação local, desde que a saliva excretada poderia ter efeito diretamente sobre o tecido gengival, pois muitos autores rela

tam que a hiperplasia é mais severa nas adjacências das aberturas dos ductos salivares. BRANDON, (1948) opinou que a hiperplasia provavelmente fosse causada pela secreção de produtos metabólicos secundários, provenientes das glândulas salivares e que em contacto com o epitélio causariam a proliferação tecidual. Baseado nisto NOACH & cols. (1958); BABCOCK & NELSON, (1964); STEINBERG & cols., (1973); BOCHNER & cols. (1973); CONARD & cols., (1974); KASAI & cols., (1974), HASSEL & PAGE, (1978) encontraram uma alta concentração de DPH em glândulas salivares e saliva de animais de laboratório e sugeriram que isto poderia ser o fator etiológico da hiperplasia gengival associada ao difenil-hidantoin-sódico.

Na procura de condições sistêmicas possivelmente relacionadas com este tipo de aumento gengival, KIMBALL, (1939) analisou o ácido ascórbico contido no soro sanguíneo de numerosos pacientes epilêpticos, medicados com DPH e relatou que o grau de hiperplasia gengival era diretamente proporcional à deficiência daquela substância no sangue circulante. FRANKEL, (1940) observou um grupo variado de crianças e adultos, e relatou que o grau de hiperplasia era proporcional à dosagem de DPH, cujo aumento da dose, fazia diminuir o nível de ácido ascórbico do sangue e, como consequência as gengivas tornavam-se crescidas. Por outro lado GRUHZIT, (1939), THOMA, (1940), LENNOX, (1940), relataram que a hiperplasia gengival não tinha nenhuma relação com o nível de ácido ascórbico do sangue.

SIEGMUND, (1951) por sua vez postulou que a droga influenciava em certas áreas do SNC produzindo irritação do 2º e 3º segmentos bulbar. Dalí, através de vias neurais iria promover dilatação dos capilares das gengivas, seguido de exsudação de proteínas séricas, as quais produziriam o aumento da formação de colágeno. Em consequência deste estudo STREAN & LEONI, (1959) sugeriram que o DPH provocava

a ruptura dos capilares gengivais, ocorrendo hemorragia, a carretando irritação local e aumento de volume do tecido gengival.

BASSAS & cols., (1964) relataram que a vascularização terminal própria das gengivas favorece ao seu nível a localização dos produtos tóxicos do DPH e de germes, de terminando a obliteração dos capilares e, secundariamente, a flora saprófita bucal atuaria produzindo as alterações características da enfermidade hiperplásica.

STAPLE, (1952, 1953), WOODBURY, (1958), KRIEGER, (1962) sugeriram que o aspecto gengival pode ser consequência de uma resposta básica mediada via adrenal-pituitária bloqueando a liberação de ACTH ocasionando a redução do processo colagenolítico normal, o que é corroborado por HASSEL & cols., (1977) segundo os quais haveria inibição da colagenase produzida pelo fibroblasto gengival.

KWAST, (1956) encontrou grandes infiltrações de plasmócitos e na grande maioria dos casos também hipergamaglobulinemia. Baseado nesta descoberta supôs que a reação alérgica seria o princípio fundamental para o desenvolvimento da hiperplasia gengival em casos de tratamento com o DPH. FRANCIS & MELVILLE, (1959) estudaram a histamina e serotonina contidas no tecido gengival de animais de laboratório, admitindo e reforçando a possibilidade da hiperplasia ser o resultado de um fator alérgico à droga.

Concernente à aparência da hiperplasia hidantoinéa SHAFER, (1960) e NEASE, (1965) relataram que o DPH promovia a proliferação acelerando a atividade das células gengivais. Por outro lado SONI & cols. (1967), relataram que as mitoses do epitélio gengival eram suprimidas pelo DPH, fato também admitido por NOESS, (1969) que observou a inibição do crescimento celular pela ação da droga.

BARATIERY & SACCHI, (1967) observaram que a dis

tribuição de mastócitos no tecido conjuntivo sub-epitelial e estrato basal da gengiva, onde estas células apresentam evidente atividade, estava associada com o aumento de fibroblastos em resposta à administração de DPH. Fato este também relatado por ANGELOPOULOS, (1968) que investigou o papel dos mastócitos na patogenia da hiperplasia hidantônica e sugeriu que o DPH tinha efeito direto sobre os mesmos, resultando na degranulação e liberação dos seus constituintes citoplasmáticos ativos (histamina, heparina e ácido hialurônico) e que o fator de irritação local na gengiva, capaz de induzir inflamação, teria de algum modo ação similar sobre o mastócito gengival. Concluindo, o autor salientou que o efeito combinado da influência do DPH e o fator de irritação sobre o mastócito gengival poderia resultar no aparecimento da hiperplasia.

Em vista dos conhecimentos apresentados nesta revisão bibliográfica, objetivou-se nesta pesquisa, verificar, através dos aspectos macroscópicos, exame histopatológico e exame histométrico, em ratos, as alterações gengivais associadas à administração sistêmica do DPH e aplicação de irritante gengival.

MATERIAL E MÉTODOS

1 - Animais Utilizados

As experiências foram realizadas em 25 (vinte e cinco) ratos (*Rattus norvegicus albinus* "Wistar") machos, adultos, com peso que variavam entre 180 e 200 gramas. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

Durante os experimentos foram tratados com ração "CERES" (RAÇÃO CERES S/A) granulada, para animais de laboratório e receberam água "ad libitum".

2 - Drogas e Soluções Utilizadas

- 2.1 - Para o estudo experimental da hiperplasia gengival nos ratos, foi utilizado o difenilhidantoin-sódico (HIDANTAL^(R) INJETÁVEL), do Laboratório SYNTEX do Brasil S/A Ind. e Com.
- 2.2 - Para a anestesia dos animais foi utilizado o metoexital (BRIETAL^(R) SÓDICO), do Laboratório LILLY.
- 2.3 - Para a fixação das peças foi utilizada a solução tampão de formaldeído preparado a 10%, J. T. BAKER - Divisão de Química Moura Brasil S/A.
- 2.4 - Para desmineralização das peças foi utilizado o ácido Etilenodiamino Dissódico Tetracé

tico (EDTA), do Laboratório CARLO ERBA DO BRASIL S/A, preparado segundo WARSHAWSKY & MOORE, (1971) como segue:

(EDTA) - Sal dissódico 41,3 gramas
Hidróxido de Sódio 4,4 gramas
H₂O Destilada qsp 1000 ml

- 2.5 - Para a coloração dos cortes histológicos, foram utilizadas preparações rotineiras de H.E. (Hematoxilina-Eosina) e Tricrômico de MALLORY.

3 - Preparo Experimental dos Animais

3.1 - Colocação do Irritante Gengival

Os ratos, anestesiados com metoexital (BRIETAL SÓDICO), na dosagem de 40 mg/kg estabelecida por MATTOS FILHO, (1976) foram submetidos à colocação de um fio de seda pura (Guttermann) ao redor do 1º M.I.E. (molar-inferior-esquerdo), ao nível do sulco gengival, para atuar como irritante marginal da gengiva, conforme técnica empregada por JOHNSON, (1975).

4 - Sistematização da Pesquisa

Inicialmente os animais foram divididos em 2 (dois) grupos experimentais.

4.1 - *Grupo Experimental (I)* - Nesse grupo de 15 (quinze) ratos, foi aplicado irritante marginal na gengiva do 1º M.I.E.. A partir do 7º dia após a colocação do irritante, isto é, cessada a fase de irritação decorrente de manipulação, foram marcados para identificação e pesados, passando a receber diariamente, administração intraperitoneal de difenil-hidantoin-sódico (HIDANTAL^(R) INJETÁVEL) durante 10 (dez) semanas. No decorrer de todo o período experimental os animais foram pesados a cada 3 (três) dias, estabelecendo-se rigorosamente a dose em relação ao peso, bem como o mesmo intervalo de dosagem, e o volume injetado sempre foi inferior a 0,50 ml.

O local da injeção foi sempre mudado, para evitar na região contusões ou hemorragias. A agulha empregada foi a hipodérmica tuberculina (10 X 4,5).

A dosagem do difenil-hidantoin-sódico (HIDANTAL^(R) INJETÁVEL) foi aumentada em proporção aritmética ao final de cada 2 (duas) semanas, conforme esquema relacionado a baixo:

1 ^a e 2 ^a	semanas ...	2 mg/kg ...	DPH.. diariamente
3 ^a e 4 ^a	semanas ...	4 mg/kg ...	DPH.. diariamente
5 ^a e 6 ^a	semanas ...	6 mg/kg ...	DPH.. diariamente
7 ^a e 8 ^a	semanas ...	8 mg/kg ...	DPH.. diariamente
9 ^a e 10 ^a	semanas ...	10 mg/kg ...	DPH.. diariamente

4.2 - *Grupo Experimental (II)* - Neste grupo constituido de 10 (dez) ratos, foi aplicado irritante marginal da gengiva no 1º M.I.E. Os animais não receberam nenhuma medicação sistêmica e permaneceram pelo mesmo período experimental de 77 (setenta e sete) dias.

5 - *Sacrifício dos Animais*

Ao término do período experimental, todos os ratos foram sacrificados com golpe occipital, e as mandíbulas removidas e fixadas.

6 - *Sub-divisão dos Grupos Experimentais*

6.1 - Do Grupo Experimental (I), obtivemos os subgrupos A e B.

a) *Sub-grupo A* - Representado pela lado direito da mandíbula, sem irritante marginal e com administração sistêmica do medicamento (HIDANTAL^(R) INJETÁVEL).

b) *Sub-grupo B* - Representado pelo lado esquerdo da mandíbula, com irritante marginal no 1º M. I.E. e administração sistêmica do medicamento. (IRRITANTE + HIDANTAL^(R) INJETÁVEL).

6.2 - Do Grupo Experimental (II), obtivemos os sub

grupos C e D.

- c) *Sub-grupo C* - Representado pelo lado direito da mandíbula, sem irritante marginal e sem administração sistêmica do medicamento (CONTROLE)
- d) *Sub-grupo D* - Representado pelo lado esquerdo da mandíbula, com irritante marginal no 1º M. I.E. e sem administração sistêmica do medicamento (IRRITANTE).

7 - Observações dos Aspectos Macroscópicos

Os sub-grupos foram levados ao microscópio este reoscópico ZEISS para observação das características macroscópicas e clínicas. As gengivas foram fotografadas com filme Kodak de 125 ASA e aumento aproximado de 8 X. As ligaduras de sêda foram removidas, e as peças mantidas no fixador.

8 - Preparo e Inclusão das Peças

Tendo sido feitas as devidas observações macroscópicas de todos os sub-grupos, as peças foram desmineralizadas em ácido etilenodiamino dissódico tetracético (EDTA) durante 40 dias. Em seguida foram processadas para inclusão em parafina e cortadas em secções seriadas de 7 (sete) micras, seguindo o eixo longitudinal do dente e sentido vestibulo-lingual do 1º molar. Foram feitas colorações com H.

E. (Hematoxilina-Eosina) e o tricrômico de MALLORY.

9 - Exame Histopatológico

No exame histopatológico, as lâminas foram observadas ao microscópio de luz transmitida ordinária, para averiguação e obtenção de fotos dos aspectos morfológicos, em fotomicroscópio ZEISS com filme Kodak de 125 ASA.

10 - Exame Histométrico

10.1 - Determinação Quantitativa do Percentual de Fibroblastos e da Densidade de Fibras Colágenas Gengivais.

Para a determinação do número de fibroblastos e da densidade de fibras colágenas gengivais foi usada a lente ocular integradora (Kpl-W 10 X) em imersão e aumento aproximado de 1000 X.

A computação foi feita com base no número de impactos sobre núcleos de fibroblastos e sobre feixes de fibras de colágeno coradas com tricrômico de MALLORY.

Estas contagens foram feitas em regiões do tecido conjuntivo afastado do epitélio do sulco gengival, ou seja área em que, ao exame com microscopia óptica ainda não eram observadas alterações morfológicas. Esta região selecionada apresentava predominância absoluta de fibroblastos.

De cada sub-grupo foram tomadas amostras de 10 (dez) animais diferentes e examinada uma lâmina de cada um

deles. Em cada lâmina foram computados 3 (três) campos, em cada um dos quais as contagens foram feitas com a ocular em posições distintas de 0° , 15° e 30° , perfazendo um total de 9 (nove) contagens para cada lâmina observada. Assim, no cômputo geral foram totalizadas 360 (trezentas e sessenta) contagens.

RESULTADOS

1 - Comportamento dos animais

Durante o período de 70 dias, em que os animais do grupo experimental I, permaneceram recebendo medicação diária à base de difenil-hidantoin-sódico (DPH), algumas ocorrências características foram observadas.

Logo após a administração do medicamento, os animais desse grupo mostraram-se mais dóceis do que os do grupo experimental II, que não foram medicados com DPH; entre tanto nos 5 (cinco) primeiros dias todos os animais medicados apresentaram perturbações gastrointestinais (diarréia). Na segunda semana da medicação os mesmos começaram a apresentar perda de peso razoavelmente acentuada, o que foi estabilizado à medida que os animais iam se habituando às dosagens. Com relação ao local da injeção diária nenhuma alteração foi observada na região, nem também na pelagem dos animais.

2 - Observações dos aspectos macroscópicos das gengivas

2.1 - Grupo Experimental I

Os elementos desse grupo, constituído de 15 (Quinze) animais, que receberam administração intraperitoneal do difenil-hidantoin-sódico, e que, após o término da medicação, forneceram os sub-grupos A e B, apresentaram as se

guintes características clínicas.

As amostras do sub-grupo A representadas pelo lado direito da mandíbula, sem irritante marginal e com administração sistêmica da droga, não exibiram anormalidade observável. As gengivas neste caso mostraram-se aparentemente semelhantes às amostras do sub-grupo controle C, do grupo experimental II, que não receberam o medicamento (Fig. 6).

Por outro lado, as amostras do sub-grupo B, representadas pela porção da hemi-mandíbula esquerda, e que tiveram aplicação de irritante marginal no 1º M.I.E. ao nível do sulco gengival e, administração sistêmica do difenil-hidantoin-sódico, mostraram um acentuado aumento de volume gengival, envolvendo parcialmente o dente, atingindo várias porções da coroa clínica, especialmente do lado vestibular, a ponto de cobrir o fio de seda previamente colocado na região cervical. A alteração de cor indicava hiperemia, mas em alguns casos apresentando a tonalidade rósea própria da gengiva normal. O aumento gengival apresentou-se firme e resiliente com granulações proeminentes, distinguidas claramente como minúsculos pontos visualizados na superfície gengival. (Fig.)

2.2 - Grupo Experimental II

Os elementos deste grupo, constituídos de 10 (dez) animais que forneceram os sub-grupos C e D, apresentaram as seguintes características clínicas.

As amostras do sub-grupo C, representadas pelo lado direito da mandíbula, sem irritante marginal e sem administração sistêmica da droga, que em nosso experimento serviram como padrão ou controle, não mostraram alteração ob

servável, que a fizessem diferente dos padrões usuais (Fig. 3).

As amostras do sub-grupo D, representadas pelo lado esquerdo da mandíbula, com irritante marginal no 1º M. I.E., e sem administração sistêmica da droga, apresentaram as gengivas com uma cor vermelho intenso, na área correspondente à deposição de placa.

Havia uma severa gengivite com aumento de volume gengival, porém menos acentuado do que o observado nas amostras do sub-grupo B, do grupo experimental II, que receberam administração da droga. (Fig. 5)

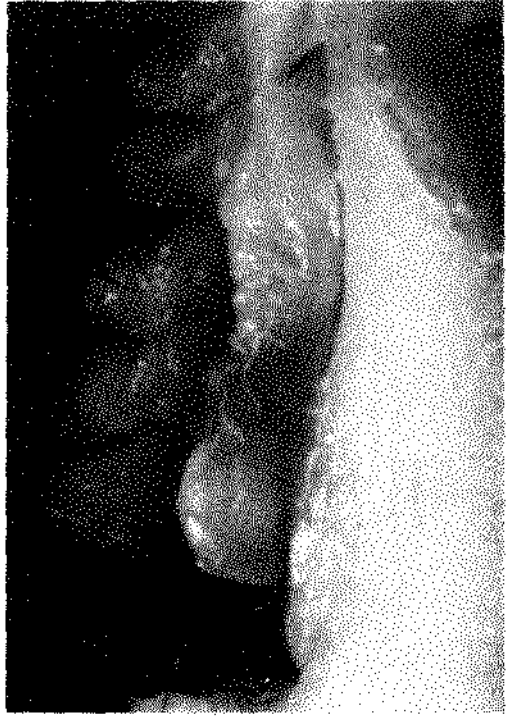
LEGENDAS DAS FOTOS DO QUADRO II

Figura 3 - Aspecto macroscópico da gengiva das amostras do sub-grupo C (Controle) do grupo experimental II (Aumento 8 X)

Figura 4 - Aspecto macroscópico da gengiva das amostras do sub-grupo A, do grupo experimental I, tratadas com DPH. (Aumento 8 X)

Figura 5 - Aspecto macroscópico da gengiva das amostras do sub-grupo D, do grupo experimental II, tratadas com irritante local. (Aumento 8 X)

Figura 6 - Aspecto macroscópico da gengiva das amostras do sub-grupo B, do grupo experimental I, tratadas com a interação DPH e irritante local. (Aumento 8 X)



Para situar as características descritas ao exame histopatológico, foi seguido um esquema da gengiva marginal do rato (Fig.7), baseado em descrição apresentada por LISTGARTEN (1975).

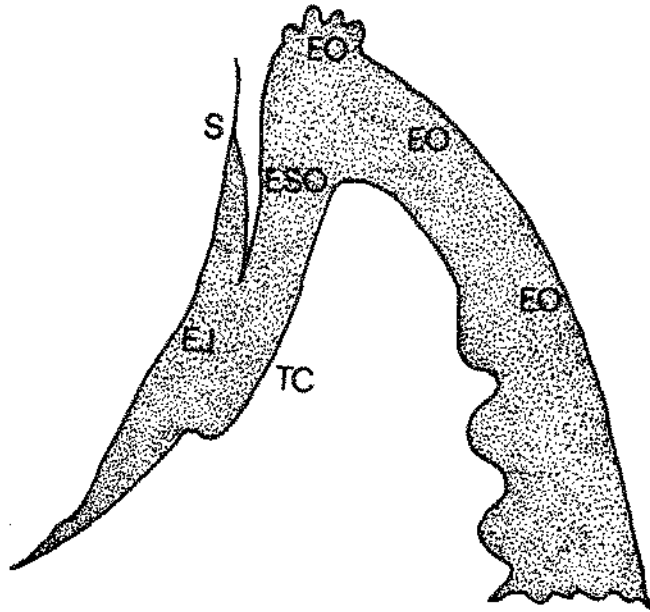


FIGURA 7 - Esquema seguido para a descrição das características histopatológicas da gengiva marginal do rato.

- S = Fundo de sulco
- ESO = Epitêlio Sulcular Oral
- EJ = Epitêlio Juncional
- EO = Epitêlio Oral da Gengiva Marginal
- TC = Tecido Conjuntivo

Sub-grupo C do grupo experimental II (Controle), gengiva sem irritante, dos animais que não receberam administração sistêmica do DPH. As secções da gengiva marginal apresentaram ao exame microscópico os aspectos histológicos descritos a seguir.

O epitélio juncional (EJ), constituído em média de quatro camadas de células, mostrou-se infiltrado de polimorfonucleares. Este epitélio juncional apresentou a membrana basal desintegrada e um discreto grau de edema intercelular. Imediatamente abaixo desse epitélio foi observado um ligeiro comprometimento do tecido, caracterizado pela presença de alguns vasos dilatados, edema, desorganização do colágeno, alguns poucos linfócitos e macrófagos. Estes eventos estavam restritos a uma pequena parcela do conjuntivo imediatamente subjacente ao epitélio juncional (Fig.12).

O epitélio sulcular oral (ESO), assim como o epitélio oral da gengiva marginal (EO), mostraram uma estruturação normal, apresentando na superfície uma camada uniforme de ortoqueratina, e na interface epitélio-conjuntivo uma membrana basal bem delineada.

O conjuntivo apresentou aspectos de normalidade estrutural em quase toda sua extensão, exceto na região subjacente ao epitélio juncional (Fig. 8).

Sub-grupo A do grupo experimental I, gengiva sem irritante, dos animais que receberam administração sistêmica do DPH. As secções da gengiva marginal apresentaram ao exame microscópico os aspectos histológicos descritos a seguir.

O epitélio juncional (EJ), mostrou-se irregular, frequentemente espessado, formando expansões digitiformes,

com acentuada variação do número de camadas de células. A infiltração de células inflamatórias, predominantemente polimorfonucleares foi uma constante, assim como um significativo edema inter-celular (Fig. 13). Outro achado frequente neste sub-grupo foi o aparecimento de uma fenda supra basal, isto é, uma separação entre a camada espinhosa e a basal, permanecendo esta última firmemente unida à membrana basal e ao conjuntivo, separada das demais camadas em quase toda extensão do epitélio juncional e eventualmente do epitélio sulcular oral (Fig. 9).

A membrana basal na interface epitélio juncional-tecido conjuntivo (EJ-TC) apresentou-se irregular e com perda de continuidade em algumas áreas, sendo, contudo, suportada por feixes de fibras colágenas relativamente densos e bem orientados.

O epitélio sulcular oral (ESO) apresentou-se relativamente bem estruturado, revestido por uma camada superficial de ortoqueratina, com proeminente camada granulosa, mostrando com frequência uma separação entre a camada basal e espinhosa, formando uma fenda (Fig. 9), que se estende por longa extensão, continuando, às vezes, no epitélio juncional (EJ) e no epitélio oral da gengiva marginal (EO).

O epitélio oral da gengiva marginal (EO), mostrou-se bem estruturado, com uma superfície ortoqueratinizada, evidenciando uma acentuada atividade proliferativa da camada basal, com formação de projeções papiliformes (Fig. 9) e eventualmente ilhotas de células epiteliais no interior do conjuntivo. Em alguns casos foram observadas também fendas intraepiteliais separando a camada basal da espinhosa.

O tecido conjuntivo apresentou-se discretamente mais celularizado do que o sub-grupo controle C, e com maior densidade aparente de colágeno.

Sub-grupo B do grupo experimental I, gengiva com

irritante marginal, dos animais que receberam administração sistêmica do DPH. As secções da gengiva marginal mostraram ao exame microscópico os aspectos histológicos descritos a seguir.

O epitélio juncional (EJ) apresentou-se bastante irregular, com proliferação acentuada de células basais, formando expansões digitiformes irregulares em toda a sua extensão. Edema intercelular e intensa infiltração de polimorfonucleares e de mononucleares foram achados constantes nesta área (Fig. 15). Fendas intra-epiteliais, áreas de ulceração, e desorganização da membrana basal foram observadas no epitélio juncional de quase todas as secções desse grupo (Fig. 11).

No epitélio sulcular oral (ESO), o aspecto mais significativo foi a acentuada atividade proliferativa das células basais, com formação de numerosas expansões digitiformes e ilhotas de células epiteliais isoladas no interior do conjuntivo. Em numerosas secções, também apareceram as fendas intra-epiteliais (Fig. 11).

O tecido conjuntivo, subjacente ao epitélio juncional apresentou-se intensamente infiltrado de polimorfonucleares (Fig. 15) predominantemente eosinófilos, com áreas expostas ao meio bucal, recobertas de material fibrinoso e neutrófilos (Fig. 11). Os vasos nesta área apresentaram-se dilatados e com permeabilidade alterada. Um acentuado edema, com desintegração das fibras colágenas ficou mais restrito a esta área subjacente ao epitélio juncional. Mais à distância havia áreas focais de infiltração de plasmócitos, macrófagos, linfócitos, eosinófilos e fibroblastos.

Sub-grupo D do grupo experimental II, gengiva com irritante marginal dos animais que não receberam administração sistêmica do DPH. As secções da gengiva marginal apresentaram ao exame microscópico os aspectos histológicos

descritos a seguir.

O epitélio juncional (EJ) mostrou-se irregularmente espessado, com numerosas projeções digitiformes com áreas de ulceração, acentuado edema intercelular e intensa infiltração de mononucleares e de polimorfonucleares. (Fig. 10 e 14). Numerosas figuras de mitose foram observadas na cama da basal desse epitélio.

O epitélio sulcular oral (ESO) mostrou-se queratinizado, acantoso, irregularmente estruturado, com a membrana basal alterada (Fig. 10).

O epitélio oral da gengiva marginal (EO) mostrou uma superfície ortoqueratinizada, com estruturação relativamente uniforme e discreto edema intercelular.

No tecido conjuntivo na área subjacente ao epitélio juncional havia uma reação inflamatória bem estabelecida, cuja intensidade diminuía à medida que se aproximava da crista óssea alveolar (Fig. 10). Nesta área intensamente inflamada, pode-se observar a presença de grande número de leucócitos (polimorfonucleares e mononucleares) que se infiltravam por entre as células do epitélio juncional e se difundiam por toda extensão do território conjuntivo (Fig. 14).

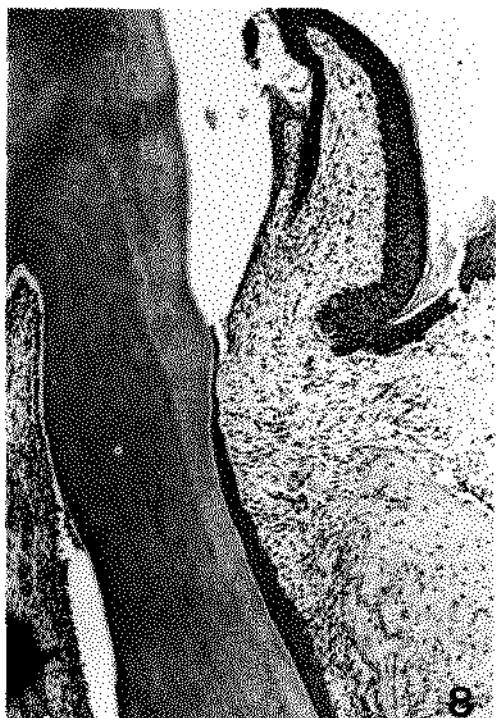
O aspecto era de um acentuado edema, com notáveis alterações vasculares, áreas focais de hemorragia e proliferação angioblástica.

A desorganização dos feixes de colágeno ocorreu em todo o córion gengival, notadamente na área subjacente ao epitélio juncional (Fig. 10).

O infiltrado inflamatório estava constituído predominantemente de macrófagos, linfócitos e eosinófilos.

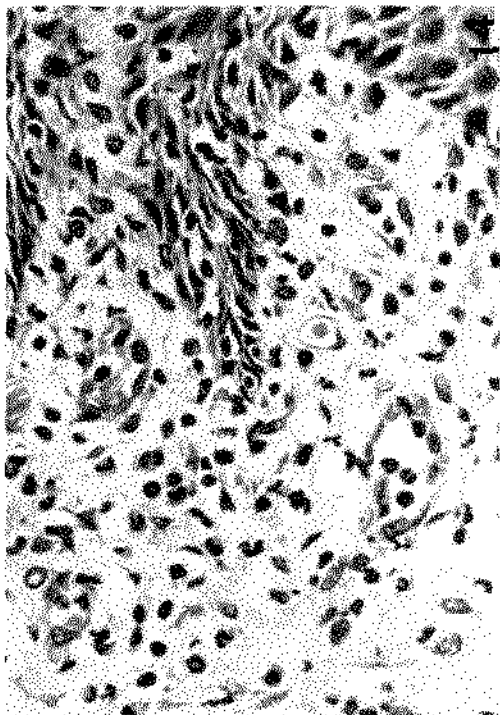
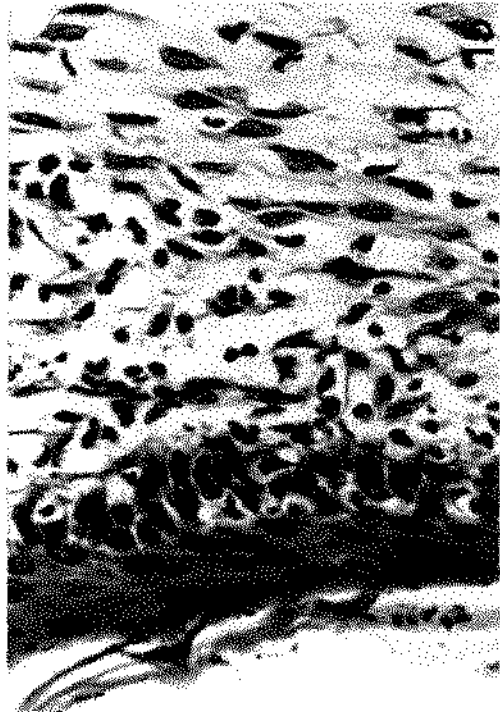
LEGENDAS DAS FOTOS DO QUADRO III

- Figura 8 - Aspecto microscópico de uma amostra do sub-grupo C, do grupo experimental II (Controle). Epitélio juncional relativamente delgado com poucas camadas de células. Epitélio sulcular oral e epitélio oral da gengiva marginal com camada uniforme de ortoqueratina. Interface epitélio-conjuntivo bem delineada. Tecido conjuntivo com aspectos de normalidade, exceto na região sob o epitélio juncional. Coloração H.E. (Aumento 25 X)
- Figura 9 - Aspecto microscópico de uma amostra do sub-grupo A, do grupo experimental I, tratadas com DPH. Epitélio juncional irregular, espessado com expansões digitiformes e acentuada variação do número de camadas de células. Fenda supra basal, separando a camada basal da espinhosa. O epitélio sulcular oral relativamente bem estruturado revestido com uma camada de ortoqueratina. Epitélio oral da gengiva marginal bem estruturado com superfície ortoqueratinizada evidenciando atividade proliferativa da camada basal, com formação de projeções papiliformes. Tecido conjuntivo mais celularizado e densidade aparentemente aumentada de colágeno. Coloração H.E. (Aumento 25 X)
- Figura 10 - Aspecto microscópico de uma amostra do sub-grupo D, do grupo experimental II, tratadas com irritante marginal. Epitélio juncional irregularmente espessado com numerosas projeções digitiformes e áreas de ulceração. Acentuado edema intercelular e infiltração de células inflamatórias. Epitélio sulcular oral queratinizado, acantoso e irregularmente estruturado. O tecido conjuntivo subjacente ao epitélio juncional mostra aspectos de reação inflamatória bem estabelecida que diminui à medida que se aproxima da crista óssea alveolar. Coloração H.E. (Aumento 25 X)
- Figura 11 - Aspecto microscópico de uma amostra do sub-grupo B, do grupo experimental I, tratadas com a interação DPH e irritante marginal. Epitélio juncional formando expansões digitiformes. Fendas intraepiteliais e áreas de ulceração. Epitélio sulcular oral com expansões digitiformes e ilhotas de tecido epitelial isoladas do tecido conjuntivo. Infiltrado de células inflamatórias no tecido conjuntivo subjacente ao epitélio juncional. Coloração H.E. (Aumento 25 X)



LEGENDAS DAS FOTOS DO QUADRO IV

- Figura 12 - Aspecto microscópico do epitélio juncional de uma amostra do sub-grupo C (Controle) do grupo experimental II. Infiltrado de células inflamatórias polimorfonucleares, discreto grau de edema intercelular. Coloração H.E. (Aumento 160 X)
- Figura 13 - Aspecto microscópico do epitélio juncional de uma amostra do sub-grupo A, do grupo experimental I. Infiltrado de células inflamatórias polimorfonucleares e discreto edema intercelular. Aumentada presença de núcleos de fibroblastos. Coloração H.E. (Aumento 160 X)
- Figura 14 - Aspecto microscópico do epitélio juncional de uma amostra do sub-grupo D, do grupo experimental II. Acentuado edema intercelular e grande infiltrado de polimorfonucleares e mononucleares. Coloração H.E. (Aumento 160 X)
- Figura 15 - Aspecto microscópico do epitélio juncional de uma amostra do sub-grupo B, do grupo experimental I. Edema intercelular e intensa infiltração de polimorfonucleares e mononucleares. Coloração H.E. (Aumento 160 X)



4 - Exame Histométrico e Análise Estatística Utilizada

Para comparar o efeito do irritante gengival e do DPH, foram consideradas quatro situações:

SG₁ - Controle

SG₂ - Tratados com irritante gengival

SG₃ - Tratados com DPH

SG₄ - Tratados com DPH e Irritante gengival

Os dados obtidos foram submetidos à análise de va viância (Teste "F") em esquema fatorial.

DADOS GERAIS OBTIDOS

Nas Tabelas I e III estão apresentados os valores médios por indivíduos, do número de fibroblastos e da den sidade de fibras colágenas, obtidos através de contagem fei ta com a lente ocular integradora em 3 campos de cada cor te histológico, sendo que em cada campo as contagens foram efetuadas em posições distintas de 0°, 15° e 30°.

Os valores obtidos se referem à média de contagens feitas em 10 elementos de cada sub-grupo: Con trole, Trata dos com Irritante Gengival, Trata dos com DPH e Trata dos com DPH e Irritante Gengival.

TABELA I

Média do número de fibroblastos contados com lente ocular integradora em 3 campos de cada corte histológico em posições distintas de 0° , 15° e 30° , na gengiva dos animais dos sub-grupos: Controle, Tratados com Irritante Gengival, Tratados com DPH e Tratados com DPH e Irritante Gengival.

ANIMAIS	CONTROLE	IRRITANTE	DPH	DPH e IRRITANTE
1	0,29	0,37	0,48	0,36
2	0,20	0,33	0,38	0,36
3	0,38	0,20	0,33	0,48
4	0,44	0,36	0,41	0,44
5	0,36	0,32	0,49	0,38
6	0,30	0,40	0,33	0,40
7	0,28	0,42	0,37	0,42
8	0,29	0,30	0,38	0,40
9	0,25	0,34	0,50	0,42
10	0,33	0,42	0,58	0,41
TOTAL	3,12	3,46	4,25	4,07

TABELA II

Análise de Variância dos Dados Apresentados na Tabela I

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
EFEITO DO IRRITANTE	1	0,00069	0,00069	0,15
EFEITO DO DPH	1	0,07574	0,07574	17,53**
INTERAÇÃO DPH X IRRITANTE	1	0,00647	0,00647	1,56
TRATAMENTOS	3	0,0829	0,02763	6,39**
RESÍDUO	36	0,1557	0,004325	
TOTAL	39	0,23855		

G.L = Grau de Liberdade

S.Q. = Soma dos Quadrados

Q.M. = Quadrado Médio

** = Significante a 1%

* = Significante a 5%

TABELA III

Média da densidade de fibras colágenas medidas com lenteocular integradora em 3 campos de cada corte histológico em posições distintas de 0° , 15° e 30° , das gengivas dos animais dos sub-grupos: Controle, Tratados com Irritante Gengival, Tratados com DPH e Tratados com DPH e Irritante Gengival.

ANIMAIS	CONTROLE	IRRITANTE	DPH	DPH e IRRITANTE
1	1,80	1,68	1,72	2,20
2	1,74	1,60	1,86	2,32
3	1,09	1,74	2,26	2,06
4	1,42	1,54	1,97	2,10
5	1,45	1,40	1,58	2,21
6	1,78	1,82	1,36	1,92
7	1,61	1,44	1,90	2,08
8	1,97	2,09	1,78	2,21
9	1,25	1,86	1,66	1,90
10	1,68	1,66	1,46	1,89
TOTAL	15,79	16,83	17,55	20,89

TABELA IV

Análise de Variância dos Dados Apresentados na Tabela III

CAUSAS DE VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
EFEITO DO IRRITANTE	1	0,47961	0,47961	4,78*
EFEITO DO DPH	1	0,84681	0,84681	5,45**
INTERAÇÃO DPH X IRRITANTE	1	0,13225	0,13225	1,32
TRATAMENTOS	3	1,45867	0,486223	4,85**
RESÍDUO	36	3,60814	0,1002261	
TOTAL	39	5,06681		

G.L. = Grau de Liberdade

S.Q. = Soma dos Quadrados

Q.M. = Quadrado Médio

** = Significante a 1%

* = Significante a 5%

ANÁLISE ESTATÍSTICA DO EXAME HISTOMÉTRICO

A análise estatística dos dados revelou que o DPH tem efeito significativo sobre o número de fibroblastos e sobre a densidade de fibras colágenas ao nível de 1%. Do mesmo modo, também mostrou que o fator irritante gengival não foi significativo para o número de fibroblastos, sendo porém significativo para a densidade de fibras colágenas, ao nível de 5%.

Entretanto, no que diz respeito à interação do DPH e irritante gengival, o resultado da análise não foi estatisticamente significativo para o número de fibroblastos, nem para a densidade de fibras colágenas. O fato se explica devido os efeitos do DPH e do irritante gengival serem aditivos, isto é, ambos atuaram aumentando o número de fibroblastos e a densidade do colágeno gengival, na área examinada.

DISCUSSÃO

Durante o período de 70 dias em que permaneceram recebendo medicação diária à base do DPH, os animais do grupo experimental I apresentaram características peculiares relacionadas com os efeitos colaterais da droga, já conhecidos e citados por BERGMANN, (1967) e GOODMAN & GILMAN, (1973). A princípio estes animais mostraram-se mais dóceis do que os do grupo experimental II, que não receberam a medicação. Nos primeiros dias de tratamento, e cada vez que a concentração da dosagem foi aumentada, os mesmos apresentaram problemas gastrointestinais (diarréia) e anorexia, o que, segundo AAS, (1963) é uma consequência da alcalinidade da droga, levando-os a apresentarem perda de peso, que, logo ao iniciar-se o tratamento, foi notoriamente acentuado.

O uso do irritante local com a finalidade de promover o aparecimento de reação inflamatória na gengiva dos ratos, conforme técnica preconizada por JOHNSON (1975), foi de grande eficiência, mostrando resultados superiores aos obtidos por YAMADA & cols., (1977). Estes autores utilizaram como método para provocar a irritação local na gengiva um tipo de preparo cavitário próximo ao colo do dente do rato para propiciar o acúmulo de placa dental.

No tocante às observações macroscópicas não foi possível estabelecer correlação entre o aspecto da gengiva das amostras do sub-grupo C (controle) e as do sub-grupo A, tratadas com o DPH, uma vez que ambos se apresentaram semelhantes.

Comparativamente as amostras do sub-grupo B submetidas a interação do DPH e irritante, apresentaram grande aumento gengival, que chegou a recobrir todo o fio de seda

previamente colocado, mostrando evidente diferença das amostras do sub-grupo D que tiveram apenas a colocação do irritante local.

Nas amostras do sub-grupo B o aumento gengival foi sempre observado, embora evidenciando pequenas variações de volume. Os resultados dos exames macroscópicos e microscópicos que se seguiram, levam a crer, que juntamente com a droga administrada, a inflamação existente seja de grande importância no desenvolvimento do aumento gengival. Estas observações vêm confirmar BAER & BENJAMIN, (1974) de que o irritante local, por deficiente higiene bucal, seja um fator intimamente relacionado com esta condição patológica gengival em humanos.

As observações microscópicas dos aspectos histopatológicos indicaram que as amostras do sub-grupo A, tratados com DPH, apresentaram o tecido conjuntivo mais celularizado e fibrosado do que as amostras do sub-grupo C (controle), sugerindo que a droga induz à proliferação de fibroblastos e ao fibrosamento gengival. Este efeito persiste em presença do processo inflamatório. Assim é que nos dois sub-grupos com irritante gengival, foi observado o quadro de neutrófilos extra vasos e entre células epiteliais do sulco gengival, vasculite, rarefação e desorganização do colágeno comumente descrito por PAYNE & cols., 1975 e PAGE & SCHROEDER, 1976. Entretanto estas alterações foram mais acentuadas no sub-grupo D, tratados apenas com irritante gengival. O sub-grupo B apresentou menor densidade e extensão de infiltrado inflamatório e maior fibrosamento como um resultado do efeito aditivo do DPH e irritante gengival. Assim o fibrosamento prévio a evolução do processo inflamatório poderia atuar como uma barreira ou contenção do próprio processo inflamatório. Na fase de inflamação gengival estabelecida, aqui descrita, foram observadas células

mononucleares. Estas são participantes da fase imuno celular segundo HORTON & cols., 1973 e GENCO & cols., 1974. Esta fase, com a presença de células mononucleares foi observada nos dois sub-grupos B e D, com irritante gengival, indicando que a administração do DPH pode se refletir de modo peculiar na reação imunológica, como sugerido por HILARY & DOLBY (1978) dando como resultado o aumento gengival na resposta inflamatória.

A análise estatística da determinação quantitativa do percentual de fibroblastos e da densidade de fibras de colágeno indicou que houve aumento significativo destes elementos nos sub-grupos tratados com DPH.

Os resultados obtidos nestes animais não condizem com os de HASSEL & cols. (1978) que, empregando método diferente de avaliação, encontraram que indivíduos tratados com DPH não apresentam aumento do número de fibroblastos nem de colágeno, na gengiva com aumento de volume, em comparação com a normal.

É de importância salientar que na presente pesquisa as observações foram efetuadas fora da região situada sob o epitélio do sulco onde normalmente são descritas as grandes alterações inflamatórias gengivais visíveis ao exame microscópico óptico (PAYNE & cols., 1975). As observações apresentadas, foram feitas, portanto, em áreas gengivais livres das alterações morfológicas próprias do tecido inflamado.

HASSEL & cols., (1977) sugeriram que o aumento gengival associado ao uso do DPH pode resultar de um comprometimento do processo colagenolítico natural, por inibição da colagenase. Os resultados ora apresentados comprovam um aumento significativo na população de fibroblastos e na densidade de colágeno que se reflete no aumentado volume da gengiva total, no grupo tratado com a interação DPH e irri

tante gengival. Este fato sugere que o crescimento gengival observado ao exame macroscópico poderia ser devido ao aumento gengival de região ainda não comprometida com as alterações morfológicas observadas ao microscópio óptico e associadas ao processo inflamatório. Tais regiões já estariam sob efeitos de estímulos provenientes da área inflamada, pois o processo inflamatório não se restringe ao "locus" da inflamação. No desenvolvimento do processo inflamatório, numa fase mais evoluída, haveria como uma preparação do tecido a partir das zonas próximas à lesão, numa tentativa de evoluir para o processo de cura através da fase proliferativa. Não se sabe precisamente através de que mecanismos estes efeitos ocorreriam. É possível que haja substâncias com função de preparar o tecido para regeneração e proliferação. Isto provavelmente redundaria numa atividade fibroblástica aumentada, como consequência do aumento da síntese protéica e de carboidratos, principalmente glicosaminoglicanas (MPA), de que resultaria um aumento do conteúdo de colágeno (McMINN, 1969, VIZIOLI, 1971, 1973). Tais fenômenos, muito provavelmente ocorreram de modo mais intenso no local da gengiva que foi examinado, quando houve interação DPH e irritante gengival.

O aumento gengival induzido pelo DPH pode resultar da predominância de fibroblastos, caracterizados por decréscimo da produção de collagenase e aumentada síntese de proteína (HASSEL & cols., 1977). Por conseguinte, as observações macroscópicas, os estudos histológicos e histométricos aqui apresentados sugerem que a interação do DPH com o irritante local tenha sido a responsável pelo aumento do número de fibroblastos com atividade também alterada e aumento de fibras colágenas do tecido conjuntivo, com consequente aumento de volume gengival.

O DPH "de per si" não teria atividade hipertrófi-

ca capaz de produzir aumento gengival clinicamente observável (NAKAMURA & MAZUDA, 1966). Todavia, este efeito colateral do DPH pode ser atribuído à presença de inflamação gengival concomitante, que tem sido considerada como um requisito indispensável (ZISKIN & cols., 1941, ISHIKAWA & GLICKMAN, 1961, NAKAJIMA, 1963), o que foi inteiramente confirmado nesta pesquisa.

CONCLUSÕES

- 1 - Pelos aspectos macroscópicos não foi possível estabelecer diferenças entre as amostras do sub-grupo C (controle) , e as do sub-grupo A, tratadas apenas com o DPH.
- 2 - Pelos aspectos macroscópicos as amostras do sub-grupo B, tratadas com interação DPH e irritante gengival, mostraram maior aumento de volume gengival do que as amostras dos sub-grupos A e D.
- 3 - Ao exame microscópico a presença de infiltrado de células inflamatórias (polimorfonucleares e mononucleares), foi maior nas amostras do sub-grupo D, tratadas apenas com irritante gengival do que nas amostras dos sub-grupos B, A e C.
- 4 - O exame histométrico, pela metodologia utilizada, indicou que em comparação com o sub-grupo C (controle), os outros sub-grupos apresentaram aumento do número de fibroblastos. O aumento na população dessas células foi maior nas amostras do sub-grupo A, tratadas apenas com DPH, do que nas amostras dos sub-grupos B e D.
- 5 - O exame histométrico pela metodologia utilizada, indicou que em comparação com o sub-grupo C (controle), os outros sub-grupos apresenta

ram aumento da densidade de fibras de colágeno. Este aumento foi maior nas amostras do sub-grupo B, tratadas com a interação DPH e irritante gengival, do que nas amostras dos sub-grupos A e D.

- 6 - O processo inflamatório provocado pelo irritante local, foi pré-requisito para o desenvolvimento do aumento gengival observado nas amostras do sub-grupo B, tratadas com a interação irritante gengival e DPH.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAS, EIGIL. Hiperplasia gingivae diphenylhidantoinea, a clinical, histological and biochemical study. Acta odont. scand., 21 (Suppl. 34): 6-132, 1963.

ANGELOPOULOS, A.P. Diphenylhydantoin gingival hiperplasia. A Clinicopathological Review. 1. Incidence, clinical features and histopathology. J. Can. dent. Ass., 41(2):103-6, 1975.

_____. The role of mast cells in the pathogenesis of diphenylhydantoin gingival hyperplasia - a new hypothesis. IADR Abstrat p. 417, 1968.

BABCOCK, J.R. & NELSON, G.H. Gingival hyperplasia and dilantin content of saliva: a pilot study. J. Am. dent. Ass., 68:195-8, 1964.

BADEN, E. Sodium dilantin gingival hyperplasia and conservative treatment: a case report. J. dent. Med., 5: 46-52, 1950.

BAER, P.N. & BENJAMIN, S.D. Periodontal disease in children and adolescent. Philadelphia, Lippincott, Chap. 5, p. 77-80, 1974.

BARATIERRE, A. & SACCHI, A. Considerazioni su alcuni aspetti dei mastociti nelle iperplasie gengivale da difenilidantoinato di sodio. Mondo odont., 9(3):3-25, 1967.

BASSAS. GRAU, M.; GASSO, M.C.; PEYRI, J.O.M. Hypertrophic gingivitis caused by hydantoin. Actas dermosifilogr., 55: 445-8, 1964.

BERGMANN, C.L. DILANTIN^(R) (Diphenylhydantoin): its effects on the gingival tissue. Dent.Dig., 73:63-70, 1967

- BHUSSRY, B.R. & RAO, S. Effect of sodium diphenylhydantoinate on oral mucosa of rats. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 113: 595-9, 1963.
- BOCHNER, F.; HOOPER, W.D.; SUTHERLAND, J.M.; EADIE, M.J.; TYRER, J.H. The renal handling of diphenylhydantoin and 5-(p-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin. Clin. Pharmac. Ther., 14: 791-6, 1973.
- BRANDON, S.A. Treatment of hypertrophy of the gingival tissue caused by dilantin sodium therapy. J. Am. Ass., 37: 732-5, 1948.
- BREG, W.R. & FALCETTI, J.P. Ineffectiveness of antihistamine therapy for gingival hyperplasia due to diphenylhydantoin sodium. New Engl. J. Med., 257:1128, 1957.
- BUTLER, T.C. The metabolic conversion of 5,5 diphenyl hydantoin to 5- (p-Hydroxyphenyl)- 5 phenyl hydantoin. J. Pharmac. exp. Ther., 119:1-11, 1957.
- CARRANZA, F.A. Compendio de periodontia. 3 ed. Buenos Aires, Mundi, 1976. p. 22-6.
- COLLINS, J.M. & FRY, B.A. Phenytoin gingival hyperplasia and chronic gingival irritation. Aust. dent. J., 5:165-8, 1960.
- CONARD, G.J.; HAAVIK, C.O.; FINGER, K.F. The relationship of 5,5 - Diphenylhydantoin metabolism to the species-specific induction of gingival hyperplasia in the rat. Archs. oral Biol., 17: 311-21, 1972.
- _____ ; JEFFAY, H.; BOSHERS, L.; STEINBERG, A.D. Levels of 5,5 diphenylhydantoin and its major metabolite in human serum, saliva and hyperplastic gingiva. J. dent. Res. 53: 1323-9, 1974.
- _____ ; OSBORN, J.C.; PEKARY, A.D.; SCHOLLE, R.H. Rela

- tionship of drug metabolism and inflammation to the gingival response of rats treated with diphenylhydantoin. J. dent. Res., 54(Spec.issue B): 368, 1975.
- CORBETT, C.H. Elementos de farmacodinâmica. 2 ed. São Paulo, Artes Médicas, 1966. Cap. 14, p. 206.
- DILL, W.A.; KAZENKO, A.; WOLF, L.M.; GLAZKO, A.J. A studies on 5,5 Diphenylhydantoin (DILANTIN) in animal and man. J. Pharmac. exp. Ther., 118: 270-9, 1956.
- ENNEVER, J. & PENDO, G. Effect of sodium diphenyl hydantoinate on the gingiva of swiss mice. Wash. Univ. dent. J., 12: 70-3, 1946.
- ESTERBERG, H.L. & WHITE, P.H. Sodium dilantin gingival hyperplasia. J. Am. dent. Ass., 32:16-24, 1945.
- FIREMARK, H.; BARLOW, C.F.; ROTH, L.J. The entry accumulation and binding of diphenylhydantoin - 2 - C¹⁴ in brain: studies on adult, immature and hypercapneic cats. Int. J. Neuropharmac., 2: 25-38, 1963.
- FRANCIS, L.E. & MELVILLE, K.I. Effects of diphenylhydantoin (DILANTIN) on histamine changes in gingival tissue. J. Can. dent. Ass., 24: 142, 1958.
- FRANKEL, S.I. Dilantin sodium in the treatment of epilepsy. J. Am. med. Ass., 114: 1320-1, 1940.
- GAILLARD, R.A. Antihistaminic therapy for gingival hyperplasia due to dilantin. New Engl. J. Med., 256:76, 1957.
- GARDNER, A.F.; GROSS, S.G.; WYNNE, L.E. An investigation of gingival hyperplasia resulting from diphenylhydantoin sodium therapy in seventy-seven mentally-retarded patients. Expl. Med. Surg., 20: 133-158, 1962.
- GENCO, R.J.; MASHIMO, P.A.; KRIEGER, C.; ELLISON, S.A. Antibody - mediated effects on the periodontium. J. per-

- riodont., 45: 330-7, 1974.
- GLICKMAN, I. & LEWITUS, M. Hiperplasia of the gingivae as associated with dilantin (Sodium Diphenylhydantoinate) therapy. J. Am. dent. Ass., 28:199-207, 1941.
- _____ & SMULOW, J. B. Periodontal disease: clinical, radiographic and histopathologic features. Philadelphia, Saunders, 1974. Chap. 1, p. 48-9.
- GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. 4 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, - 1973. Cap. 13, p. 194-214.
- GRUHZIT, O.M. Sodium diphenyl hydantoinate: pharmacologic and histopathologic studies. Archs. Path., 28: 761-2, 1939.
- HASSEL, T.M. & PAGE, R.C. The major metabolites of phenyl toin (DILANTIN) induces gingival overgrowth in cats. J. Periodont. Res., 13: 280-2, 1978.
- _____ ; _____ ; SWANSON, C.; KUZAN, F. Analysis of possible mechanisms in dilantin induced gingival fibrosis. J. dent. Res., 56(Spec.issue A):Abstrat 410, 1977
- HILARY, A.C. & DOLBY, A.E. The effect of Dilantin on the cellular immune response to dento-gingival plaque extract. J. periodont., 49: 373-7, 1978.
- HINE, C.H. & KOZELKA, F.L. Distribution and rate of metabolism of 5,5 Diphenylhydantoin. J. Pharmac. Exp.Ther., 72: 280-3, 1941.
- HOLOWACH, J.; THURSTON, D.L.; GILTER, J.E. Antihistamine therapy for gingival hyperplasia due to diphenylhydantoin. New Engl. J. Med., 259: 180, 1958.
- HORTON, J.E.; OPPENHEIN, J.J.; MERGENHAGEN, S.E. Elabora

tion of limphotoxin by cultured human peripheral blood leucocytes stimulated with dental-plaque deposits. Clin. expl. Immun., 13: 383-93, 1973.

INGLE, J.I.; HOWARD, W.L.; ZWICH, H.H. Effects of antihis_utaminic therapy on dyphenylhydantoin sodium (DILANTIN) gingival hyperplasia. J. Am. dent. Ass., 58: 65, 1959.

ISHIKAWA, J. & GLICKMAN, I. Gingival response to the sis_utemic administration of sodium diphenyl hydantoin(DILAN_uTIN) in cats. J. Periodont., 32:149-58, 1961.

JOHNSON, I.H. Effects of local irritation and dextran and sulphate administration on the periodontium of the rat. J. Periodont. Res., 10: 332-45, 1975.

KASAI, S. & HACHIMINE, K. Effect of 5,5 diphenylhydantoin sodium on the synthesis of collagen by some fibroblastic cell lines including gingiva derived cells. Bull Tokyo dent. Coll., 15: 53-62, 1974.

KERR, D.A. Stomatitis and gingivitis in the adolescents and pré-adolescents. J. Am. dent. Ass., 44:27-34, 1952.

KING, J.D. & GINSON, A.P. Experimental investigations of periodontal disease in the ferret and related lesions in man. Br. dent. J., 83: 148-9, 1947.

KIMBALL, O.P. The treatment of epilepsy with sodium diphe_unyl hydantoinate. J. Am. Med., 112: 1244-5, 1939.

KRIEGER, D.T. Effect of diphenylhydantoin on pituitary adrenal interrelation. J. clin. Endocr., 22:490-3, 1962

LENNOX, W.G. The drug therapy of epilepsy. J. Am. dent. Ass., 114: 1347-54, 1940.

LISTGARTEN, M.A. Similarity of epithelial relationship in the gingiva of rat and man. J. Periodont., 46: 677-80, 1975.

- LOE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, B. Experimental gingivitis in man. J. Periodont., 36: 177-87, 1965.
- MACFARLANE, I.W.; BAXTER, H.; MITCHELL, D.A. Some observations on epanutin therapy in epilepsy. Glasg. med. J., 20: 189-200, 1942.
- MATTOS FILHO, T.R. Influência da hepatectomia parcial no tempo de sono pelo metohexital em ratos. Piracicaba, 1976. (Tese (Mestrado) F.O.P.).
- MAYNERT, E.W. The metabolic fate of diphenylhydantoin in the dog, rat and man. J. Pharmac. exp. Ther., 130:275-84, 1960.
- McMINN, R.M.H. Tissue repair. New York, Academic Press, 1969. 22 p.
- MENDES, R.P. Bases farmacológicas do uso clínico de anti epiléticos. Botucatu, 1973. (Monografia - F.C.M.B.B.) 92 p.
- MERRITT, H.H. & PUTNAM, T.J. Sodium diphenyl hydantoin in the treatment of convulsive disorders. J. Am. med.Ass., 39: 1003-16, 1938.
- MILLHON, J.A. & OSTERBERG, A.E. Relationship between gingival hyperplasia and ascorbic acid in the blood and urine of epileptic patients undergoing treatment with sodium 5,5 diphenyl hydantoinate. J. Am. dent. Ass., 44: 27-34, 1942.
- MINGOIA, Q. Química farmacêutica. São Paulo, Ed. U.S.P., 1967. Cap. 8, p. 179-87.
- NAKAMURA, K. & MAZUDA, Y. Effects of 5,5 diphenylhydantoin and 3- ethxycarbonyl - 5,5 - diphenylhydantoin (P-6127) on dermal and gingivae tissue of experimental animals. Archs. int. Pharmacodyn. Ther., 162: 225-64, 1966.

- NAKAJIMA, Y. The relationship between dilantin gingival hiperplasia and gingivae inflamation. Nippon Shishubio Gakkay zasshi, 5: 66-76, 1963.
- NEASE, W.J. Effect of sodium diphenylhydantoin on tissue culture of human gingiva. J. Periodont., 36:22-3, 1965.
- NOACH, E.L.; WOODBURY, D.M.; GOODMAN, L.S. Studies on the absorption, fate and excretion of 4- C¹⁴- labeled diphenylhydantoin. J. Pharmac. exp. Ther., 122:301-14, 1958.
- NOESS, T. The effect of 5,5 diphenylhydantoin (DILANTIN) on fibroblast-like cells in culture. J. Periodont.Res., 4: 163-4, 1969.
- ORBAN, B.; WENTZ, F.M.; EVERETT, F.G.; GRANT, D.A. Periodoncia, un concepto - teoria y practica. Mexico Intera^{mericana}, 1960. p. 359-62.
- PAGE, R.C. & SCHROEDER, H.E. Pathogenesis of inflamatory periodontal disease. A summary of current work. Lab. Invest., 39: 235-49, 1976.
- PANUSKA, H.J.; GORLIN, R.J.; BEARMAN, J.E.; MITCHELL, D.F. The effect of anticonvulsant drug upon the gingiva. A series of 1048 patients. J. Periodont., 32:15-28, 1961.
- POLK, D. S. Treatment of the epilleptic child. Penn.med. J., 45: 1293-7, 1942.
- ROBINSON, D.S.; MACDONALD, M.G.; HOBIN, E.P. Sodium diphenylhydantoin with evidence of circulation antibodies . J. Am. dent. Ass., 192: 171-2, 1965.
- ROBINSON, L.J. Evaluation of continued therapy with phenytoin sodium. Am. J. Psychiat., 98: 231-7, 1942.
- SHAFER, W.G. Effect of dilantin sodium on growth of human fibroblast-like cell culture. Proc. Soc. exp. Biol.Med. 104: 198-201, 1960.

- SHAFER, W.G.; HINE, M.K.; LEVY, B.M. A textbook of oral Pathology. Philadelphia, Saunders, 1974. p. 733.
- SIEGMUND, H. Hyperplastische gingivitis bei epilepsie. Dt. Zahnarztl. Z., 6: 6-12, 1951.
- SONI, N.N.; SILBERKWEIT, M.; STRICKER, E.; SALAMAT., K. - Mitotic activity in human gingival epithelium associated with dilantin sodium therapy. Periodontics, 5: 70-2, 1967
- STAPLE, P.H. Some tissue reactions associated with 5,5 di phenylhydantoin (DILANTIN) sodium therapy. Br. dent.- J., 95: 289-302, 1953.
- _____. The adrenal glands and gingival hyperplasia due to phenytoin sodium. Lancet., 2: 600-2, 1953.
- _____. Diphenylhydantoin, adrenal function and epilepsy. J. Encocr., 9: 18-20, 1952.
- _____; REED, M.J.; MASHIMO, P.A.; SEDRANSK, N.; UMEMOTO, T. Diphenylhydantoin gingival hyperplasia in macaca arc toide: prevention by inhibition of dental plaque deposition. J. Periodont., 6: 310-25, 1978.
- STEINBERG, A.D.; ALLEN, P.M.; JEFFAY, H. Distribution and metabolism of diphenylhydantoin in oral and nonoral tissues of ferrets. J. dent. Res., 52: 267-70, 1973.
- _____; JEFFAY, H.; ALLEN, P. Transport of ¹⁴C diphenyl hydantoin and ¹⁴C- leucine through rabbit crevicular epithelium. J. dent. Res., 53: 1387-91, 1974.
- STERN, L.; EISENBUD, L.; KLATELL, J. Analysis of oral reactions to dilantin sodium. J. dent. Res., 22: 157-69, 1943
- STREAN, L.R. & LEONI, E. Dilantin gingival hyperplasia. New concepts related to etiology and treatment. N.Y. St. dent. J., 25: 339-47, 1959.

- SWENSON, H.M. A failure to produce enlargement of gingiva in rats by using dilantin sodium. J. dent. Res., 33: 468, 1956.
- SWINYARD, E.A.; WEAVER, L.C.; GOODMAN, L.S. Effect of liver injury and nephrectomy on the anticonvulsant activity of clinically useful hydantoins. J. Pharmac. exp. Ther. 104: 309-16, 1952.
- THOMA, K.H. Dilantin hyperplasia of the gingivae. Am. J. Orthod., 26: 394-6, 1940.
- VAN der KWAST, W.A.M. Speculations regarding the nature of gingival hyperplasia due to diphenylhydantoin sodium. Acta med. scand., 153: 399, 1956.
- VIZIOLI, M. R. Macromolecular organization of rat sponge induced granulation tissue as revealed by dichroism. Acta anat., 80: 73-81, 1971.
- _____. Dynamics of fibrillar components in rat sponge induced granulation tissue. Acta anat., 85:368-77, 1973
- WARSHAWSKY, H. & MOORE, G. A light and electron microscopic study of the nearly mature enamel of rat incisors. Anat. Rec., 169: 559-84, 1971.
- WILLIAM, A.P.; ROY, C.P.; ALFRED, L.O.; WALTER, B.H. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. J. Periodont. Res., 10: 51-64, 1975.
- WOODBURY, D.M. Relation between the adrenal cortex and the central nervous system. Pharmac. Rev., 10:275, 1958
- YAHR, M.D. & MERRITT, H.H. Current status of drug therapy of epileptic seizures. J. Am. med. Ass., 161:333-8, 1956
- YAMADA, S.; SATO, T.; MIAKE, K. Experimental pathological studies on gingival hyperplasia in rat. (I) Macroscopi-

cal and microscopical observations. Bull Tokyo dent. Coll., 18: 181-93, 1977.

ZISKIN, D.E.; STOWE, L.R.; ZEGARELLI, E.V. Dilantin gingi
vitis. Am. J. Orthod., 27: 350-63, 1941.