

LUÍS CARLOS SPOLIDORIO

**ASPECTOS MORFOMÉTRICOS E ESTEREOMÉTRICOS DO
AUMENTO GENGIVAL INDUZIDO PELA CICLOSPORINA**

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco - Dental, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

PIRACICABA
1996

Sp65a

29505/BC

Este exemplar foi devidamente corrigido, conforme resolução da CCPE Piracicaba, 26 de novembro de 1996



LUÍS CARLOS SPOLIDORIO

**ASPECTOS MORFOMÉTRICOS E ESTEREOMÉTRICOS DO
AUMENTO GENGIVAL INDUZIDO PELA CICLOSPORINA**

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco - Dental, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

ORIENTADOR : PROF. DR. OSLEI PAES DE ALMEIDA

Piracicaba
1996

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

494 011/17

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	I/UNICAMP
	Sp65a
V.	E.
TOMBO BC/	29505
PROC.	28497
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	18/04/97
N.º CPD	

CM-00098686-9

Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP

Sp65a	<p>Spolidório, Luís Carlos.</p> <p>Aspectos morfométricos e estereométricos do aumento gengival induzido pela ciclosporina / Luis Carlos Spolidório. - Piracicaba : [s.n.], 1996.</p> <p>169f. : il</p> <p>Orientador: Oslei Paes de Almeida.</p> <p>Tese (Dissertação) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p>1. Gingiva. 2. Drogas. 3. Estereologia. I. Almeida, Oslei Paes de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">19.CDD - 617.632 - 617.606 1 - 574.828</p>
-------	---

Índices para o Catálogo Sistemático

- | | |
|-----------------|-----------|
| 1. Gingiva | 617.632 |
| 2. Drogas | 617.606 1 |
| 3. Estereologia | 574.828 |



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de **Doutorado**, em sessão pública realizada em 21/11/96, considerou o candidato aprovado.

1. OSLEI PAES DE ALMEIDA *Oslei*

2. JOSÉ MERZEL *JM*

3. MÁRIO ROBERTO VIZIOLI *M. Viz.*

4. RAPHAEL CARLOS COMELLI LIA *Raphaelia*

5. ELCIO MARCANTONIO JÚNIOR *Elcio*

À DENISE , FERNANDO E EDUARDO
pelo amor, respeito e carinho, repassados
na voz e no olhar. Dedico este trabalho
por serem a verdadeira expressão da
minha vida.

À NAIR E LUCILENE, que ainda
hoje lutam bravamente por mim.
À LUIZ (*in memoriam*), que vive em
nossa mente e a atividade da mente é
vida. Portanto, está sempre conosco.
À vocês, expresso meu profundo
respeito.

**AO PROF. DR. OSLEI PAES DE
ALMEIDA PELO ALTO ESPÍRITO CIENTÍFICO,
DEDICAÇÃO, COMPETÊNCIA E SEGURA
ORIENTAÇÃO DESTE TRABALHO .**

AO PROF. DR. MÁRIO ROBERTO
VIZIOLI, QUE ME PASSOU
VALIOSOS E SEGUROS
ENSINAMENTOS DURANTE O
TRANSCORRER DO CURSO.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **JOSÉ RANALLI**, Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP

Ao Prof. Dr. **MÁRIO FERNANDO DE GOES** coordenador geral dos cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP.

Ao Prof. Dr. **SÉRGIO ROBERTO PERES LINE**, Coordenador do Curso de Biologia e Patologia Buco-Dental da Faculdade de Odontologia de Piracicaba- UNICAMP.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, pela oportunidade concedida para a realização do Curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco- Dental na Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

À Profa. Dra. **MARIA RITA BRANCINI DE OLIVEIRA**, ao Prof. Dr. **RAPHAEL CARLOS COMELLI LIA**, Prof. Dr. **CARLOS BENATTI NETO**, Prof. Dr. **HERON FERNANDO DE SOUZA GONZAGA**, Prof. Dr. **CARLOS ALBERTO DE SOUZA COSTA** do Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, pelo apoio, incentivo e compreensão, durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **JOSÉ MERZEL** , destacado cientista, que me passou valiosas informações de estereometria.

Aos demais Professores do Curso de Doutorado em Biologia e Patologia Buco-Dental, pelos ensinamentos durante o decorrer do referido curso.

Aos funcionários da área de Patologia **MARIA HELENA DE VASCONCELOS PERON, ANA CRISTINA DO AMARAL GODOY, ROSA MARIA FORNASIER E ADRIANO LUIS MARTINS**, pela amizade e orientação técnica durante a parte experimental do trabalho.

AO Sr. **ARTUR MENDONÇA**, Sras. **MARIA DA GLÓRIA VIEIRA CELLI** e **HERMÍNIA BASSO MAIO**, funcionários do Departamento de Patologia de Araraquara - UNESP, pela amizade e apoio técnico, sem os quais não seria possível a realização deste trabalho.

Às Sras. **IVANI ODAS DEMETRIO, MARIA APARECIDA SANTIAGO VARELLA**, pelo exemplo de amizade e companheirismo nos árduos momentos no decorrer do curso.

Às Sras. **ELIENE, SILVANA E SUZETE** pela amizade.

Aos amigos **LUÍS, MIRALVA JESUS E SILVA E ROSELI DEOLINDA RIBEIRO**, solidários em todos os momentos e pelos valiosos ensinamentos no decorrer da parte experimental deste trabalho.

À disciplina de MICROBIOLOGIA nas pessoas do Prof. Dr. **JOSÉ FRANCISCO HÖFLING** e à todos os funcionários, em particular à **ANDERSON LAERTE TEIXEIRA**, pela amizade, colaboração e apoio.

Aos amigos do Curso de Pós-Graduação, pela amizade e solidariedade sempre recebidos.

À **SANDOZ** e **FAEPO** (**FUNDAÇÃO ARARAQUARENSE DE ENSINO E PESQUISA EM ODONTOLOGIA**) da Faculdade de Odontologia de Araraquara -UNESP, na pessoa do Prof. Dr. **ÉLCIO MARCANTONIO JUNIOR**, pela gentileza na doação da ciclosporina, indispensável na realização deste trabalho.

À **FAEP - UNICAMP** (Fundação de Amparo ao Ensino e Pesquisa) e **CAPES**, importantes instituições de apoio e fomento à pesquisa no País, nossos agradecimentos.

LISTA DE ABREVIATURAS

μg - MICROGRAMA

CSA - CICLOSPORINA

CSG - CICLOSPORINA - G

IFN γ - γ INTERFERON

g - GRAMAS

IL - 2 - INTERLEUCINA 2

IL - 3 - INTERLEUCINA 3

IL - 4 - INTERLEUCINA 4

IL - 5 - INTERLEUCINA 5

IL - 6 - INTERLEUCINA 6

IL - 8 - INTERLEUCINA 8

IL - 1 - INTERLEUCINA 1

KD - KILODALTON

Kg - KILOGRAMA

mg - MILIGRAMA

ml - MILILITRO

mm - MILIMETROS

NK - NATURAL KILLER

Tc - LINFÓCITO T CITOTÓXICO

TCI - TECIDO CONJUNTIVO INFILTRADO

TCN - TECIDO CONJUNTIVO NÃO INFILTRADO

Th - LINFÓCITO T HELPER

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS 1 A 8 : Ilustrações Macroscópicas da gengiva da região de molares inferiores de rato normal , 60 dias após o tratamento com ciclosporina e 5 a 90 dias após a interrupção de ciclosporina.

FIGURAS 9 a 24 : Ilustrações microscópicas da gengiva marginal da face vestibular.

SUMÁRIO

RESUMO	1
INTRODUÇÃO	3
REVISÃO DA LITERATURA	6
MATERIAL E MÉTODOS	44
RESULTADOS	56
DISCUSSÃO	104
CONCLUSÕES	123
SUMMARY	125
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	127

RESUMO

RESUMO

A csa é a principal droga imunossupressora, usada na prevenção da rejeição de enxertos em transplantes alogênicos. Aumento gengival é um dos efeitos colaterais da csa, e o principal na boca. O objetivo deste trabalho foi avaliar o aumento gengival de ratos tratados diariamente com 10 mg/kg de peso corporal de csa, durante 60 dias, por via subcutânea, assim como a regressão do aumento gengival após a interrupção do tratamento. Também foi verificado os efeitos da dieta cariogênica e xerostomia no aumento gengival. Todos os ratos tratados com csa desenvolveram aumento gengival, com aumento da espessura do epitélio bucal, da altura e largura do tecido conjuntivo, e da densidade volumétrica de fibroblastos e fibras colágenas. A dieta cariogênica e a xerostomia não modificaram as características da gengiva dos ratos normais e dos tratados com csa. Cinco a 90 dias após a interrupção do tratamento com csa, houve diminuição progressiva do volume gengival e da densidade de fibras e fibroblastos. A diminuição foi mais acentuada nos períodos iniciais (10 dias), mas mesmo após 90 dias não retornou aos valores normais.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Os aumentos gengivais podem ser de natureza hereditária, inflamatória, hormonal, neoplásica, idiopática ou decorrente do efeito colateral de drogas como a fenitoína, bloqueadores do canal de cálcio e ciclosporina (SEYMOUR, 1993).

A csa originalmente chamada de csa-A, é uma droga imunossupressora, usada principalmente para inibir a rejeição de órgãos em transplantes alogênicos (BOREL et al., 1988; CALNE et al., 1979; STARZL et al., 1980), agindo preferencialmente ao nível de linfócitos T, inibindo a síntese de IL 2, tendo efeitos mínimos na imunidade humoral (WIESINGERE & BOREL, 1983). Entretanto a csa produz efeitos colaterais indesejáveis, como nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, tremor, hipertensão, anemia e aumento gengival (SEYMOUR & JACOBS, 1992). A incidência do aumento gengival em humanos varia de 6 a 81% (RATEITSHAK-PLUS et al., 1983; BENETT & CHRISTIAN, 1985; SEYMOUR et al., 1987; SEYMOUR & JACOBS, 1992). O aumento gengival induzido pela csa está associado a dosagem e conseqüente concentração plasmática da droga (SOMACARRERA et al., 1994; DALY, 1992; SEYMOUR & JACOBS, 1992; FU et al., 1995), placa bacteriana (TYLDESLEY & ROTTER, 1984; DELILIERS et al., 1986; DALEY et al., 1986; McGAW et al., 1988; ROSS et al., 1989; SOMACARRERA, 1994), e concentração da csa na saliva (McGAW et al., 1987; SEYMOUR et al., 1987). A csa induz aumento gengival, por mecanismos ainda não estabelecidos. De acordo com alguns autores o aumento gengival está associado a proliferação de fibroblastos, síntese de colágeno ou a combinação desses fatores (McGAW et al., 1988), e acantose epitelial (PIZANTY et al., 1988, 1989; WOUNDIMU et al., 1995).

Os objetivos desse trabalho foram:

1- Verificar morfometricamente as características do epitélio e tecido conjuntivo gengival aumentado.

2-Determinar a densidade volumétrica de fibroblastos, fibras colágenas nas gengivas livres de ratos normais e tratados com csa.

3-Determinar a densidade volumétrica de fibroblastos, fibras colágenas, assim como a morfometria do epitélio e conjuntivo gengival após a interrupção do tratamento com csa.

4- Verificar os efeitos da dieta cariogênica e xerostomia no aumento gengival causado pela csa em ratos.

REVISÃO DA LITERATURA

I-AUMENTO GENGIVAL

O aumento gengival representa um aumento do volume gengival com maior quantidade de tecido conjuntivo e epitélio espessado como resposta, à uma variedade de fatores etiológicos, locais ou sistêmicos (GRANT et al., 1988). Os aumentos gengivais podem ser de natureza familiar, hereditária, inflamatória, hormonal, neoplásica ou devido a ação de drogas (ROSTOCK et al., 1986).

II-AUMENTO GENGIVAL INDUZIDO POR DROGAS

O aumento gengival induzido por drogas foi relatado inicialmente por KIMBALL (1939), como uma complicação durante o tratamento com difenil hidantoína ou fenitoína.

Outras drogas também induzem o crescimento gengival como: bloqueadores do canal de cálcio, especialmente a nifedipina e drogas imunossupressoras como a csa (ANGELOPOULOS, 1975; SYRJANEN & SYRJANEN, 1979; RATEITSCHAK-PLUS et al., 1983; WYSOCKI et al., 1983; RAMON et al., 1984; ROSTOCK et al., 1986; DONGARI et al., 1993). Vários estudos foram feitos, tanto em humanos como em animais de

laboratório na tentativa de avaliar a influência destas drogas no desenvolvimento do aumento gengival (SEYMOUR, 1993)

III- FENITOÍNA

A fenitoína (dilantin sódico), é utilizada no tratamento da epilepsia e também usada em pacientes com traumatismos cranianos, síndrome de Reye, disritimias ventriculares, tratamento das neuralgias, como do trigêmeo (LOEB, 1991).

Além da fenitoína, outros anticonvulsivantes, como os barbitúricos (fenobarbital, mefobarbital), primidone e ácido valpróico (depakene), podem causar aumento gengival (PANUSKA et al., 1961; GREENBERG et al., 1977; SYRJANEN, 1979; CIANCIO et al., 1989).

A fenitoína provoca depressão do sistema nervoso central, atuando no córtex motor, sem efeito significativo na região sensorial (PINCUS et al., 1970). Sabe-se atualmente que a fenitoína age principalmente a nível de membrana neural, através da supressão da bomba de sódio potássio (PINCUS et al., 1970). A fenitoína favorece o aumento na razão entre sódio extra e intracelular, estabilizando a propagação do impulso nervoso, a nível da membrana neural, diminuindo a hiperexcitabilidade que afeta os neurônios do córtex motor (NEIDLE et al., 1991).

Os efeitos colaterais mais comuns no tratamento com fenitoína são: sedação, ataxia, tonteira, distúrbios motores, algumas alterações no

comportamento, hepatotoxicidade , anemia megaloblástica e hirsutismo, hiperplasia gengival e teratogenicidade (NEIDLE et al. , 1991).

Nem todos os pacientes que fazem uso dessa droga desenvolvem o aumento gengival, com a incidência variando entre 0 a 84,5% (ANGELOPOULOS, 1975; HASSELL et al., 1990). Segundo DOOLEY & VASAN (1989), o aumento tecidual ocorre somente quando os dentes estão presentes, porém, existem alguns relatos que podem ocorrer em pacientes desdentados (DALLAS, 1963; DREYER & THOMAS, 1978; DARLING et al., 1986; POPPEL E COLLINS, 1987; BREFELDT,1992).

O aumento gengival causado pela fenitoína pode também ser observado em animais experimentais como o furão (KING & GIMSON, 1947; HALL et al., 1982), gato (ISHIKAWA & GLICKMAN, 1961; HASSEL et al., 1982), macaco (STAPLE et al., 1978), porcos (CARREL et al., 1983) , e ratos (NASCIMENTO et al., 1985). Clinicamente o crescimento gengival em humanos começa a ser notado 2 a 3 meses após a administração inicial da fenitoína e alcança o volume máximo em 12 a 18 meses (LIVINGTON, 1970). Afeta inicialmente papilas interdentais, local onde a presença da placa bacteriana é mais intensa, aumentando rapidamente, envolvendo toda gengiva marginal. O aumento gengival causado pela fenitoína é mais acentuado na face vestibular dos dentes inferiores. Nos casos mais severos pode haver recobrimento de toda a coroa dos dentes. O tecido gengival apresenta-se resiliente com superfície rugosa e lobulada, com

coloração normal ou ligeiramente pálida (ANGELOPOULOS, 1975; YAMADA et al., 1977 ; BUTTLER et al., 1987).

As características histológicas básicas do aumento gengival causado pela fenitoína inclui aumento na proliferação de fibroblastos, e aumento na concentração de fibras colágenas e elásticas (BUTTLER et al., 1987). O epitélio é acantótico com longas prolongações em direção ao conjuntivo (ANGELOPOULOS, 1975). É aventada a hipótese do aumento gengival estar relacionado com o nível sérico da fenitoína, pois, a severidade do aumento gengival tende a aumentar quando o nível de fenitoína é alto nos tecidos gengivais (CONARD et al., 1974; LITTLE et al., 1975).

O mecanismo da ação da fenitoína sobre o tecido gengival ainda é incerto. A fenitoína pode agir estimulando a multiplicação de fibroblastos, aumentando a produção de colágeno ou diminuindo a produção de colagenase, ou ainda a combinação de todos esses fatores (GOULTSCHIN & SHOSHAN, 1980; HALL & SQUIER, 1982).

MANDALINISH (1983), defende a idéia de que no crescimento gengival há formação de substâncias inibidoras das enzimas colagenases, responsáveis pela degradação do colágeno. Além dessas ações, a fenitoína tem mostrado também elevar o acúmulo de glicosaminoglicanos em culturas de fibroblastos gengivais (KANTOR & HASSEL., 1983). Foi proposto que o aumento de atividade de síntese de colágeno e

glicosaminoglicanos pelos fibroblastos , nos crescimentos gengivais induzidos pela fenitoína, podem ser geneticamente determinados, isto é, pode existir diferentes populações de fibroblastos, onde algumas são capazes de alta síntese de colágeno. (HASSEL & GILBERT, 1983; KANTOR & HASSEL, 1993). Segundo HASSEL & GILBERT (1983) a presença de um estímulo, como por exemplo, a inflamação, favorece a sensibilidade à fenitoína, com subsequente aumento na produção de colágeno.

Grande importância tem sido dada a placa dentária para o desenvolvimento do aumento gengival no homem , já que é responsável pela inflamação crônica gengival (ANGELOPOULOS, 1975; STAPLE et al., 1978). Alguns autores conseguiram provocar crescimento gengival em ratos tratados com fenitoína utilizando técnicas que visavam acumular placa bacteriana e intensificar a inflamação gengival, tais como preparos cavitários (YAMADA et al., 1977), amarra com fios de sutura (NASCIMENTO et al., 1985) e inoculação de *Streptococcus sobrinus* (MORISAKI et al. , 1990). Além desses dados, outras observações clínicas sugerem a associação do crescimento gengival com a placa bacteriana:

a) o crescimento afeta inicialmente papilas interdentais, local onde a presença da placa bacteriana é mais intensa.

b) ausência de crescimento em pacientes desdentados e que recebem tratamento com fenitoína.

c) a porcentagem do aumento gengival é maior em pacientes que, sob tratamento, apresentam má higiene bucal (BUTTLE et al., 1987).

Apesar da deposição da placa dentária na superfície dos dentes ser considerada fator essencial para a iniciação do crescimento gengival induzido pela fenitoína (STAPLE et al., 1978), os experimentos de MORISAKI (1990), indicaram que enquanto o acúmulo de placa faz aumentar o crescimento gengival, ele não é um pré requisito para a indução dessa patologia.

Acredita-se também que a placa dentária além de promover uma resposta inflamatória no tecido gengival, também serve como local de retenção de fenitoína (ou talvez um dos seus metabólitos) vinda da saliva (NOACH et al., 1958), bem como do fluido gengival, expondo a gengiva a estes produtos, e deflagrando dessa forma o crescimento desse tecido (HASSEL et al., 1978).

Não estão bem determinados os mecanismos patogênicos do crescimento gengival induzido pela fenitoína (MORISAKI, 1990). Alguns autores acreditam que a fenitoína possa agir sobre o tecido gengival estimulando tanto a multiplicação de fibroblastos gengivais como o aumento da síntese de colágeno (HASSEL et al., 1977; REBUCK et al., 1982).

Ao exame histopatológico da gengiva de ratos tratados com fenitoína mais ligadura com fio de sutura, pode-se observar o epitélio juncional

irregular com ulcerações e espaços contendo polimorfonucleares e o epitélio sulcular, com atividade proliferativa da camada basal , formando projeções epiteliais para dentro do conjuntivo, no qual se observa acúmulo de leucócitos e fibras colágenas envolvendo as áreas de inflamação gengival (NASCIMENTO et al. ,1985). Em humanos observa-se tecido conjuntivo altamente fibrosado, acompanhado de exudato inflamatório perivascular discreto ou mais acentuado na região de epitélio juncional (ANGELOPOULOS et al., 1975).

A idade do paciente também tem sido associado ao crescimento gengival induzido pela fenitoína, que é mais evidente em crianças e adultos jovens (HASSELL, 1981). Em ratos, conseguiu-se um aumento mais significativo em ratos com três dias de idade do que em ratos adultos (CONARD et al., 1972).

IV- BLOQUEADORES DOS CANAIS DE CÁLCIO

As drogas bloqueadoras dos canais de cálcio comumente usadas são: amlodipina, felodipina, isiadipina, hidroclorito nicardipina, hidrocloritobepidil, hidroclorito diltiazem, nifedipina, verapamil, nimodipina, nisoldipina, oxodipina, nitrendipina (WANER et al., 1988, BROWN et al., 1990, DONGARI et al., 1993). Essas drogas são usadas no tratamento das anginas, taquicardia e aumento da pressão arterial (LOEB, 1991).

Os bloqueadores de canal de cálcio agem inibindo a entrada de ions cálcio do meio extracelular para o interior das células musculares lisas e cardíacas, diminuindo a contração das células musculares lisas, levando a uma vasodilatação, ou diminuição da contração no caso de células musculares cardíacas (LUCAS et al., 1985).

Dos bloqueadores de canal de cálcio, o mais descrito como causador de aumento gengival é a nifedipina (LEDERMAN et al., 1984; RAMON et al., 1984; VAN DER WALL et al., 1985; LUCAS et al., 1985; JONES, 1986; ; BARAK et al., 1987; BARCLAY et al., 1992; DONGARI et al., 1993). Além da nifedipina, outras drogas como a nitrendipina (HEIJL & SUNDIN, 1988; BROWN et al., 1990), oxodipina (WANER et al., 1988, NYSKA et al., 1990) , felodipina (LOMBARDI et al., 1990) e a amlodipina (SEYMOUR et al., 1994), também podem causar aumento gengival.

A incidência do aumento gengival em pacientes tratados pela nifedipina gira em torno de 15 a 21% (BARAK et al., 1987; BARCLAY et al., 1992). Em pacientes submetidos à transplante renal, é comum associar a nifedipina com a csa, para a prevenção da hipertensão (FEEHALLY et al., 1987) e da rejeição do órgão transplantado (CALNE, 1980; MORRIS, 1981), respectivamente. Nesses casos a prevalência do aumento gengival é maior do que comparado ao grupo de pacientes tratados só com nifedipina (THOMASON et al., 1993; LUNDERGAN ,1989).

Clinicamente os aumentos gengivais causados pela nifedipina são semelhantes àqueles encontrados pela fenitoína. Associa-se o aumento gengival causado pela nifedipina com o acúmulo de placa bacteriana, cálculo supra ou subgengival e conseqüentemente inflamação gengival (BARCLAY et al., 1992). Ainda não foram encontradas relações entre maior ou menor dosagem de nifedipina, isto é, maior ou menor concentração da droga no sangue e aumento gengival (BARCLAY et al., 1992).

Tem-se aventado algumas hipóteses para explicar o mecanismo de ação da nifedipina sobre o crescimento de fibroblastos e concentração de matriz extracelular nos aumentos gengivais causado pela nifedipina:

a) presença de algum potente metabólito da nifedipina, que induziria esse aumento.

b) estimulação da produção de IL 2 pelas células T ou aumento do metabolismo dos hormônios andrógenos (testosterona) pelos fibroblastos gengivais (DONGARI et al., 1993), pois o metabolismo da testosterona ocorre extensivamente nas gengivas sadias de homens e mulheres. Na presença de nifedipina ou csa, há aumento da formação de 5 alfa -DHT (dihidrotestosterona), um andrógeno biologicamente ativo, que estimula a atividade de biosíntese de colágeno (SOORIYMOORTHY et al., 1990).

A preexistência de inflamação gengival pode facilitar o aumento gengival, portanto, uma efetiva higiene oral faz parte da possível

prevenção do aumento gengival (LEDERMAN et al., 1984; NISHIKAWA et al., 1991). Se a administração da nifedipina for suspensa, o aumento gengival pode sofrer regressão dentro de 1 semana (LEDERMAN et al., 1984). Se a administração da droga não for interrompida, o aumento gengival causado pela nifedipina pode ser removido cirurgicamente, com possibilidade de reincidência da lesão (NISHIKAWA et al., 1991).

V- CICLOSPORINA

A csa é um polipeptídeo cíclico hidrofóbico contendo 11 aminoácidos de fórmula $C_{62}H_{111}O_{12}$, peso molecular 1202.6, descrito na década de setenta, a partir de espécies dos fungos *Trichoderma polysporum* e *Cylindrocarpo lucidum* (MILPIED, 1988; LAUPACIS, 1981). Comercialmente, a csa é produzida a partir da cultura do fungo *Tolypocladium inflatum gams* (BOREL et al., 1976). A csa é largamente utilizada na profilaxia e tratamento da rejeição de órgãos em transplantes alogênicos (BOREL et al., 1988; CALNE et al., 1981; STARZL et al., 1980), aprovado pela "FOOD AND DRUG ADMINISTRATION" (STEINMULLER, 1985). Em alguns modelos de animais experimentais, um curto tempo de administração da droga permite uma sobrevivência prolongada do órgão transplantado (GREEN & ALLISON, 1978; REITZ et al., 1981; MORRIS, 1984).

Homoenxertos de pele, medula óssea, pâncreas, coração, fígado, rins, pulmão, ovários, nervos periféricos, células musculares lisas e

intestino delgado têm tido sucesso em animais experimentais imunossuprimidos pela csa. A sobrevivência do enxerto à reação primária (aguda) podem ser prolongadas, e mesmo a rejeição sobre barreiras severas de histocompatibilidade como xenoenxertos, podem ser prevenidas ou retardadas em ratos, coelhos e cães, tratados com csa (GREEN, 1981).

Em humanos a csa, tem sido usada em transplantes, obtendo excelentes resultados quando comparado com a imunossupressão convencional. Em transplantes de rim, a sobrevida pode ser aumentada em 25%, e de fígado em 50% (STARZL et al., 1983). Bons resultados têm sido conseguidos, para transplantes do coração associado a pulmão, porém, a csa não tem mostrado grande eficácia, para transplantes de pâncreas e medula óssea (OYER et al., 1983; SUTHERLAND et al., 1983).

Atualmente a csa é também utilizada no tratamento de doenças autoimunes como os pênfigos vulgar e bolhoso (BARTHELEMY et al., 1993; THIVOLET et al., 1985), penfigóide cicatricial ocular (PALESTINE et al., 1984), líquen plano oral (uso tópico) (EISEN et al., 1990); síndrome de Behçet (NUSSENBLATT et al., 1985); lupus eritematoso sistêmico (FEUTREN et al., 1986); diabetes tipo I (STILLER et al., 1983), artrite reumatóide (MULLER & HERRMAN, 1979); psoríase (ELLIS et al., 1986); iquitiose vulgar (VELTHIUS & JESSERUN, 1985); alopecia areata (PARODI & REBORA, 1987); além de micoses fungóides (JENSEN et al.,

1987), doença de Crohn (ALLISON et al., 1984); esquistosomose (BUEDING et al., 1981), malária (THOMMEN -SCOTT, 1981); esclerose múltipla (MERTIN et al., 1980); poliomyosites (BENDTZEN et al., 1984); dermatomyosite aguda (ZABEL et al., 1984), colite ulcerativa (GUPTA et al., 1984) e sarcoidose pulmonar (REBUCK et al., 1984).

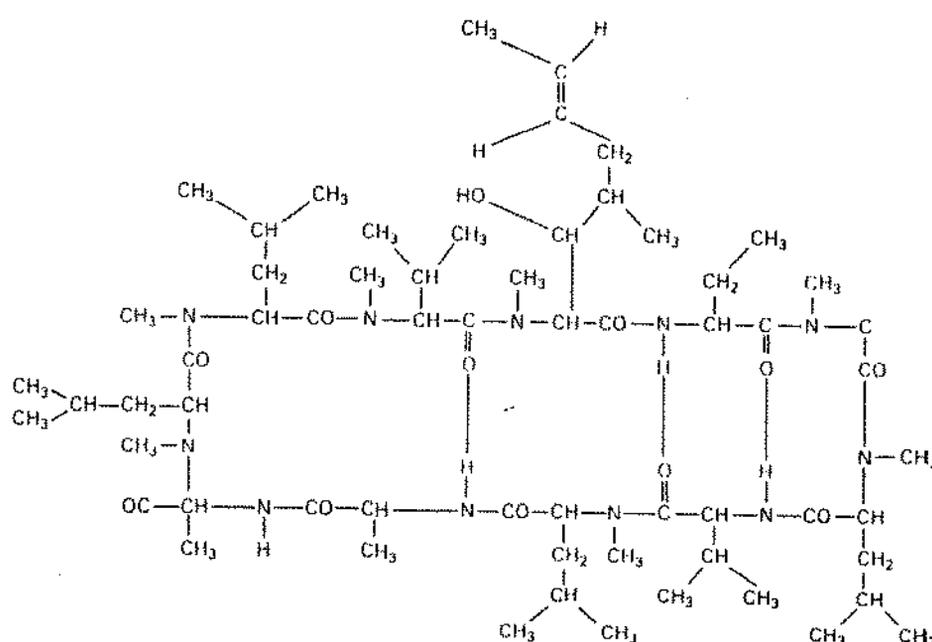


Fig. 1 - Estrutura química da csa

V.1- CICLOSPORINA-G

A ciclosporina G (csg) é um análogo natural da csa, também derivada a partir do fungo *Tolypocladium inflatum gams*, e estrutura similar a csa-A. É um polipeptídeo cíclico onde o resíduo do ácido alfa amino

butírico na posição do carbono 2 é substituído por norvalina (TRABER, et al., 1982; PETCHER et al., 1976). Possui peso molecular 1217. A csa-G como a csa-A, tem forte atividade imunossupressora (HIESTAND et al., 1985; McKENNA et al., 1989; JEFFERY, 1991; MASRI, 1992), inibindo reações imunes em animais experimentais como:

- produção de anticorpos em resposta a inoculação de hemácias de carneiro em camundongos.
- hipersensibilidade retardada em cobaias e camundongos
- prevenção da rejeição a enxertos em ratos e camundongos com doses semelhantes a csa-A (HIESTAND et al., 1985).

Semelhante à csa, a csg, está sendo usada experimentalmente para o tratamento de diversas doenças autoimunes como encefalomielite alérgica experimental; miastenia gravis alérgica experimental, poliartrite induzida por adjuvant de Freund completo, lupus eritematoso sistêmico. Ao contrário da csa-A, a csg não causa nefrotoxicidade (HIESTAND et al., 1985).

V.2- (VAL 2)DH- CICLOSPORINA

A (val-2)DH ciclosporina é produzida a partir da hidrogenação catalítica dos metabólitos do fungo *Tolyocladium inflatum gams* (TRABER

et al., 1977). É um polipeptídeo com peso molecular 1217. Estruturalmente se diferencia da csa por:

A- o aminoácido do carbono 9 carece de dupla ligação.

B- o ácido L alfa aminobutírico na posição do carbono 2 é substituído pela L-valina.

Sua ação ainda não está bem estabelecida. Experimentalmente o espectro de atividade imunossupressora é bastante distinto da csa, porque através de dados experimentais não prolongou a sobrevivência de enxertos.

V.3- MECANISMO DE AÇÃO DA CSA

Embora os eventos moleculares ainda não sejam bem compreendidos, evidências indicam que a csa bloqueia um estágio inicial na ativação dos linfócitos T, em resposta à aloantígenos. Numa reação imunológica frente a um órgão transplantado, os linfócitos T iniciam e mantêm a imunidade mediada por células e anticorpos. Os macrófagos ativados por antígenos, produzem a IL 1, estimulando os linfócitos T helper na síntese da IL 2, que por sua vez, promovem a proliferação de linfócitos T citotóxicos sensibilizado, e produção de γ interferon (TOWPIK et al., 1985). A csa tanto "in vivo" quanto "in vitro", atua sobre os linfócitos T imunocompetentes, sendo altamente específica para estas células (BOREL

et al., 1977; LILLEHOJ et al., 1984; HELIN et al., 1984; BENNETT & NORMAN, 1986). A csa atua inibindo a produção do fator proliferativo solúvel, a IL 2, pelas células T-auxiliares ativadas, e sugere-se também que atue na inibição de IL-1, produzidas pelos macrófagos (KAHAN et al., 1983; LILLEHOJ et al., 1984; ELLIOT et al., 1984; TOWPIC et al., 1985).

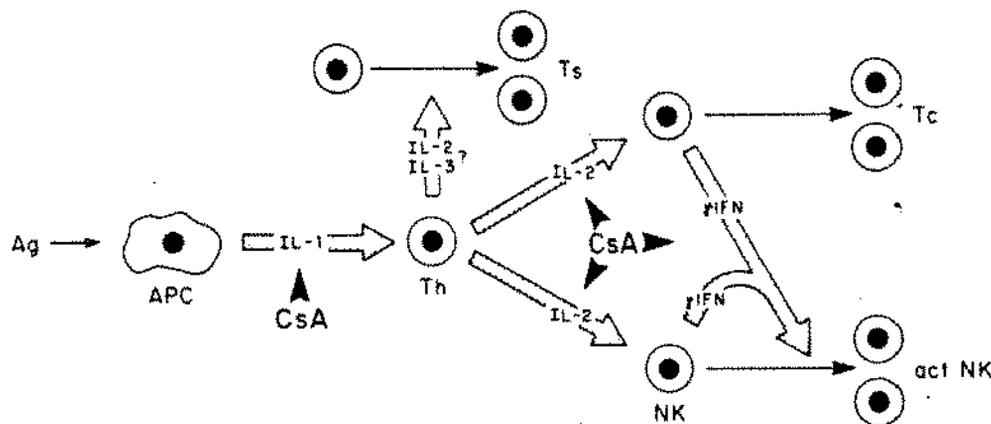


Fig.II - Esquema mostrando provável mecanismo de ação da csa sobre linfócitos e macrófagos. Inibe a liberação de IL 1 dos macrófago (célula apresentadora de Ag) e IL 2 dos linfócitos auxiliar (Th), reduzindo proliferação e maturação dos linfócitos T citotóxicos (Tc), e a produção de γ interferon, diminuindo a ativação das células natural Killer (NK).

Portanto, a csa atua em vários estágios da resposta imunológica a um haloantígeno, inibindo seletivamente funções específicas dos linfócitos, restringindo a expansão clonal ou ativação funcional de linhagens celulares

(LEONI et al., 1978). A csa interfere nos estágios iniciais do ciclo celular (fase g0), afetando a proliferação de células linfóides no início da mitose (BURCKHARDT & GUGGENHEIM, 1979; HESS et al., 1983,1988).

A csa é lipofílica, ligando-se a receptores na membrana das células T. Nos linfócitos admite-se que a csa exerça sua propriedade imunossupressora ligando-se a proteínas citoplasmáticas e nucleares. No citoplasma celular, a csa se fixa a uma proteína chamada ciclofilina (16 KD) e calmodulina (17 KD). A calmodulina é envolvida na ativação dos linfócitos T enquanto a função da ciclofilina é desconhecida, ambas as proteínas são cálcio dependente (COLOMBANI et al., 1985). No núcleo celular, a csa interage com cromossomos específicos, interferindo na transcrição do RNAm para IL-2. Desta forma, são inibidos a produção de IL 2 pelos linfócitos T auxiliar e do receptor para esta linfocina nos linfócitos T citotóxicos (STILLER et al., 1983). Recentes experimentos aventam a hipótese de que a csa além de inibir a produção de IL2 pelas células T, pode também interferir na produção de IL 3, IL 4, IL5, IL6, IFN-gama, TNF-alfa, TNF-beta e fator estimulador de colônias de macrófagos (DUNKIN et al., 1978; TOCCI et al., 1989; RYFFEL et al., 1989). Tem-se usado csa em casos de psoríase, acreditando-se que inibe receptores de IL 8 nos queratinócitos (SCHULS et al., 1993; KEMENY et al., 1994).

A ação da csa é reversível, não afetando as células indiferenciadas da medula óssea (STEINMULLER, 1985). Segundo BOREL (1976), a csa

age tanto na resposta humoral como na celular, mas, sua ação é preferencialmente sobre a imunidade celular. A csa age indiretamente sobre monócitos, através da supressão de γ interferon, do fator quimiotático para macrófagos assim como fator inibidor de macrófagos (HELIN et al., 1984; GRANELLI - PIPPERNO et al., 1984). Segundo KALMAN & KLIMPEL (1993), a csa impede a secreção de γ interferon, mas não afeta a síntese de α interferon produzidos por leucócitos e β interferon produzidos pelos fibroblastos. As doses de csa que suprimem funções da célula T, têm pouco ou nenhum efeito sobre o sistema de células (DALEY & WYSOCKI, 1984).

V.4- VIAS DE ADMINISTRAÇÃO

Em humanos a csa pode ser administrada na forma oral, intramuscular ou intravenosa, sendo a forma mais comum a administração oral. WASSEF et al., (1985) avaliaram o perfil farmacocinético da csa em ratos, utilizando as diferentes vias de administração e concluíram que a injeção pela via subcutânea possui algumas vantagens sobre as demais. A aplicação pela via subcutânea, não requer anestesia, é melhor tolerada pelo animal e permite que a droga atinja níveis plasmáticos adequados e uniformes.

V.5-POSOLOGIA

As concentrações terapêuticas ideais da csa ainda não estão bem determinadas. Devido a ampla variação interindividual dos níveis de csa no sangue, o monitoramento da dose administrada é importante, e pode ser feito através de radioimunoensaio ou cromatografia (GREEN, 1981; BUONPANE, 1990). Para manter a imunossupressão, a dose oral necessária é de 10 a 20 mg/kg de peso corporal/dia, isto é, uma concentração sérica entre 100-400ng/ml. Segundo TOWPIC et al., (1985), para uma imunossupressão ideal, a dose de csa tem que ser ajustada individualmente. Geralmente a dose inicial gira em torno de 15 mg/kg de peso corporal./dia diminuindo gradualmente durante o primeiro mês e mantendo a dose de 5 a 10 mg/kg de peso corporal/dia, no restante do tratamento (WASSEF et al., 1985).

V.6-ABSORÇÃO E METABOLISMO

Em humanos após a administração oral, a absorção da csa é incompleta, sendo irregularmente absorvida no trato gastrointestinal (GUERCKI et al., 1985). Os picos de concentração plasmática são obtidos após 3 a 4 horas, com meia vida de 17 a 40 horas (BEVERIDGE et al., 1981). No sangue cerca de 50% da droga são encontradas nos eritrócitos,

40% no plasma e 10% nos leucócitos. No plasma aproximadamente 95% estão ligados a lipoproteínas (BUONPANE, 1990).

Em cães, após a administração oral, o pico de concentração sérica, medido através de cromatografia é de 10 µg/ml após 2 a 4 horas, para cada miligrama da dose administrada e em ratos é de 3 µg/ml após 6-8 horas, o que corresponde a administração de 10 mg/kg de peso corporal/dia, num rato de 100 g (RYFFEL, 1982)

O metabolismo da csa em animais como cães, coelhos e ratos é semelhante ao homem. A csa é metabolizada no fígado, através do citocromo P 450, um sistema de oxidases de função mista (MAURER, 1985). O metabolismo da droga envolve N-dimetilação, hidroxilação e ciclização. A csa é biotransformada em 14 metabólitos, não havendo uma via metabólica única (SEYMOUR & JACOBS , 1992). A excreção dos metabólitos é principalmente pela biliar, portanto através das fezes, somente 10% dos metabólitos são excretados pela urina, e a meia vida varia de 7,9 a 10,2 horas (RYFFEL, 1982; KAHAN, 1989; BRYNSKOV et al., 1992).

Cetoconazol inibe o metabolismo hepático elevando as concentrações de csa, resultando em nefrotoxicidade (FERGUSON et al., 1982; CUNNINGHAM et al., 1983). Por outro lado a rifampicina, fenobarbital e fenitoína podem reduzir a concentração plasmática de csa e provocar

rejeição do órgão transplantado (KEOWN et al., 1984; FREEMAN et al., 1984; MODRY et al., 1985).

V.7- EFEITOS COLATERAIS

É bem estabelecido que a csa produz efeitos colaterais indesejáveis (SEYMOUR & JACOBS, 1992), sendo o rim e o fígado os órgãos mais comumente comprometidos (KLINTMALM et al., 1981; GRAFFENRIED et al., 1986).

Em 100 pacientes transplantados renais, que receberam csa, vários efeitos colaterais foram descritos. A hepatotoxicidade foi observada em 33%, em 50% nefrotoxicidade, 15% tremores, 12% hirsutismo, 6% hiperplasia gengival, 5% infecções renais e 2% depressão da medula óssea (OTA & BRADLEY, 1983).

De acordo com VATHSALA et al., (1990), de 704 pacientes transplantados renais e imunossuprimidos com csa, 12,8% apresentaram proteinúria, 30,2% rejeição crônica do transplante e 11,1% glomerulonefrite. Também são relatados hipertensão, edema facial, hepatite B, cirrose hepática e diabete (RIED et al., 1983; HUANG et al., 1990; TRESHAM et al., 1990; SUMRAM et al., 1991).

Ratos que receberam 45 ou 90 mg/ kg/ dia de csa por 13 semanas, apresentaram hirsutismo, diarreia, aumento gengival e diminuição de

peso. No exame hematológico, esses animais apresentaram neutropenia, linfo-eosinofilia e anemia hipocrômica (RYFFEL, 1982).

São controversos os estudos quanto a influência da csa sobre a reação inflamatória e processo de reparação. Segundo alguns autores há inibição ou retardo destes processos, enquanto outros não confirmaram essa observações (FISHEL, 1983; NEMLANDER et al., 1983). Por outro lado, em recente estudo desenvolvido por nós, observou-se desenvolvimento mais acentuado do tecido de granulação, traduzido na aceleração da cicatrização (SPOLIDORIO et al., 1991). Segundo BARTOLD et al., (1989), esponjas de poliuretano impregnada com *M. tuberculosis*, implantadas no dorso de ratos tratados com 10mg/kg de peso corporal/dia de csa, mostrou redução do número de neutrófilos e linfócitos, indicando desenvolvimento mais acentuado do tecido de granulação, traduzido pela maior atividade fibroblástica na formação do colágeno, acelerando a cicatrização.

A nefrotoxicidade é frequentemente observada, e, bem documenta, podendo ocorrer em até 90% dos pacientes que são submetidos ao tratamento com csa (SUTHERLAND et al., 1984; KAHAN, 1983). É acompanhada por aumento do nível plasmático de creatinina, fosfatase alcalina, e caracterizada por isquemia, degeneração e necrose dos túbulos proximais (CALNE et al., 1979; HAMILTON et al., 1982; BENNETT & PULLIAN, 1983; MIHATSCH et al., 1983). A nefrotoxicidade pode aparecer

depois de 1 semana do início da tratamento com csa como nefropatia crônica (MORRIS et al., 1984). Investigações sobre a nefrotoxicidade foi feita em ratos, camundongos, coelhos, cães e macacos (RYFFEL & MIHATSCH, 1986; MASON, 1989). Essas investigações, mostraram que após o tratamento com csa, há uma mudança na hemodinâmica renal (essencialmente vasoconstrição pré-glomerular); disfunção tubular (transporte de eletrólitos e ácido úrico); estimulação do sistema reninangiotensina e alteração do metabolismo da prostaglandina (MASON, 1989). A nefrotoxicidade pode estar relacionada com a dosagem e conseqüentemente com o nível sérico da droga no sangue (LAUPACIS et al., 1981), podendo tanto os sinais quanto os sintomas, regredirem com a diminuição da dose.

A hipertensão também é um achado clínico muito importante em pacientes imunossuprimidos pela csa, com incidência de 38,5% dos pacientes que fazem uso dessa droga (HAMILTON et al., 1982).

A hepatotoxicidade foi primeiramente observada em animais, principalmente em cães e macacos submetidos a doses de 40 até 100 mg/kg de peso corporal/dia de csa por 4 semanas (CALNE et al., 1979; RYFFEL, 1982). Efeitos semelhantes são encontrados em humanos, sendo caracterizados clinicamente pela elevação do nível de bilirrubina e fosfatase alcalina (LAUPACIS et al., 1981), efeito esses reversíveis com a diminuição da dosagem. A hepatotoxicidade ocorre com menor frequência

que a nefrotoxicidade. A incidência de hepatotoxicidade em 66 pacientes transplantados e imunossuprimidos pela csa foi de 19,7%, porcentagem essa baixa em relação a nefrotoxicidade que foi de 50% (KLINTMALN et al., 1981).

A csa produz um quadro clínico característico de neurotoxicidade, incluindo convulsão, tremor nas extremidades, parestesia, principalmente na região perioral (ATKINSON et al., 1984). Esses efeitos são passageiros resolvendo com o passar do tempo ou com a redução da dose (CALNE et al., 1979).

Trombose arterial glomerular também tem sido relatado em pacientes que se submeteram ao transplante de medula óssea (SHULMAN et al., 1981, VANRENTERGHEM et al., 1985). A trombose também tem sido observada em biopsias pós transplantes de pacientes imunossuprimidos pela csa, e que sofreram rejeição (NEILD et al., 1984).

Casos de linfoma são frequentemente observados em pacientes transplantados que fazem uso da csa (CALNE et al., 1978, 1981). Talvez essa neoplasia linfoproliferativa seja resultado da associação da csa com a infecção pelo vírus Epstein Barr (NAGINGTON & GRAY, 1980, DUMMER et al., 1984). Entretanto o potencial carcinogênico da csa, precisa ser ainda estudado (PENN, 1987). Segundo RYFFEL (1992), a incidência de linfomas é de 0,9% em 15000 pacientes que se submeteram ao transplante renal; 0,2% em 800 transplantes cardíacos; 0,9% em 550 transplante de

fígado e 0,2% de 2300 transplantes de medula óssea, sendo um total de 0,3% de 19850 transplantes.

Outra neoplasia que tem chamado a atenção é o Sarcoma de Kaposi, que foi diagnosticado em pacientes transplantados e tratados com csa (PENN, 1983; QUNIBI et al, 1988).

Geralmente os pacientes que fazem uso de drogas imunossupressoras como por exemplo azatioprina, estão predispostos à infecções oportunistas, incluindo infecções por bactérias, vírus e fungos (CALNE, 1980). Entretanto, pacientes que são tratados com csa, podem ter menor propensão a desenvolver infecções por fungo e bactérias (THE CANADIAN MULTICENTRE TRANSPLANT STUDY GROUP, 1983). A incidência é ainda menor em pacientes que fazem uso só da csa (CALNE, 1980), porém, infecções virais são citadas como complicações em pacientes imunossuprimidos pela csa e tem despertado curiosidades, principalmente com relação ao vírus Epstein-Barr (EBV), e sua possível relação com a proliferação de linfomas (RYFFEL, 1992). Altas doses de csa inicialmente usadas para imunoterapia à transplantes, pode inibir a ação de células T citotóxicas específicas contra EBV (CRAWFORD & EDWARDS, 1981). Em camundongos tratados com 0, 1, 4 ou 16 mg/kg de peso corporal/dia, via oral por 78 semanas, infectados por vírus EBV, verificou-se que, com altas doses de csa (16 mg/kg de peso corporal/dia), a incidência de linfomas aumentou (WILSON et al., 1983). Com relação a

pele e seus anexos, o que mais chama atenção nos pacientes que são tratados com csa é a hipertricose (LAUPACIS et al., 1982). Também é característico o crescimento anormal das unhas (GLUCKMANN et al., 1981) e casos de carcinoma espino celular (MORTIMER et al., 1983).

V.8-CSA E AUMENTO GENGIVAL

O que mais chama a atenção na odontologia quanto a utilização da csa é o aumento gengival (WYSOCKI et al., 1984; RATEISCHAK-PLUS et al., 1983). A relação entre a csa e o aumento gengival em humanos foi relatado pela primeira vez na literatura odontológica por RATEISCHAK-PLUS et al., (1983).

A relação entre csa e aumento gengival em humanos foi relatado no início dos anos 80 quando avaliou-se a eficácia da csa em pacientes submetidos a transplantes renais (STARZL et al., 1980; CALNE et al., 1981). Posteriormente avaliando-se a toxicidade da csa em animais experimentais como cães e ratos, verificou-se que em ratos submetidos ao tratamento com 14, 45 e 90 mg/kg/dia de csa, via oral, por 13 semanas, apresentavam aumento gengival, o mesmo acontecendo com cães que receberam dose de 45mg/kg/dia por 52 semanas (RYFFEL,1982). Posteriormente foi reavaliado em cães e gatos a toxicidade da csa, e dentre os achados verificou-se que cães que eram tratados com 15 a 45

mg/kg/dia de csa-A por 45 semanas e gatos com 45 a 95 mg/kg/dia apresentavam aumento gengival (RYFFEL, 1983).

A incidência do aumento gengival em humanos é variável girando em torno de 6 a 81% (RATEITSHAK-PLUS et al., 1983 ; BENETT & CHRISTIAN, 1985; SEYMOUR et al., 1987; SEYMOUR & JACOBS, 1992). A idade é fator importante, pois, verificam-se que o aumento gengival é maior em adultos jovens e crianças (TIPTON et al., 1991). Em alguns pacientes mais sensíveis, a csa, induz o aumento gengival em 3 meses após o início do tratamento (SEYMOUR et al., 1987), entretanto, alguns casos ocorrem depois do primeiro mês do início do tratamento (TYLDESLEY & ROTTER, 1984).

O aumento gengival causado pela csa, começa nas papilas interdentais, principalmente na região vestibular de mandíbula e maxila, mais encontrado na região de pré-molares e molares inferiores. O crescimento pode evoluir numa massa extensa que recobre todas as coroas dentais comprometendo a oclusão, a fala e a mastigação (RYFFEL et al., 1982; SEYMOUR & JACOBS , 1992; DALEY & VISOCKI , 1984; BARTOLD, 1987; SOMACARRERA et al., 1994; TYLDESLEY & ROTTER, 1984). O volume gengival aumenta progressivamente de 0,1mm em 1 mês para 1,04mm em 5 meses, estabilizando-se depois desse período (SOMACARRERA et al., 1994).

V.9-DOSE DE CSA E O AUMENTO GENGIVAL

ROSS et al. (1989), sugerem que o aumento gengival se desenvolva quando a concentração excede 170 a 200 $\mu\text{g/ml}$ de csa, e segundo RYFFEL et al. (1983), e SOMACARRERA (1994), a associação do aumento gengival com a concentração plasmática da droga é altamente significativa. Tem-se observado que os pacientes tratados com doses acima de 10mg/kg/dia de csa, têm maior incidência de aumentos gengivais (ADAMS et al., 1984; ROSTOCK et al ,1986).

Segundo DALY (1992), paciente que apresentava hepatite crônica ativa, tratado com 10 mg/kg/dia, desenvolveu aumento gengival 5 semanas após o início do tratamento. Após a diminuição da dosagem para 5 mg/kg/dia de csa, houve remissão completa da lesão. Observações semelhantes foram notadas por RYFFEL et al., (1983), onde cães, gatos e ratos tratados com elevadas doses de csa e que apresentavam aumento gengival, tinham remissão da lesão após 6 semanas da interrupção do tratamento.

V.10-PLACA BACTERIANA E AUMENTO GENGIVAL

O aumento gengival pode estar associado com a presença da placa bacteriana, cálculo supra ou sub gengival, restaurações mal adaptadas, aparelhos ortodônticos, próteses ou em paciente respirador bucal (DALEY

& VISOCKI, 1984; CALNE et al., 1981; WYSOCKI et al., 1983; MC GAW et al., 1987; BARTOLD, 1987). Grande ênfase tem sido atribuída à placa bacteriana e outros irritantes locais no desenvolvimento do aumento gengival causado pela csa, mesmo porque a placa bacteriana constitui um fator etiológico básico da doença periodontal inflamatória (JOHNSON, 1975; DELILIERS et al., 1986; DALEY et al., 1986; MACGAW et al., 1988; ROSS et al., 1989; SEYMOUR & SMITH, 1987; SOMACARRERA , 1994). Em ratos, o desenvolvimento do aumento gengival causado pela csa foi mais exuberante quando os animais eram submetidos ao tratamento com dieta cariogênica e inoculados com *Streptococcus sobrinus* (KITAMURA et al., 1991). Segundo DALY et al. (1992), o aumento gengival causado pela csa pode regredir não só com a diminuição da dose, mas, com o controle da higiene oral, remoção da placa e cálculo gengival.

Entretanto a correlação placa dentária e aumento gengival, também é questionada pois, tem sido mostrado que o controle e mesmo a remoção da placa bacteriana ou cálculo gengival não inibe o desenvolvimento do aumento gengival causado pela csa (SEYMOUR et al., 1987). Segundo FRISKOPP & KLINTMALM (1986), pacientes edentados e tratados com csa não apresentam aumento volumétrico no rebordo alveolar, sugerindo-se, que a placa dental não seja fator essencial e sim fator coadjuvante na patogênese do aumento gengival provocado pela csa (SEYMOUR et al., 1987). Por outro lado , segundo THOMASON et al. (1994), paciente

edentado, transplantado renal, que era submetido à terapia imunossupressiva com csa e nicardipina (derivado dihidropiridina, droga bloqueadora do canal de cálcio), azatioprina e prednizolona, desenvolveram aumento volumétrico no rebordo alveolar, semelhante a hiperplasia papilar inflamatória, a qual está intimamente relacionada com trauma da prótese e/ou infecção fúngica (ARENDORF & WALKER, 1987). THOMASON et al. (1993), sugeriram que a lesão acima descrita pode ser exacerbada ou modificada pela csa e nifedipina. O aumento gengival pode dificultar controle da placa bacteriana, persistindo o acúmulo de irritante local e conseqüente inflamação (KING et al., 1993). Segundo McGaw et al. (1987), a placa ou cálculo dental, podem ter papel importante no desenvolvimento do aumento gengival além daquele relacionado com a inflamação, atuando como reservatório de csa

V.11-CONCENTRAÇÃO DE CSA NA SALIVA E AUMENTO GENGIVAL

O aumento gengival tem sido relacionado com a concentração plasmática e salivar da csa (MC GAW et al., 1987; SEYMOUR et al., 1987). Segundo NIEDERBERGER et al., (1983), a csa não pode ser detectada na saliva, mas de acordo com COATES et al. (1988), a presença da csa na saliva pode ser detectada através de radioimunoensaio (RIA).

De acordo com MCGAW et al. (1987), a concentração de csa na saliva total, isto é, saliva provenientes de todas as glândulas, de 30

pacientes que submetidos à transplantes renais e imunossuprimidos apenas com csa, que apresentavam aumento gengival, foi significativamente alta, havendo relação entre concentração e severidade do aumento gengival. Os mesmos resultados não foram observados quando coletavam-se saliva através de uma cânula, das glândulas parótidas ou submandibulares desses mesmos pacientes, não se observando csa nessas salivas. Essa divergência dos resultados pode estar na diferença de técnica ao coletar saliva ou pelo fato de que a placa bacteriana possa ser um reservatório natural de csa, liberando a droga para a saliva, em pacientes que fazem uso oral de csa.

A csa também pode ser detectada pelo método de cromatografia líquida de alta pressão, que é um método mais sensível que o radioimunoensaio (RIA), para a detecção de csa no plasma ou na saliva (SANGHVI et al., 1988). Esse teste foi realizado por KING et al. (1993), para medir a concentração de csa-A na saliva de 18 pacientes submetidos a transplante renal. O autor verificou que houve uma inexpressiva concentração de csa-A na saliva desses pacientes.

V.12-MICROSCOPIA DO AUMENTO GENGIVAL INDUZIDO PELA CSA

Microscopicamente o aumento gengival causado pela csa, em humanos, exibe epitélio acantótico e/ou espongirose, paraqueratinização de variável espessura e prolongamentos digitiformes para o conjuntivo. O

tecido conjuntivo é fibroso, com vasos sanguíneos de pequeno calibre, áreas de degeneração mixomatosa, e regiões de infiltrado mononuclear (RATEICHAK - PLUSS et al., 1983). Apesar da abundância de fibras colágenas, são observados poucos fibroblastos (BARTOLD et al., 1987). Resultados semelhantes foram descritos em outros estudos, variando apenas a intensidade do infiltrado inflamatório ou aumento da densidade numérica de fibroblastos (DELILIERS et al., 1986; ROSTOCK et al., 1986). Características similares foram encontradas em ratos (KITAMURA et al., 1991). Através de imunohistoquímica, tem-se descrito que no tecido conjuntivo de gengiva clinicamente normal de humanos, poucas células mononucleares, sendo essas predominantemente linfócitos T, alguns monócitos com ausência de linfócitos B (FRISKOPP et al., 1986). O'VALLE et al. (1993), estudando imunohistoquimicamente a população de leucócitos de 30 casos de aumento gengival induzido pela csa em humanos, observou maior concentração de células inflamatórias, de linfócitos T (CD3), Linfócitos T helper (CD4) e linfócitos T supressor (CD8) e macrófagos (CD68). Não foi estatisticamente significante a diferença entre a população de linfócitos B (CD20) e a população de células K (CD16) e NK (CD 17).

A análise imunohistoquímica do epitélio gengival humano, mostra que células epiteliais, particularmente, células de Langerhans, podem ser afetadas pela csa (FURUE & KATZ, 1988). No aumento gengival há

acentuado aumento na população de células de Langerhans na região intraepitelial e imediatamente subjacente ao epitélio, próximo à área inflamada (SAVAGE et al., 1987). Segundo YAMALIK et al. (1991), as células epiteliais dos aumentos gengivais causado pela csa em humanos, à nível de microscopia eletrônica, apresentaram morfologia modificada, principalmente dilatadas cisternas do retículo endoplasmático rugoso.

Os fibroblastos a nível de microscopia de luz podem se apresentar com núcleo grande, vesicular e ovóide (WYSOCKI et al., 1983). Em cultura, os fibroblastos derivados de gengiva normal ou de aumento gengival causado pela csa não têm demonstrado diferenças morfológicas, quando observados em microscopia de contraste de fase (BARTOLD, 1987). Os fibroblastos podem apresentar bandas de microfilamentos com nódulos semi-periódicos, e membrana nuclear com prolongações digitiformes (YAMASAKI et al., 1987). Fibroblastos com essas características são chamados de miofibroblastos (GABBIANI et al., 1977), células essas que estão presentes em uma variedade de tumores como dermatofibroma (KATENKAMP & STILLER, 1975) e fibroma desmoplástico ósseo (LEGACÉ et al., 1979).

V.14-EFEITOS DA CSA "IN VITRO"

"In Vitro" a csa pode influenciar diretamente o metabolismo de colágeno e a proliferação celular, dependendo das cepas de fibroblastos e

da dose de csa (ZEBROWSKY et al., 1986; COLEY et al., 1986). Entretanto, em algumas subpopulações de fibroblastos, a csa parece não exercer nenhuma atividade (COLEY et al., 1986).

Essas observações podem ser atribuídas a heterogeneidade de subpopulações de fibroblastos intra e inter indivíduos (HASSEL & STANEK, 1983). Essas subpopulações são geneticamente diferentes em diversos parâmetros: crescimento, produção de colágeno e respostas à vários agentes químicos (HASSEL et al., 1976). Tem sido demonstrada subpopulações de fibroblastos fenotipicamente diferentes, incluindo diferenças na resposta a outras drogas como a fenitoína (HASSEL & GILBERT, 1983). A literatura atual inclui o termo "responde" ou "não responde", para aqueles pacientes que são tratados com csa, que podem ou não desenvolver aumento gengival (SEYMOUR et al., 1993).

Diferenças entre subpopulações de fibroblastos também são encontradas em várias patologias que têm como características o aumento de fibras colágenas como dermatofibroma (KATENKAMP & STILLER, 1975, FINNER et al., 1987). Não está bem determinada a influência da csa sobre fibroblastos gengivais e na síntese de matriz extracelular. Segundo WYSOCKI et al., (1983), o aumento gengival causado pela csa é acompanhado por aumento do número de fibroblastos e da matriz extracelular. Entretanto outros estudos não descrevem aumento do número de fibroblastos e sim, aumento da quantidade de matriz extracelular em

gengiva de humanos ou ratos tratados com csa (ROSTOCK et al., 1986). Segundo SEYMOUR & JACOBS (1992), por não haver aumento do número de células, a lesão não é chamada de hiperplasia verdadeira, devendo ser chamada de aumento gengival causado pela csa.

McGAW et al. (1988), sugerem que o aumento gengival causado pela csa pode ser resultado do aumento da proliferação celular, aumento da atividade de síntese de matriz extracelular, decréscimo da degradação dessa matriz ou uma combinação de todos esse fatores. Sabe-se que os fibroblastos gengivais, além de sintetizar colágeno, sintetizam também colagenase e um inibidor tecidual de metaloproteinase (TIMP), que proporcionam um equilíbrio entre síntese e degradação do colágeno, que em lesões fibrosas como aumento gengival, o equilíbrio existente entre a síntese e a degradação do colágeno pode estar alterado, acumulando excessivamente essa proteína no espaço intersticial, por produção reduzida de colagenase ou por aumento da produção de inibidor tecidual de metaloproteinase (FULLMER et al., 1969; BIRKEDAL- HANSEN, 1976; GOLUB et al., 1976; HEATH et al., 1982; TIPTON et al., 1991).

VI-MEDIDAS LINEARES AO MICROSCÓPIO ÓPTICO (MORFOMETRIA)

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, 1991), ou através de programas específicos para informática (FISHER & KLING, 1994).

BERGLUNCH et al. (1991), usou essa metodologia para mensurar linearmente estruturas histológicas do periodonto de cães jovens e adultos. Para avaliar as dimensões do epitélio bucal da gengiva, fixou-se as regiões coronária, média e apical. Para avaliar as dimensões do tecido conjuntivo, mediu-se a distância entre a junção esmalte-cimento e o epitélio oral. FISCHER & KIING (1994), avaliou através da morfometria feita com programa para informática, as dimensões lineares do epitélio bucal e juncional em lâminas coradas em H.E., do aumento gengival induzido pela csa, em furão. Para isto, foram feitas 3 medidas no epitélio bucal e 1 medida no epitélio juncional.

VII-PRINCÍPIOS DA ESTEREOLOGIA

A maior parte dos estudos estereológicos obtém dados diretamente da microscopia óptica e eletrônica. Como resultado a composição quantitativa de tecidos e células pode ser conhecida. Isto tem dado, nos últimos anos, um impulso importante ao conhecimento morfológico com aplicação imediata no aprimoramento do diagnóstico patológico (FISHER et al., 1971). O objetivo da estereologia é determinar

parâmetros quantitativos tridimensionais de estruturas anatômicas a partir de cortes bidimensionais (WEIBEL, 1969; ANDERSON & LOWE, 1990). A análise estereométrica citada por HANS ELIAS em 1962, e por WEIBEL & ELIAS (1967), tem como fundamento básico o teorema do geologista DELESSE em 1948, cujo enunciado é:

“Numa rocha composta por vários minerais, a área ocupada por qualquer mineral, na superfície de um corte da rocha é proporcional ao volume do mineral da rocha”. Em outras palavras, o enunciado acima estabelece que a fração de volume ocupada por um objeto num continente é diretamente proporcional à fração da área que o mesmo ocupa num plano seccional médio pelo continente. O volume relativo significa que a relação de volume é sempre uma porcentagem.

A determinação da densidade volumétrica, em cortes histológicos, pode ser feita utilizando-se um sistema teste de pontos, que foi inicialmente aplicado à histologia por CHALKEY (1943), considerada forma eficiente para a determinação estereométrica em cortes histológicos (WEIBEL, 1963; ANDERSON & DUNNIL, 1965). Contando-se o número de pontos sobre determinada estrutura a ser medida e dividindo-se pelo número total de pontos sobre o corte histológico, teremos a estimativa da densidade volumétrica do componente considerado (MANDARIN DE LACERDA, 1992). O sistema teste é composto por um conjunto de linhas e pontos, que deve ser superposto à imagem histológica para contagem estereológica.

Existem vários sistemas testes, propostos para variados fins. Os sistemas testes, comumente, são desenhados com retas ou segmentos de retas, apresentando arranjos geométricos triangular, quadrado ou hexagonal (WEIBEL, 1969; ANDERSON & LOWE, 1990). Alguns sistemas testes, apresentam arcos ciclóides com distribuição de orientação proporcional ao seno do ângulo do eixo vertical, que são feitos com auxílio de desenho feito por computador (BADDELEY et al., 1986; GUDERSEN et al., 1988a). SCHROEDER & MUNZEL-PEDRAZZOLI (1973), aplicaram técnicas estereológicas no tecido conjuntivo gengival através de sua subdivisão em 2 porções, uma se localizando próximo ao sulco gengival, chamada de tecido conjuntivo infiltrado (TCI), devido a predominância de células inflamatórias, e outra porção denominada tecido conjuntivo não infiltrado (TCN), que predomina fibras colágenas e fibroblastos. HASSEL et al., (1978), realizaram quantificação de fibroblastos e fibras colágenas do tecido conjuntivo do aumento gengival devido ao uso de dilantina em comparação com o da gengiva clinicamente normal. Não encontraram diferenças significativas entre o aumento gengival e o tecido normal, sendo esses de composição semelhantes.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

I- ANIMAIS

Foram utilizados 100 ratos (*Ratus norvegicus albinus*, wistar) machos, jovens, com peso inicial de aproximadamente 50 g, alimentados com água e ração "ad libitum".

II- AUMENTO GENGIVAL

60 ratos foram distribuídos aleatoriamente em 6 grupos de 10 e submetidos a diversos tratamentos como ilustra a tabela I.

TABELA I - Distribuição dos grupos de ratos (n = 10) submetidos (+) ou não (-) aos tratamentos com csa, dieta cariogênica e xerostomia. O grupo I foi considerado controle.

GRUPO n=10	CSA	DIETA CARIOGÊNICA	XEROSTOMIA
I	-	-	-
II	+	-	-
III	+	+	-
IV	+	-	+
V	-	+	-
VI	-	-	+

II-1 DILUIÇÃO DA CSA

A csa* recebida em ampolas para infusão intravenosa, na concentração de 50 mg/ml, foi diluída com solução de NaCl a 0,9% na concentração final de 10 mg/ml .

II-2 DIETA CARIOGÊNICA

A dieta cariogênica foi constituída por 56% de açúcar refinado**, 30% de leite em pó integral*** e 14% de ração labina purina triturada. A ração foi peneirada e misturada com o açúcar e o leite em pó (QUERIDO et al., 1971).

II-3 XEROSTOMIA

A remoção cirúrgica das glândulas salivares parótida, submandibular e sublingual foi feita como descrito por CHEYNE (1939). Os animais foram anestesiados com hidrato de cloral na concentração de

* CSA - Sandoz do Brasil

** Açúcar refinado União

*** Leite Integral Ninho Nestlé

400mg/kg de peso corporal injetado intraperitonealmente. Após a tricotomia da região cervical e antissepsia com álcool iodado, foi feita incisão na pele na porção cervical mediana, e o tecido subjacente dissecado, evitando-se os grandes vasos. Inicialmente foi exposta a glândula parótida, que se estende da região massetérica até a altura da clavícula, apresentando seu maior eixo na direção céfalo caudal. Posteriormente as glândulas submandibulares foram expostas simultaneamente, visto que formam uma massa única facilmente distinguida dos linfonodos adjacentes. As glândulas foram removidas cortando-se os ductos e vasos, após prévia ligadura com fio de algodão.

II-4 TRATAMENTO COM CSA

A csa foi administrada na concentração de 10 mg/kg de peso corporal/ dia, por via subcutânea (WASSEF et al., 1985), durante 60 dias. Os animais controle foram injetados de forma similar com solução de NaCl a 0,9%.

II-5 OBSERVAÇÕES MACROSCÓPICAS E MICROSCÓPICAS

Após 60 dias de tratamento com csa os animais foram sacrificados por inalação excessiva de éter etílico e as mandíbulas retiradas e

analisadas macroscopicamente através de lupa estereoscópica Zeiss. Após fixação em formol a 10% durante 24 horas, as mandíbulas foram desmineralizadas em solução de Morse (50 ml de ácido fórmico a 50% e 50 ml de citrato de sódio a 20%), e incluídas em parafina. Os cortes seriados de 6 μm no sentido vestibulo lingual foram corados com H.E. .

II-6 MORFOMETRIA

As medidas morfométricas foram feitas nas gengivas marginais livres vestibular e lingual, direita e esquerda em todos os grupos utilizando-se uma ocular milimetrada Ernst Lertz Wetzlar Germany 12,5x , e objetiva de 10x, a intervalos de 10 cortes entre uma contagem e outra no seriamento dos cortes (cerca de 60 μm).

De acordo com LISTGARTEN (1975) e BERGLUNCH et al. (1991), foram estabelecidos pontos morfológicos na gengiva marginal livre. As mensurações foram feitas a partir desses pontos, como ilustrado na figura 1. Os resultados foram expressos em μm .

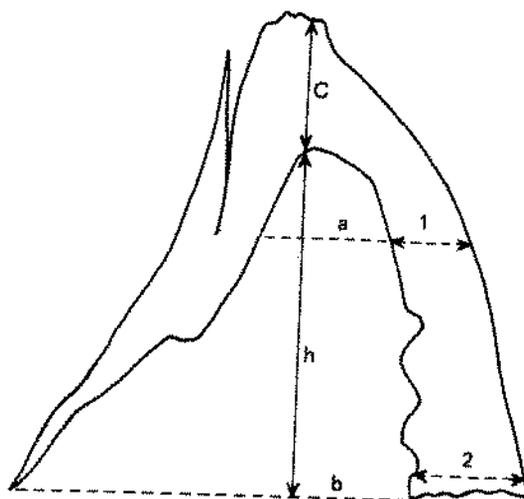


Figura 1- Esquema da gengiva marginal livre do rato, mostrando os pontos de referência usados para as medidas morfométricas do epitélio bucal e tecido conjuntivo.

C= altura do epitélio da crista gengival

1, 2 = epitélio bucal nas porções coronária e basal

h = altura do tecido conjuntivo na região média

a= largura do tecido conjuntivo na região média

b= largura do tecido conjuntivo na região basal

II-7 ESTEREOMETRIA

Em cortes de 6 μm da gengiva marginal dos 1^o molares inferiores, direito e esquerdo, de 5 ratos de cada grupo, foi feita a determinação da densidade volumétrica de fibroblastos (identificados como células fusiformes ou estreladas, núcleo ovóide ou alongado), fibras colágenas, e outras estruturas, que correspondiam a outros tipos celulares, vasos sanguíneos, nervos e espaços vazios. Como macroscopicamente o volume

da gengiva vestibular é maior que a lingual, os dados dessas duas regiões foram analisados separadamente. A quantificação foi feita com auxílio de ocular kpi 10X com retículo de integração II Zeiss de 25 pontos quadriculados e objetiva de imersão (100 x). Foram contados 25 pontos coincidentes sobre as estruturas histológicas em 16 cortes da gengiva face vestibular e 16 cortes da gengiva face lingual (cada corte correspondia a um campo), numa distância de 10 cortes entre uma contagem e outra, perfazendo um total de 400 pontos na gengiva face vestibular e 400 pontos na gengiva face lingual em ambas as hemimandíbulas por animal. A determinação da densidade de volume das estruturas em análise, baseou-se no princípio fundamental da estereologia estabelecido por DELESSE (1848) e aplicados a histologia por WEIBEL (1969), onde o volume relativo (%) foi calculado através da fórmula :

$$P_{pi} = P_i / P \quad \text{onde :}$$

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 o número de pontos do retículo pelo número de campos examinados.

Exemplo: A somatória do número de pontos que incidiram sobre fibroblastos foi de 40 e o número total de pontos contados na face vestibular do lado direito foi de 400, tem-se então: $P_{pi} = 40/400 = 0,10$ ou 10%.

III- REGRESSÃO DO AUMENTO GENGIVAL

III.1- GRUPOS EXPERIMENTAIS

40 ratos foram distribuídos em 8 grupos de 5 animais, sendo que 7 grupos receberam 10mg/kg/dia de csa durante 60 dias e o grupo controle o mesmo volume de solução de NaCl a 0,9%. Após esse período foram interrompidas as injeções e os animais de cada grupo foram sacrificados nos períodos de 0,5,10,15,30,60 e 90 dias. Os do grupo controle, os quais pertenciam ao experimento anterior, foram mortos 60 dias após o início do experimento.

III.2- OBSERVAÇÕES MACROSCÓPICAS E MICROSCÓPICAS

A metodologia usada foi a mesma descrita no item II-5 .

III.3- MORFOMETRIA E ESTEREOMETRIA

As metodologias usadas foram as mesmas descrita nos itens II-6 e II-7.

III.4- QUANTIFICAÇÃO DA ÁREA DO EPITÉLIO, TECIDO CONJUNTIVO E ÁREA TOTAL DA GENGIVA MARGINAL NA REGRESSÃO DO AUMENTO GENGIVAL.

Cortes de 6 μm da gengiva marginal dos 1º molares inferiores direito e esquerdo de 5 ratos de cada grupo estudado, foram submetidos a análise quantitativa para a determinação da área do epitélio, tecido conjuntivo e área total da gengiva marginal. A quantificação foi feita com auxílio de um computador, através de um programa analisador de imagens (MOCHA, JANDEL SCIENTIFIC SAN RAFAEL , CA, USA), acoplado a um microscópio de luz DIASTAR (CAMBRIDGE INSTRUMENTS, BUFFALO, NY, USA), com objetiva de 10x. Foram medidas áreas de 10 cortes da gengiva da face vestibular, distantes um corte do outro aproximadamente 60 μm (10 cortes), usando-se ambas hemimandíbulas. Quantificação semelhante foi feita na gengiva da face lingual. Os resultados foram expressos em pixels e transformados em μm .

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a avaliação estatística do aumento gengival, o delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente ao acaso, em esquema fatorial, com o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijk} = m + t_i + g_j + (tg)_{ij} + e_{ijk} \quad \text{onde:}$$

Y_{ijk} é a observação referente à resposta obtida na k-ésima repetição do tratamento i na j-ésima face gengival

m é um fator fixo, estimado pela média geral do experimento para a variável Y

t_i é o efeito do tratamento i

g_j é o efeito da face gengival j

$(tg)_{ij}$ é o efeito da interação do i-ésimo tratamento com j-ésima face de gengiva

e ijk é o erro aleatório inerente a cada observação Y_{ijk}

O esquema da análise de variância e teste F foi o seguinte:

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Face vestibular e lingual	I - 1	SQ(G)	V1	V1/V4
Tratamentos	I - 1	SQ(T)	V2	V2/V4
GxT	(I - 1) (J - 1)	SQ(G x T)	V3	V3/V4
Resíduo	IJ(K - 1)	SQ(Res.)	V4	
Total	IJK - 1			

Foram testadas as hipóteses de nulidade (estatística):

- as respostas foram iguais para as faces gengivais vestibular e lingual
- as respostas foram iguais para os seis grupos estudados
- as respostas foram diferentes para as faces gengivais vestibular e lingual
- as respostas foram diferentes entre pelos menos dois grupos estudados

Quando a hipótese de nulidade para os tratamentos foi rejeitada (foram acusadas diferenças), foi feito o detalhamento da análise através do teste de Tukey, para detectar qual(is) tratamento(s) apresentou(aram) a(s) diferenças significativas:

onde dms = diferença mínima significativa entre dois tratamentos

q_x = valor tabelado, a um nível α de significância

$Q_m \text{ Res}$ = Quadrado médio do resíduo (obtido na análise de variância)

Procedimento análogo foi feito para detalhamento da análise quando foram acusadas diferenças significativas para as interações de tratamentos com faces gengivais.

Para o fator face vestibular e lingual, a detecção de diferenças significativas pelo teste F não requer detalhamento, pois quando existem só dois tipos, as médias indicam a melhor e a pior resposta.

Para a avaliação da diminuição do aumento gengival, após a interrupção do tratamento com Ca, foram usados os mesmos testes estatísticos descritos anteriormente, porém neste experimento havia dois grupos de análise: qualitativo (grupo controle x grupo tratado com Ca) e quantitativo (dias após a suspensão com Ca). Assim, quando a hipótese de nulidade para tratamentos foi rejeitada, procedeu-se a um desdobramento dos graus de liberdade de tratamentos em dois contrastes:

Y1= controle x grupo tratado com Ca (0 dias)

Y2=entre os dias após a suspensão da csa

Quando o segundo contraste apresentou significância pelo teste F, procedeu-se a uma análise de regressão polinomial, para ajustar uma reta ou curva que explicasse o comportamento dos dados, assim como detectar se havia um ponto de máximo ou de mínimo das variáveis em estudo após a suspensão com csa.

RESULTADOS

RESULTADOS

I-AUMENTO GENGIVAL

I-1 ASPECTOS MACROSCÓPICOS

As gengivas dos incisivos e molares, nas regiões vestibular e lingual dos ratos controle, dos tratados com dieta cariogênica e dos xerostômicos, tinham aspectos clínicos semelhantes. A gengiva era rósea, contornava a porção cervical dos dentes, terminando, em forma afilada como borda de faca, com papilas interdentais nítidas assumindo formas triangulares. Decorridos 60 dias do tratamento com csa, todos os ratos apresentaram aumento da gengiva relativa a todos os dentes superiores e inferiores, independentemente dos tratamentos adicionais. O aumento era mais acentuado nas gengivas dos dentes inferiores, tanto na região de incisivos quanto na de molares. O aumento era semelhante nas hemimandíbulas direita e esquerda. Na mandíbula e na maxila o aumento gengival foi mais exuberante na face vestibular, formando massa homogênea cobrindo quase toda coroa, comprometendo a delimitação das papilas interdentais e contornos dentários. Na face lingual o aumento gengival exibia aspectos semelhantes, porém comprometendo apenas o terço médio da coroa dos molares. Na região de incisivos o aumento gengival foi mais exuberante na região vestibular, causando afastamento entre eles. O tecido hiperplásico

era firme, roseo, não tendendo ao sangramento, portanto, sem sinais clínicos de inflamação (Figuras 1 e 2).

I- 2 ASPECTOS MICROSCÓPICOS

Nos ratos controle, nos submetidos ao tratamento com dieta cariogênica e nos xerostômicos, a gengiva da face vestibular e lingual do primeiro molar inferior, apresentava-se com características normais. Estava recoberta por epitélio pavimentoso estratificado queratinizado, com a interface entre o epitélio gengival oral e o conjuntivo subjacente composta por pequenas cristas epiteliais para o interior do conjuntivo denso. O epitélio sulcular era queratinizado, delgado, e penetrando lateralmente em direção apical até o epitélio juncional. O epitélio juncional era formado por 2-3 camadas de células epiteliais achatadas, frouxamente arranjadas, não queratinizadas, dispostas paralelamente à superfície do dente, e infiltrado por alguns neutrófilos. O conjuntivo mostrava densos feixes de fibras colágenas, entremeadas por delicadas estruturas vasculares, e fibroblastos estrelados ou fusiformes. Na região mais apical, subjacente ao epitélio juncional, observava-se discreto infiltrado inflamatório de células mononucleares.

O aumento gengival da face vestibular e lingual de todos os ratos tratados com csa, caracterizava-se por acantose do epitélio bucal, com

projeções epiteliais mais pronunciadas para o conjuntivo, mais freqüente na região da gengiva inserida. O sulco gengival era mais profundo, decorrente do crescimento gengival, mas com aspectos de normalidade. O tecido conjuntivo era fibroso, com densos feixes de fibras colágenas entremeados por fibroblastos fusiformes ou estrelados, e estruturas vasculares. Subjacente a membrana basal do epitélio gengival oral, os feixes de fibras colágenas são mais delgados e se distribuem em várias direções. Na região mais apical, subjacente ao epitélio sulcular, os feixes de fibras são mais delgadas, cujos fibroblastos parecem ser mais delgados e fusiformes, dispendo-se paralelamente ao longo eixo das fibras. O infiltrado inflamatório subjacente ao epitélio juncional e sulcular apresentava-se moderado em relação à gengiva normal (Figuras 9 a 12).

I-3 MORFOMETRIA DO EPITÉLIO E TECIDO CONJUNTIVO DA GENGIVA DA FACE VESTIBULAR

As médias das medidas morfométricas da crista epitelial, epitélio bucal, altura e larguras A e B do conjuntivo, foram semelhantes nos grupos controle, dieta cariogênica e xerostômico. O tratamento com csa associado ou não a xerostomia ou dieta cariogênica, aumentou significativamente as dimensões lineares, da gengiva vestibular (Tabelas 1 e 2 e figuras 1 e 2).

Tabela 1- Médias das medidas morfométricas ($\mu\text{m} \pm$ desvio padrão) de estruturas da gengiva da face vestibular dos 1^{os} molares inferiores em relação aos vários tratamentos.

Tratamentos	Crista Epitelial*	Epitélio Bucal*	Altura*	Largura A*	Largura B*
Controle	50,80 \pm 0,25A	43,35 \pm 0,98C	414,15 \pm 1,18E	172,63 \pm 0,71G	149,25 \pm 0,66I
Dieta Cariogênica	49,90 \pm 0,75A	42,95 \pm 1,02C	413,90 \pm 0,91E	173,00 \pm 0,98G	150,10 \pm 0,82I
Xerostomia	50,50 \pm 0,70A	42,80 \pm 0,87C	414,30 \pm 1,01E	172,50 \pm 1,20G	149,90 \pm 0,76I
CSA	139,44 \pm 1,30B	100,93 \pm 1,10D	899,55 \pm 0,87F	321,80 \pm 1,07H	302,45 \pm 1,05J
CSA e Dieta Cariogênica	138,95 \pm 0,96B	101,10 \pm 0,76D	898,90 \pm 0,93F	320,75 \pm 0,76H	303,00 \pm 1,21J
CSA e Xerostomia	139,10 \pm 1,04B	100,80 \pm 0,81D	899,40 \pm 1,03F	322,90 \pm 0,81H	302,75 \pm 1,18J

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

* Ver esquema da figura 1 pg 49

Figura 1- Gráfico das medidas morfométricas (μm), de estruturas da gengiva da face vestibular da região de 1^{os} molares inferiores em relação aos vários tratamentos. Ver tabela 1.

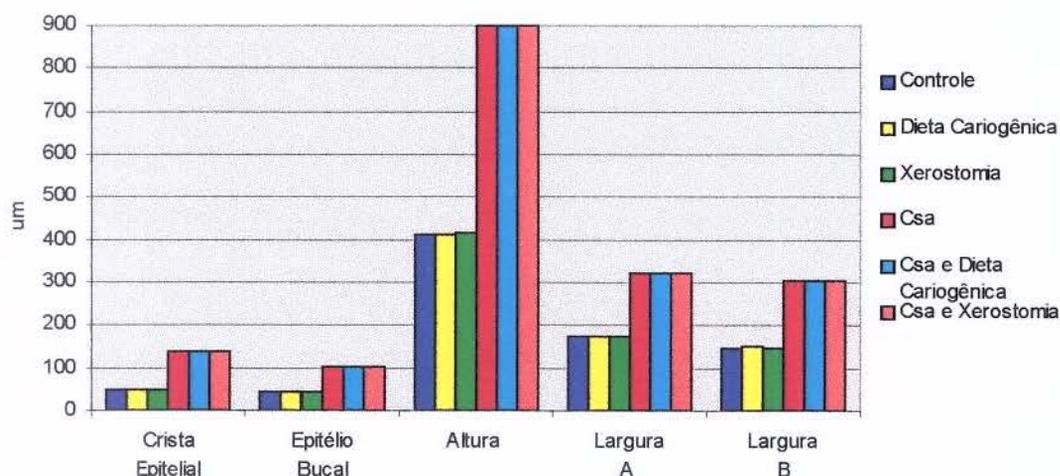
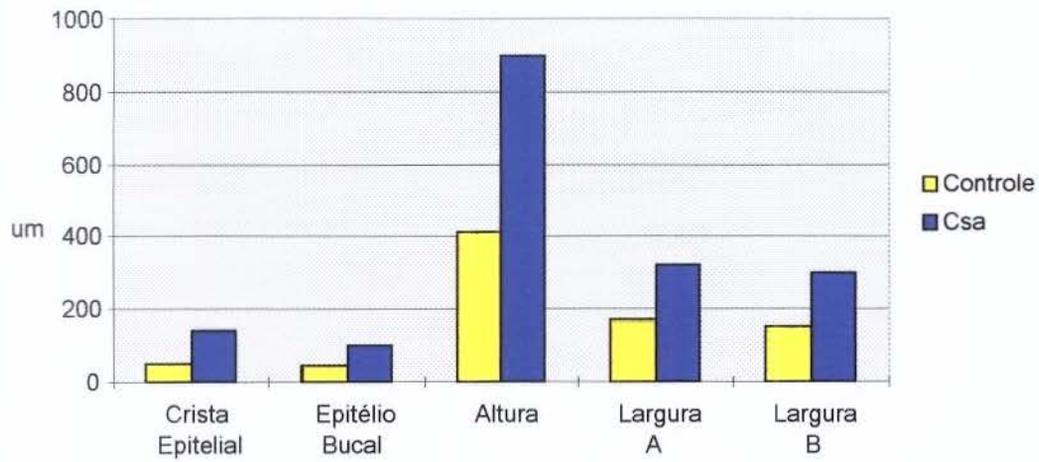


Tabela 2 - Média das medidas morfométricas ($\mu\text{m} \pm$ desvio padrão) de estruturas das gengivas da face vestibular dos 1^{os} molares inferiores agregando-se os grupos controle e os grupos tratados com csa independentemente de xerostomia e dieta cariogênica.

Grupos	Crista*	Epit. Bucal*	Altura*	Larg. A*	Larg. B*
Controle	50,4 \pm 0,37	43,03 \pm 0,23	414,11 \pm 0,16	172,71 \pm 0,21	149,75 \pm 0,36
Csa	139,16 \pm 0,20	100,94 \pm 0,12	899,28 \pm 0,27	321,81 \pm 0,87	302,73 \pm 0,22
Csa/Contr.	2,76	2,34	2,17	1,86	2,02

* Ver esquema da figura 1 pg 49

Figura 2 - Gráfico das medidas morfométricas (μm) de estruturas da gengiva da face vestibular dos 1^{os} molares inferiores agregando-se os grupos controle e os grupos tratados com csa independentemente da xerostomia e dieta cariogênica.



I-4 ESTEREOMETRIA DOS COMPONENTES DO TECIDO CONJUNTIVO DA GENGIVA DA FACE VESTIBULAR

As tabelas 3 e 4, e as figuras 3 e 4 mostram os resultados da estereometria para a avaliação da densidade volumétrica (%) de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas da gengiva vestibular dos primeiros molares inferiores, dos ratos submetidos aos vários tipos de tratamento. As densidades volumétricas de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas foram semelhantes entre os grupos controle, dieta cariogênica e xerostômicos. As densidades volumétricas também foram semelhantes nos ratos tratados com csa, independentemente dos tratamentos adicionais. As densidades volumétricas de fibroblastos e fibras colágenas foram significativamente maiores nos tratados , em relação àqueles não tratados com csa, enquanto que, a densidade volumétrica de outras estruturas foi menor. A relação entre a densidade de volume de fibras colágenas e a densidade de volume de fibroblastos foi semelhante entre os grupos tratados e não tratados com csa.

Tabela 3 - Médias das densidades volumétricas (% \pm desvio padrão) de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da face vestibular da gengiva dos 1^{os} molares inferiores, em relação aos vários tratamentos .

Tratamentos	% de Fibroblastos	% de Fibras Colágenas	% de outras estruturas
Controle	11,82 \pm 0,55A	66,57 \pm 0,80C	21,60 \pm 0,67E
Dieta Cariogênica	11,57 \pm 0,89A	67,65 \pm 1,10C	20,77 \pm 0,81E
Xerostomia	11,40 \pm 0,71A	68,52 \pm 0,96C	20,27 \pm 0,90E
Csa	13,65 \pm 0,90B	71,67 \pm 0,70D	14,67 \pm 1,01F
Csa e Dieta Cariogênica	13,67 \pm 1,70B	73,67 \pm 1,18D	12,90 \pm 0,94F
Csa e Xerostomia	13,95 \pm 0,70B	71,20 \pm 0,95D	14,85 \pm 0,87F

Médias seguidas de letras iguais nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Figura 3 - Gráfico das densidades volumétricas (%) de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da face vestibular da gengiva dos 1^{os} molares inferiores, em relação aos vários tratamentos. *Ver tabela 3

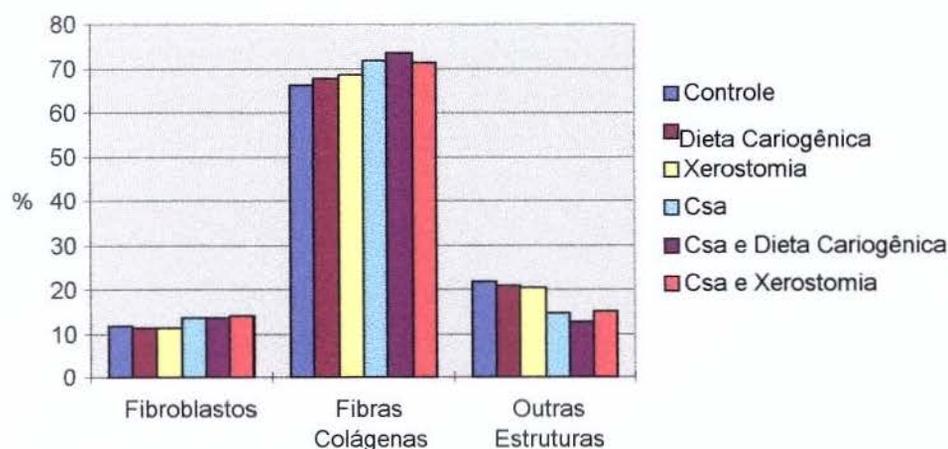
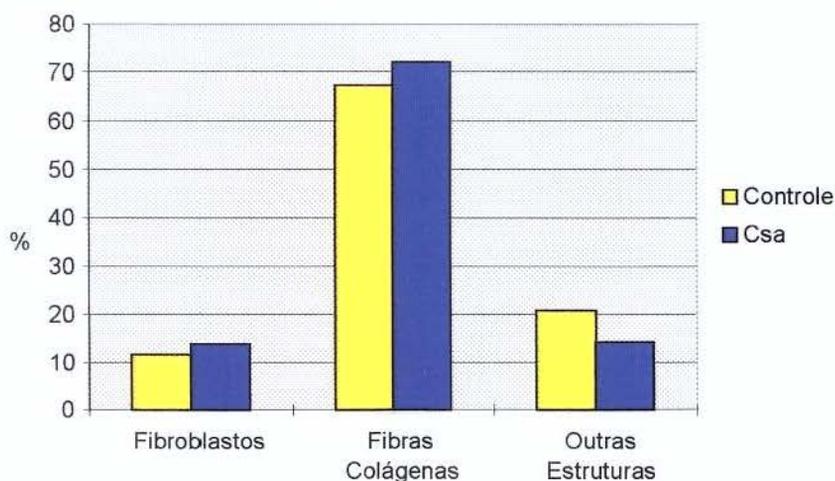


Tabela 4- Média das densidades volumétricas (% \pm desvio padrão) de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da gengiva face vestibular agregando-se os grupos controle e os tratados com csa independentemente de xerostomia e dieta cariogênica

<i>Tratamentos</i>	<i>%Fibroblastos</i>	<i>% de Fibras Colágenas</i>	<i>% de fibras/ % de fibroblastos</i>	<i>% de outras estruturas</i>
Controle	11,59 \pm 0,17	67,58 \pm 0,79	5,83	20,88 \pm 0,54
csa	13,75 \pm 0,13	72,18 \pm 1,07	5,24	14,14 \pm 0,87
csa/ controle	1,18	1,06		0,67

Obs: A relação csa/controle corresponde a relação entre os grupos tratados e controle e % de fibras/ % de fibroblastos corresponde a relação de fibras colágenas/ fibroblastos dentro de cada grupo.

Figura 4 - Gráfico da densidade volumétrica de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da face vestibular da gengiva de 1^{os} molares inferiores, agregando-se os grupos controle e os grupos tratados com csa independentemente da xerostomia ou dieta cariogênica. Ver tabela 4.



I-5 MORFOMETRIA DO EPITÉLIO E TECIDO CONJUNTIVO DA GENGIVA DA FACE LINGUAL

As médias das medidas morfométricas da crista epitelial, epitélio bucal, altura e larguras A e B do tecido conjuntivo da face lingual dos ratos controle, dos submetidos a dieta cariogênica ou xerostomia, foram estatisticamente semelhantes. O mesmo foi observado entre os grupos tratados com csa. As medidas morfométricas das gengivas, dos ratos tratados com csa, foram significativamente maiores, em relação aos grupos que não receberam csa (tabelas 5 e 6 e gráficos 5 e 6).

Tabela 5- Médias das medidas morfométricas ($\mu\text{m} \pm$ desvio padrão) de estruturas da gengiva da face lingual de 1^{os} molares inferiores, em relação aos vários tratamentos.

Tratamentos	Crista Epitelial*	Epitélio Bucal*	Altura*	Largura A*	Largura B*
Controle	47,47 \pm 0,75A	40,45 \pm 0,55C	268,25 \pm 1,20E	156,33 \pm 0,67G	138,45 \pm 1,02I
Dieta Cariogênica	47,90 \pm 1,30A	41,95 \pm 0,90C	267,95 \pm 0,94E	156,00 \pm 0,83G	138,10 \pm 1,00I
Xerostomia	48,50 \pm 0,50A	40,80 \pm 0,76C	267,30 \pm 1,15E	157,10 \pm 1,18G	137,90 \pm 1,03I
Csa	98,66 \pm 1,30B	92,30 \pm 0,85D	521,70 \pm 1,01F	271,95 \pm 0,95H	258,02 \pm 0,77J
Csa e Dieta Cariogênica	98,35 \pm 0,86 B	92,10 \pm 1,20D	520,90 \pm 1,06F	270,75 \pm 1,10H	257,90 \pm 0,84J
Csa e xerostomia	97,90 \pm 1,10B	91,80 \pm 1,09D	520,40 \pm 0,78	271,90 \pm 0,86H	257,750,91J

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5 %.

*Ver esquema da figura 1 pg 49

Figura 5 - Gráfico das medidas morfométricas (μm) de estruturas da gengiva da face lingual, da região de 1^{os} molares inferiores em relação aos vários tratamentos. Ver tabela 5.

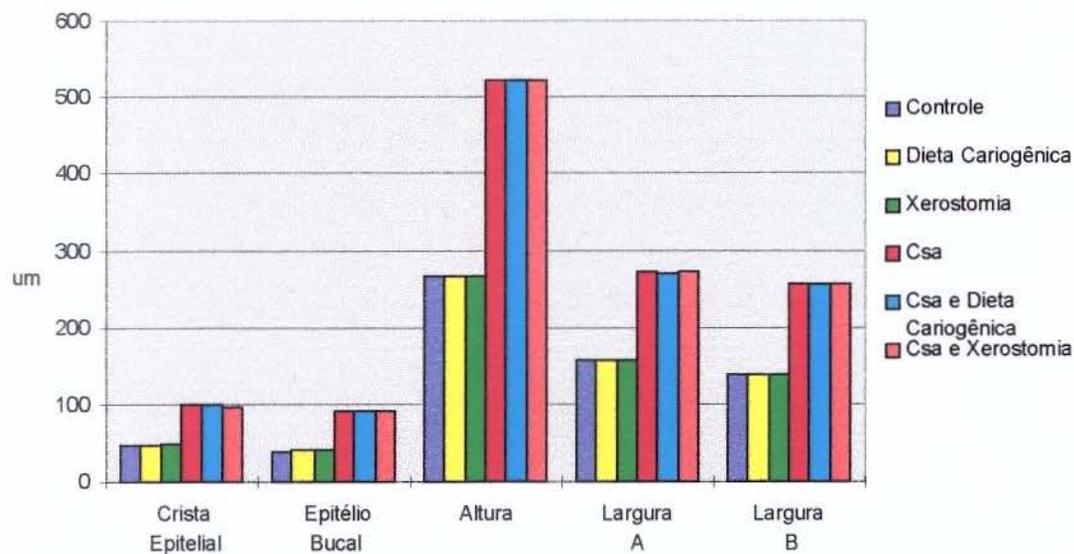
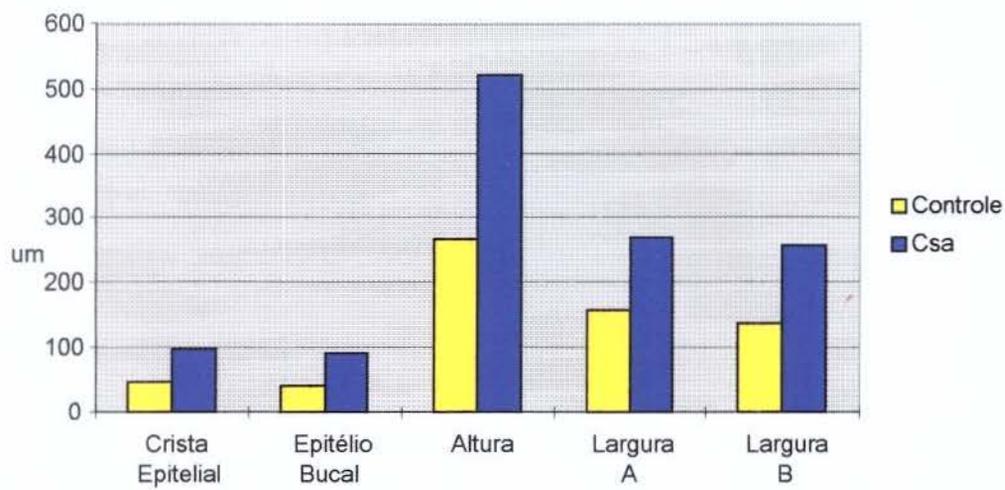


Tabela 6 - Médias das medidas morfométricas ($\mu\text{m} \pm$ desvio padrão) de estruturas da gengiva da face lingual dos 1^{os} molares inferiores, agregando-se os grupos controle e os grupos tratados com csa independentemente da xerostomia e dieta cariogênica. Csa/Cont corresponde a relação entre os grupos tratados e controle.

Tratamentos	Crista Epitelial*	Epitélio Bucal*	Altura*	Largura A*	Largura B*
Controle	47,95 \pm 0,42	41,06 \pm 0,64	267,83 \pm 0,39	156,47 \pm 0,46	138,15 \pm 0,22
csa	98,30 \pm 0,31	92,06 \pm 0,20	521 \pm 0,53	271,53 \pm 0,55	257,89 \pm 0,11
Csa/Controle	2,0	2,24	1,94	1,73	1,86

* Ver esquema da figura 1 pg 49

Figura 6 - Gráfico das médias das medidas morfométricas (μm) de estruturas das gengivas da face lingual dos 1^{os} molares inferiores agregando-se os grupos controle e os grupos tratados com csa, independentemente de xerostomia e dieta cariogênica. *Ver Tabela 6



I-6 ESTEREOMETRIA DOS COMPONENTES DO TECIDO CONJUNTIVO DA GENGIVA DA FACE LINGUAL

As médias da densidade volumétrica de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da face lingual dos ratos submetidos aos diversos tipos de tratamento, estão na tabela 7, 8 e figuras 7 e 8.

Assim como na gengiva vestibular a densidade volumétrica de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da face lingual entre os ratos controle, e com os tratamentos adicionais foram semelhantes, o mesmo acontecendo entre os grupos que receberam csa. A face lingual das gengivas dos ratos tratados com csa, independente se submetidos à dieta cariogênica ou xerostômicos, tiveram aumento significativo da densidade volumétrica de fibroblastos e fibras colágenas. O mesmo não acontecendo com a densidade volumétrica das outras estruturas que decresceram quando os ratos foram submetidos ao tratamento com csa.

Tabela 7 - Médias das densidades volumétricas(%) de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da face lingual da gengiva dos 1^{os} molares inferiores, em relação aos vários tratamentos.

Tratamentos	% de Fibroblastos	% de Fibras Colágenas	% de Outras Estruturas
Controle	11,90±0,90A	67,60±0,90C	20,50±1,10E
Dieta Cariogênica	11,47± 1,18	68,22±1,20C	20,30±1,15E
Xerostomia	11,50±0,98A	68,07±1,36C	20,42±1,18E
Csa	13,12±1,10B	71,75±1,21D	15,12±1,51F
Csa e Dieta Cariogênica	13,80±0,96B	74,32±0,98D	11,87±1,08F
Csa e Xerostomia	14,05±1,11B	71,67±0,88D	14,27±0,97F

Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Figura 7 - Médias da densidade volumétrica de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas da face lingual da gengiva dos 1^{os} molares inferiores, em relação aos vários tratamentos. *Ver tabela 7

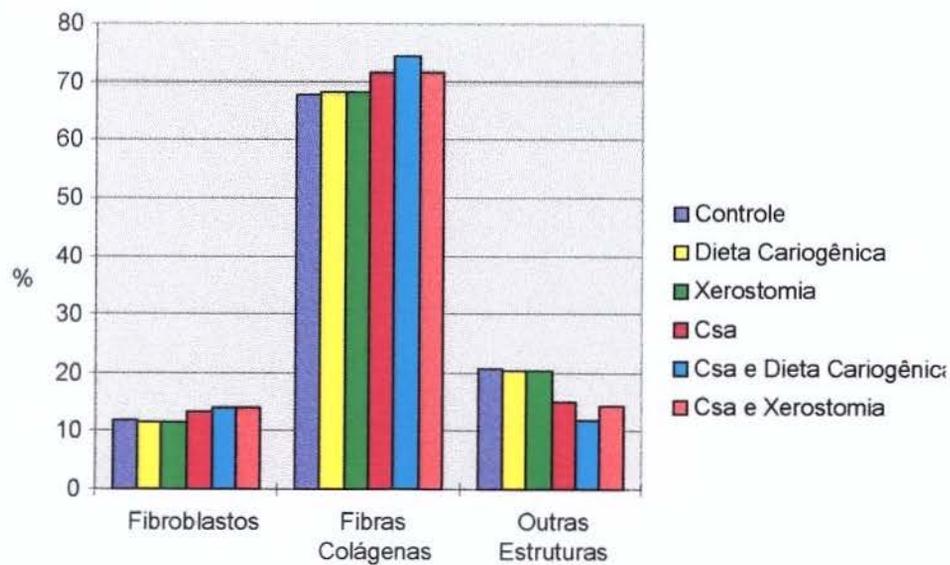
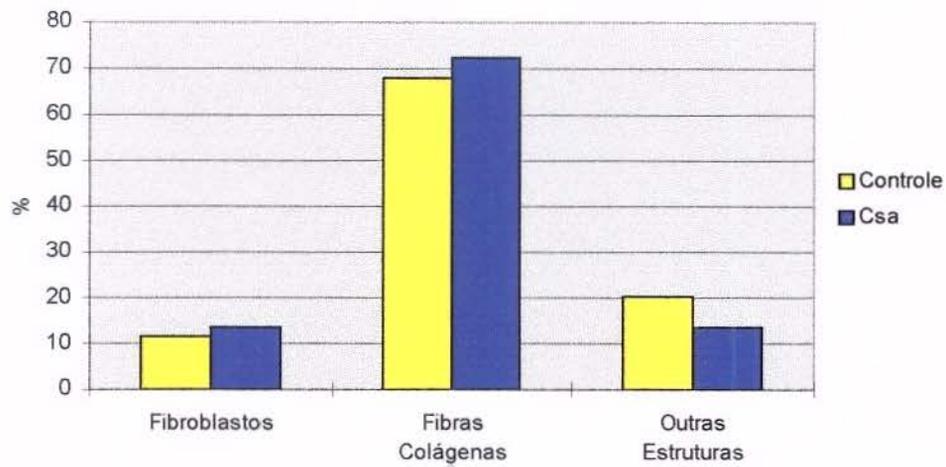


Tabela 8 - Médias das medidas da densidade volumétrica(% \pm desvio padrão) de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da face lingual da gengiva da região de 1^{os} molares inferiores, agregando-se os grupos controle e os grupos tratados com csa, independentemente da xerostomia e dieta cariogênica.

Tratamentos	% de Fibroblastos	% de Fibras Colágenas	% fibras / % de fibroblastos	% de Outras Estruturas
controle	11,62 \pm 0,19	67,96 \pm 0,26	5,84	20,40 \pm 0,08
csa	13,65 \pm 0,39	72,58 \pm 1,20	5,31	13,75 \pm 1,37
csa/controle	1,17	1,06		0,67

Obs: Csa/controle corresponde a relação entre os grupos tratados e controle e % de fibras/ % de fibroblastos corresponde a relação de fibras colágenas/ fibroblastos dentro de cada grupo.

Figura 8 - Gráfico das médias da densidade volumétrica de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da face lingual da gengiva da região de 1^{os} molares inferiores agregando-se os grupos controle e os grupos tratados com csa independentemente de xerostomia e dieta cariogênica. * Ver Tabela 8



I-7 COMPARAÇÃO DOS DADOS MORFOMÉTRICOS E ESTEREOMÉTRICOS ENTRE AS FACES VESTIBULAR E LINGUAL

I-7a COMPARAÇÃO MORFOMÉTRICA

As medidas morfométricas da crista epitelial, epitélio bucal, altura e larguras A e B da gengiva, face vestibular, dos grupos controles analisados foram maiores que as da face lingual. O mesmo ocorreu entre os grupos tratados com csa. Entretanto as proporções foram semelhantes (tabelas 2 e 6).

I-7b COMPARAÇÃO ESTEREOMÉTRICA

Para comparação das densidades volumétricas, foram usadas os dados das tabelas 4 e 8. Não houve diferenças entre as densidades volumétrica das várias estruturas avaliadas, entre a face vestibular e lingual.

II-REGRESSÃO DO AUMENTO GENGIVAL

II-1 ASPECTOS MACROSCÓPICOS

Após a suspensão do tratamento com csa, o aumento gengival regrediu com o passar do tempo, sendo já evidente após 5 dias. Após 90 dias da interrupção do tratamento com csa, ainda havia pequeno aumento gengival, mais evidente na face vestibular que na face lingual. A gengiva mostrava contornos dentários e delimitação das papilas interdentais semelhantes ao normal, porém, aumentado de volume. A consistência continuava firme, sem sinais de inflamação (Figuras 1 a 8).

II-2 ASPECTOS MICROSCÓPICOS

Apesar da diminuição progressiva do volume gengival, os aspectos microscópicos em todos os períodos (5 - 90 dias) foram semelhantes. Exceto pelas dimensões, era difícil caracterizar microscopicamente a que período o espécime pertencia. Acantose estava presente mesmo após 90 dias, porém, em menores proporções quando comparado com os períodos iniciais da regressão do aumento gengival. O tecido conjuntivo era semelhante em todos os períodos, na regressão, subjacente ao epitélio juncional continuava a apresentar infiltrado inflamatório composto por células mononucleadas e polimorfonucleares (Figuras 1 a 8).

II- 3 QUANTIFICAÇÃO MORFOMÉTRICA DO EPITÉLIO E TECIDO CONJUNTIVO DA GENGIVA DA FACE VESTIBULAR

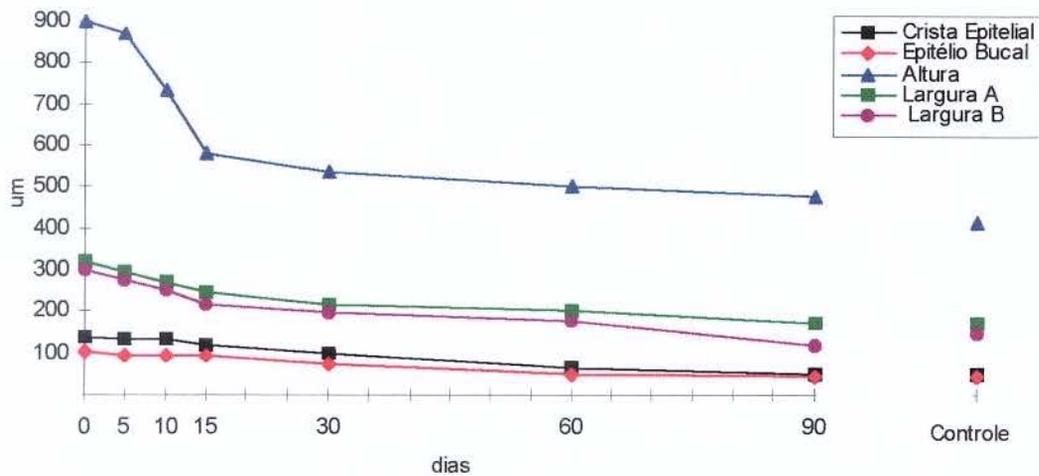
As medidas morfométricas do epitélio e conjuntivo das gengivas marginal vestibular da regressão do aumento gengival estão na tabela 9 e gráfico 9.

Tabela 9- Médias das medidas morfométrica ($\mu\text{m} \pm$ desvio padrão), de estruturas da gengiva da face vestibular da região de 1^{os} molares inferiores, do grupo controle e dos períodos de 0-90 dias após a interrupção do tratamento com csa.

Grupos	Crista Epitelial*	Epitélio Bucal*	Altura*	Largura A*	Largura B*
Controle	50,80 \pm 1,25	43,85 \pm 1,80	414,15 \pm 0,50	172,33 \pm 1,2	149,25 \pm 1,21
0 dias	139,44 \pm 1,30	100,93 \pm 1,70	899,55 \pm 1,21	321,80 \pm 1,1	302,45 \pm 1,13
5 dias	131,42 \pm 0,90	91,65 \pm 1,30	872,93 \pm 1,30	293,88 \pm 1,23	277,60 \pm 1,23
10 dias	131,85 \pm 1,25	92,90 \pm 0,77	731,80 \pm 1,68	272,80 \pm 0,85	251,38 \pm 1,02
15 dias	116,43 \pm 0,90	92,25 \pm 0,95	580,88 \pm 1,09	244,05 \pm 1,48	215,20 \pm 1,60
30 dias	99,20 \pm 0,60	71,40 \pm 1,56	535,68 \pm 1,9	214,75 \pm 1,54	198,53 \pm 1,05
60 dias	64,90 \pm 1,30	51,27 \pm 1,10	503,03 \pm 1,0	201,13 \pm 1,15	176,67 \pm 1,32
90 dias	63,97 \pm 1,20	46,98 \pm 1,73	476,05 \pm 1,3	189,10 \pm 1,02	169,10 \pm 0,97

*Ver esquema da Figura 1 pg 49

Gráfico 9 - Médias das medidas morfométrica (μm), de estruturas da gengiva da face vestibular da região de 1^{os} molares inferiores, do grupo controle e dos períodos de 0-90 dias após a interrupção do tratamento com csa. Ver tabela 9.



Como descrito anteriormente, após 60 dias de tratamento com csa os valores estavam bem maiores que os do conjuntivo. Após a interrupção do tratamento com csa, os valores decresceram progressivamente, mas mesmo após 90 dias as dimensões da face vestibular não voltaram aos do grupo controle. Os valores das medidas das estruturas da gengiva vestibular nesse período foram estatisticamente maiores que o controle.

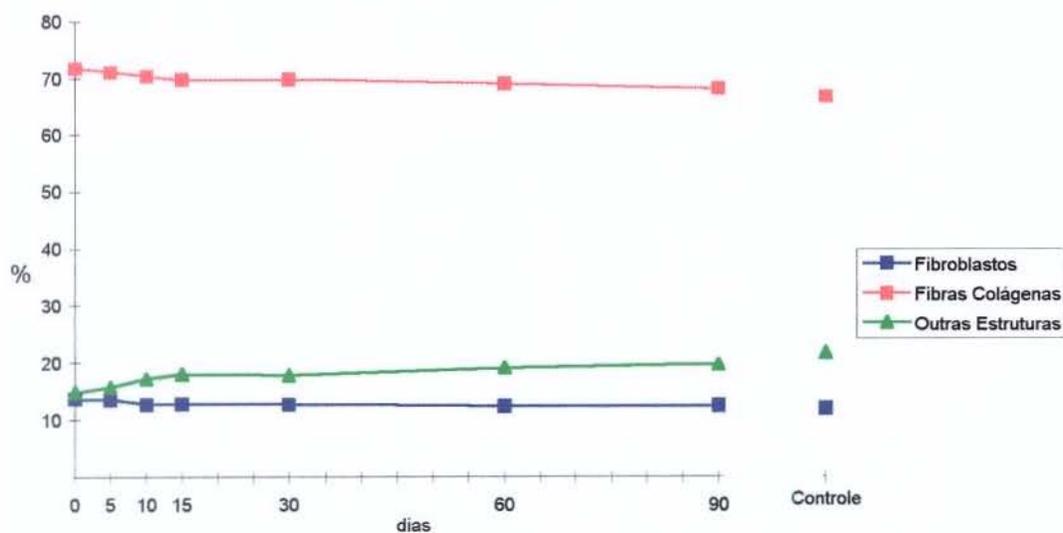
II-4 QUANTIFICAÇÃO ESTEREOMÉTRICA DOS COMPONENTES DO TECIDO CONJUNTIVO DA GENGIVA DA FACE VESTIBULAR

No decorrer da regressão do aumento gengival, as densidades volumétricas de fibroblastos decresceram e após 10 dias os valores obtidos foram estatisticamente semelhantes àqueles obtidos na gengiva dos ratos normais. A densidade volumétrica de fibras colágenas decresceram progressivamente, enquanto a densidade volumétrica de outras estruturas aumentou. Tanto os valores da densidade volumétrica de fibras colágenas quanto a densidade volumétrica de outras estruturas foram significativamente diferentes dos valores obtidos em relação as gengivas dos ratos normais (Tabela 11 e gráfico 10).

Tabela 11- Médias da densidade volumétrica (% \pm desvio padrão) de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da gengiva da face vestibular, do grupo controle e dos períodos de 0-90 dias após a interrupção do tratamento com csa.

Grupos	% de Fibroblastos	% de Fibras Colágenas	% de Outras Estruturas
Controle	11,82 \pm 0,55	66,57 \pm 0,80	21,60 \pm 0,68
0 dias	13,65 \pm 0,90	71,67 \pm 0,70	14,67 \pm 1,12
5 dias	13,45 \pm 0,70	70,97 \pm 1,15	15,58 \pm 0,96
10 dias	12,60 \pm 0,50	70,27 \pm 0,91	17,12 \pm 0,50
15 dias	12,72 \pm 0,66	69,62 \pm 0,70	17,90 \pm 0,68
30 dias	12,60 \pm 0,60	69,75 \pm 1,20	17,65 \pm 0,71
60 dias	12,37 \pm 0,90	69,00 \pm 0,95	19,00 \pm 0,97
90 dias	12,42 \pm 0,58	68,09 \pm 0,76	19,55 \pm 0,83

Gráfico 10 - Médias da densidade volumétrica (%) de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da face vestibular, do grupo controle e dos períodos de 0-90 dias após a interrupção do tratamento com csa. Ver Tabela 11.



II-5 QUANTIFICAÇÃO MORFOMÉTRICA DO EPITÉLIO E DO TECIDO CONJUNTIVO DA GENGIVA DA FACE LINGUAL

Na face lingual as medidas morfométricas da crista epitelial, epitélio bucal, altura e larguras A e B, indicaram que entre houve um aumento significativo no período de 0 dias, ou seja, 60 dias após o início do tratamento com csa, porém, reduziu progressivamente após a interrupção do tratamento. Após 90 dias da interrupção do tratamento com csa os valores das medidas do epitélio bucal, altura e larguras A e B, foram

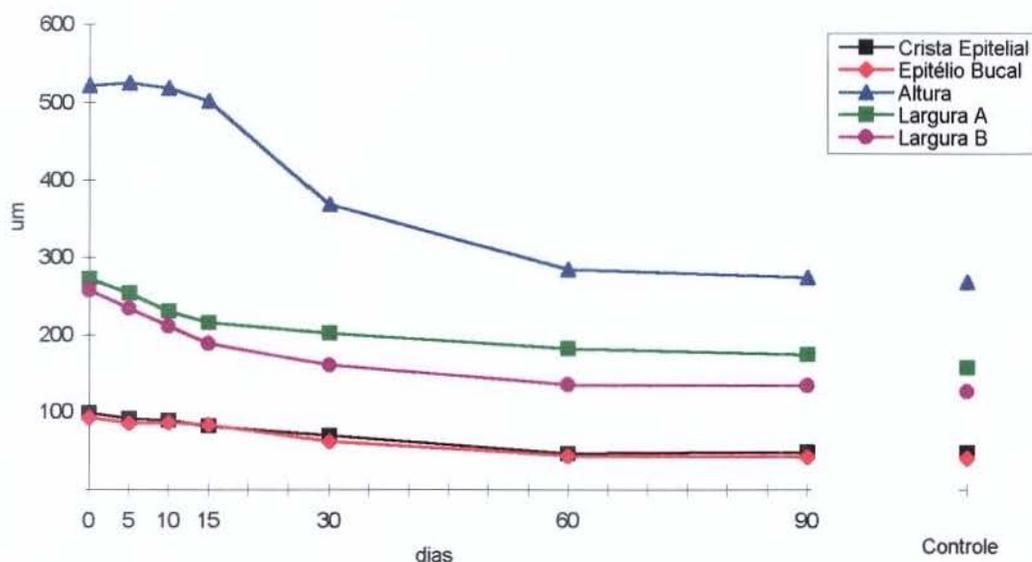
estatisticamente maiores que os valores da face lingual dos ratos normais. O mesmo não acontecendo com a crista epitelial, que voltou a ter valores normais após 60 dias da interrupção do tratamento (Tabela 13 e gráfico 11).

Tabela 13- Médias das medidas morfométricas ($\mu\text{m} \pm$ desvio padrão), de estruturas da gengiva da face lingual da região de 1^{os} molares inferiores do grupo controle e dos períodos de 0 - 90 dias após a interrupção do tratamento com csa.

Grupos	Crista Epitelial*	Epitélio Bucal*	Altura*	Largura A*	Largura B*
controle	47,47 \pm 0,75	40,45 \pm 1,25	268,25 \pm 1,35	156,33 \pm 1,75	126,30 \pm 1,40
0 dias	98,56 \pm 1,30	92,30 \pm 1,75	521,70 \pm 1,35	271,95 \pm 1,60	258,02 \pm 1,70
5 dias	90,63 \pm 1,10	85,42 \pm 1,30	525,23 \pm 1,90	254,00 \pm 1,96	234,40 \pm 1,80
10 dias	88,20 \pm 1,90	85,73 \pm 1,58	518,60 \pm 1,78	230,20 \pm 1,20	211,08 \pm 1,17
15 dias	81,20 \pm 1,76	82,18 \pm 1,00	501,50 \pm 1,15	214,68 \pm 1,16	187,58 \pm 1,26
30 dias	69,30 \pm 1,50	61,45 \pm 1,25	368,33 \pm 1,20	201,46 \pm 1,90	159,85 \pm 1,88
60 dias	45,73 \pm 1,70	42,75 \pm 1,13	283,99 \pm 1,18	181,55 \pm 1,15	135,10 \pm 1,16
90 dias	48,35 \pm 1,98	42,50 \pm 1,18	273,95 \pm 1,53	173,43 \pm 1,40	133,80 \pm 1,37

* Ver esquema da figura 1 pg 49

Gráfico 11 - Médias das medidas morfométricas, de estruturas da gengiva da face lingual, do grupo controle e dos períodos de 0 - 90 dias após a interrupção do tratamento com csa. Ver Tabela 13.



II-6 QUANTIFICAÇÃO ESTEREOMÉTRICA DOS COMPONENTES DO TECIDO CONJUNTIVO DA GENGIVA DA FACE LINGUAL

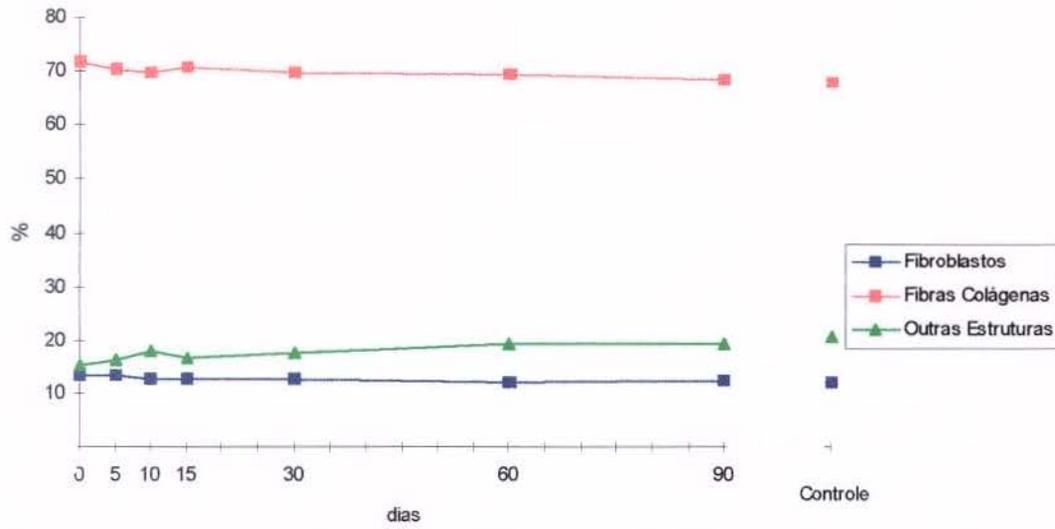
As densidades volumétricas de fibroblastos e fibras colágenas aumentaram após 60 dias de tratamento com csa. Após a interrupção do tratamento houve diminuição progressiva das densidades destas estruturas, porém, a densidade volumétrica de fibroblastos voltou a ter valores estatisticamente semelhantes às gengivas dos ratos normais 10 dias da interrupção do tratamento, e a densidade volumétrica de fibras

colágenas, 60 dias após. A densidade volumétrica de “outras estruturas”, diminuiu com o tratamento com csa, aumentando progressivamente após a interrupção do tratamento, obtendo valores estatisticamente semelhantes às gengivas dos ratos normais após 60 dias da interrupção do tratamento com csa (Tabela 15 e Gráfico 12).

Tabela 15- Médias das densidades volumétricas (% \pm desvio padrão) de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da gengiva da face lingual, do grupo controle e dos períodos de 0-90 dias após a interrupção do tratamento com csa.

Grupos	% de Fibroblastos	% de Fibras Colágenas	% de Outras Estruturas
Controle	11,90 \pm 0,70	67,60 \pm 0,90	20,50 \pm 1,10
0 dias	13,12 \pm 1,10	71,75 \pm 1,20	15,12 \pm 1,51
5 dias	13,20 \pm 0,96	70,48 \pm 0,71	16,33 \pm 0,76
10 dias	12,57 \pm 1,30	69,75 \pm 0,98	17,80 \pm 1,21
15 dias	12,65 \pm 1,10	70,60 \pm 1,40	16,76 \pm 1,12
30 dias	12,60 \pm 0,88	69,70 \pm 0,96	17,60 \pm 0,97
60 dias	12,00 \pm 0,91	69,50 \pm 1,15	19,13 \pm 1,40
90 dias	12,37 \pm 1,13	68,30 \pm 0,91	19,10 \pm 1,16

Gráfico 12 - Médias das densidades volumétricas de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da gengiva da face lingual, do grupo controle e dos períodos de 0-90 dias após a interrupção do tratamento com csa. Ver Tabela 15.



II-7 COMPARAÇÃO DOS DADOS MORFOMÉTRICOS E ESTEREOMÉTRICOS, ENTRE AS FACES VESTIBULAR E LINGUAL, NA REGRESSÃO DO AUMENTO GENGIVAL

II-7a MORFOMETRIA DO EPITÉLIO E CONJUNTIVO DAS ESTRUTURAS GENGIVAIS

As médias das medidas histométricas da crista epitelial, epitélio bucal, altura e larguras A e B da face vestibular, foram significativamente maiores em relação a face lingual, em todos os períodos da regressão do aumento gengival, inclusive do grupo controle (Tabela 17).

Tabela 17- Médias das medidas morfométricas(μm) de estruturas da gengiva da face vestibular e lingual da região de 1^{os} molares inferiores do grupo controle e dos períodos de 0 - 90 dias após a interrupção do tratamento com csa.

Grupos	Crista Epitelial*		Epitélio Bucal*		Altura*		Largura A*		Largura B*	
	Vest.	Lingual	Vest.	Lingual	Vest.	Lingual	Vest.	Lingual	Vest.	Lingual
<i>control.</i>	50,80a	47,47b	43,35c	40,45d	414,15e	268,25f	172,63g	156,33h	149,25i	126,30j
<i>0 dias</i>	139,44a	98,66b	100,93c	92,30d	899,55e	521,70f	321,80g	271,95h	302,45i	258,02j
<i>5 dias</i>	131,42a	90,63b	91,65c	85,42d	872,93e	525,23f	293,88g	254,00h	277,60i	234,40j
<i>10 dias</i>	131,85a	88,20b	92,90c	85,73d	580,88e	518,60f	272,80g	230,20h	251,38i	211,08j
<i>15 dias</i>	116,43a	81,20b	92,25c	82,18d	631,80e	501,50f	244,05g	214,68h	215,20i	187,58j
<i>30 dias</i>	99,20a	69,30b	71,40c	61,45d	535,68e	368,33f	214,75g	201,46h	198,53i	159,85j
<i>60 dias</i>	64,90a	45,73b	51,27c	42,75d	503,03e	283,99f	201,13g	181,55h	176,87i	135,10j
<i>90 dias</i>	63,97a	48,35b	46,98c	42,50d	476,05e	273,95f	189,54g	173,43h	169,10i	133,80j

A comparação é feita nas linhas, dentro de cada período e estrutura. Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

* Ver Figura 1 da pg 49

II-7b ESTEREOMETRIA DOS COMPONENTES DO TECIDO CONJUNTIVO

A densidade volumétrica de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas foram semelhantes entre as faces vestibular e lingual dentro de todos os grupos analisados. No decorrer da regressão do aumento gengival, observou-se que a densidade volumétrica de fibroblastos fibras colágenas decresceram tanto na face vestibular quanto na face lingual (Tabela 18). Os valores após o 10º dia da interrupção do tratamento praticamente não variaram, permanecendo próxima ao normal.

Tabela 18 - Médias das densidades volumétrica de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas, da face vestibular e lingual, do grupo controle e dos períodos de 0 - 90 dias após a interrupção do tratamento com csa.

Grupos	Fibroblastos		Fibras Colágenas		Outras Estruturas	
	Vestibular	Lingual	Vestibular	Lingual	Vestibular	Lingual
Controle	12,82a	11,90a	66,57b	67,60b	20,60c	19,50c
0 dias	13,66a	13,12a	71,67b	71,75b	14,67c	15,12c
5 dias	13,45a	13,20a	70,97b	70,48b	15,58c	16,33c
10 dias	12,60a	12,57a	69,27b	69,75b	17,12c	17,80c
15 dias	12,72a	12,65a	69,62b	70,60b	17,90c	16,76c
30 dias	12,60 a	12,60a	69,75b	69,70b	17,65c	17,60c
60 dias	12,37a	12,00a	69,00b	68,50b	19,00c	19,13c
90 dias	12,42a	12,37a	68,09b	68,10b	19,55c	19,50d

A comparação é feita nas linhas, dentro de cada período e estrutura. Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

II-8 QUANTIFICAÇÃO DAS ÁREAS DO EPITÉLIO BUCAL, TECIDO CONJUNTIVO E DA ÁREA TOTAL DAS GENGIVAS DAS FACES VESTIBULAR E LINGUAL, NA REGRESSÃO DO AUMENTO GENGIVAL

II-8a FACE VESTIBULAR

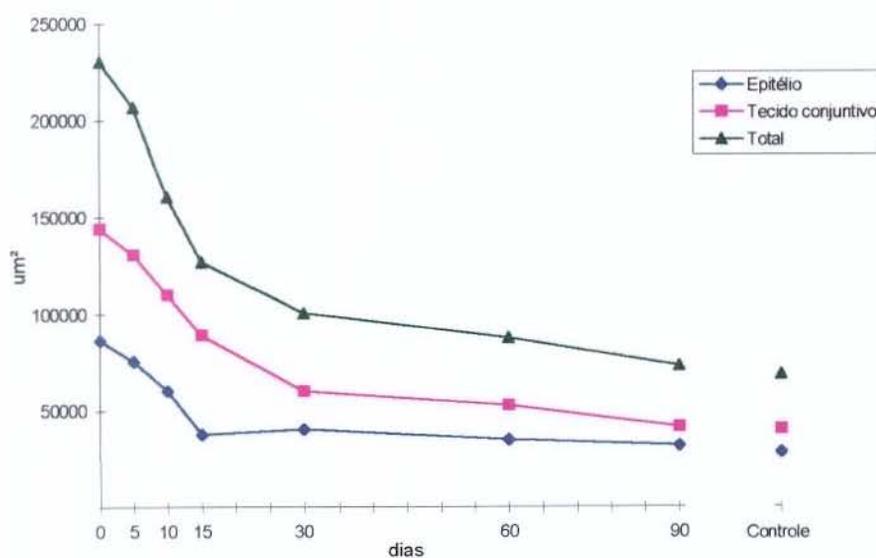
Sessenta (60) dias após o tratamento com csa as áreas da gengiva da face vestibular aumentaram em relação as do grupo controle, num total de 3,34x. Com a interrupção do tratamento, os tecidos gengivais decresceram progressivamente, não voltando aos mesmos valores das gengivas dos ratos controle mesmo após 90 dias, ainda persistindo um aumento de 1,07x (Tabela 19, Gráfico 13). As médias das áreas das estruturas neste período foram estatisticamente maiores que os obtidos nos ratos normais

Tabela 19- Médias das áreas (μm^2) do epitélio bucal, do tecido conjuntivo e área total da gengiva da face vestibular do grupo controle, do aumento gengival induzido pela csa e nos vários períodos após a interrupção do tratamento.

Grupos	Epitélio Bucal	Tecido conjuntivo	Total	trat/cont
Controle	28470	40420	68890	
csa	86603	143950	230553	↑3,34x
5 dias	75819	130810	206629	↑2,99x
10 dias	60684	110010	160784	↑2,33
15 dias	37776	89360	127136	↑1,84x
30 dias	40417	60420	100837	↑1,46x
60 dias	35051	53100	88151	↑1,27x
90 dias	32020	41723	73743	↑1,07

Obs: Trat/cont indica a relação entre os grupos tratados com csa e o grupo controle.

Gráfico 13- Médias das áreas do epitélio bucal, do tecido conjuntivo e total da gengiva da face vestibular do grupo controle e do aumento gengival induzido pela csa e nos vários períodos após a interrupção do tratamento. Ver Tabela 19.



II-8b FACE LINGUAL

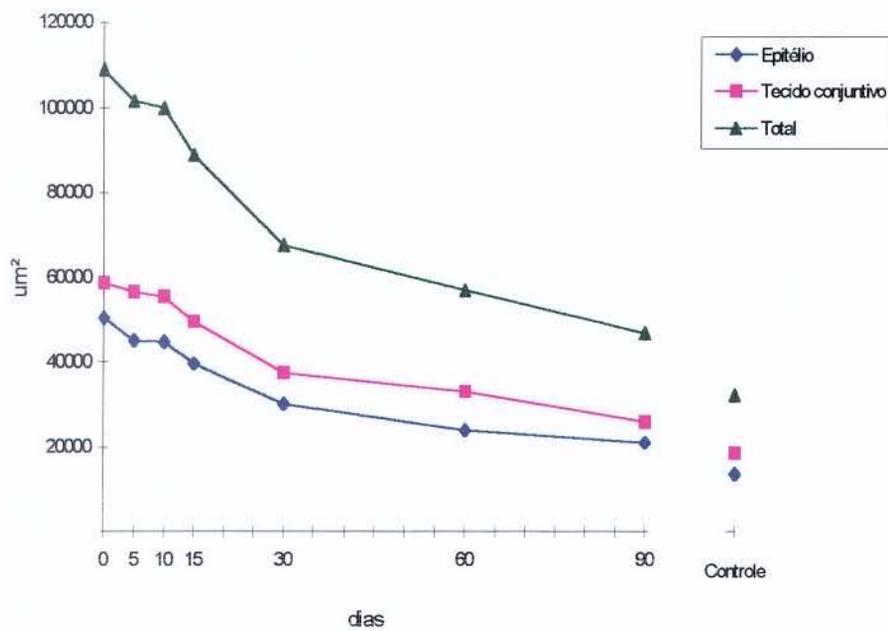
Após 60 dias de tratamento com csa, os valores das medidas das áreas da gengiva dos ratos aumentaram cerca de 3,39x, diminuindo progressivamente após a interrupção do tratamento, e mesmo após 90 dias, esses valores não chegaram a normalidade, permanecendo ainda 1,45x maior (Tabela 20 e gráfico 14). As médias das estruturas neste período permaneceram estatisticamente maiores que o controle.

Tabela 20- Médias das áreas (μm^2) do epitélio bucal, tecido conjuntivo e da área total da gengiva da face lingual, do grupo controle, do aumento gengival induzido pela csa e nos vários períodos após a interrupção do tratamento.

<i>Grupos</i>	<i>Epitélio</i>	<i>Conjuntivo</i>	<i>Total</i>	<i>Trat/contr</i>
<i>Controle</i>	13590	18537	32127	
<i>csa</i>	50276	58707	108983	↑3,39
<i>5 dias</i>	45020	56497	101517	↑3,15
<i>10 dias</i>	44698	55285	99983	↑3,11
<i>15 dias</i>	39511	49415	88926	↑2,76
<i>30 dias</i>	30167	37361	67528	↑2,10
<i>60 dias</i>	24012	32958	56970	↑1,77
<i>90 dias</i>	20931	25766	46697	↑1,45

Obs: Trat/contr indica a relação entre os grupos tratados com csa e grupo controle

Gráfico 14- Médias das áreas do epitélio bucal, tecido conjuntivo e da área total da gengiva da face lingual, do grupo controle, do aumento gengival induzido pela csa e nos vários períodos após a interrupção do tratamento.



ILUSTRAÇÕES MACROSCÓPICAS

Fig. 1 - Aspecto macroscópico da gengiva da região de molares inferiores de rato normal.

A gengiva é delgada, contorna a porção cervical dos dentes, e as papilas interdentais são nítidas exibindo formas triangulares.

Fig. 2 - Aspecto macroscópico da gengiva da região de molares inferiores de rato 60 dias

após o início do tratamento com csa, apresentando em toda sua extensão aumento volumétrico da gengiva de forma homogênea cobrindo toda a face vestibular, comprometendo a morfologia normal das papilas interdentais e contornos dentários.

Fig. 3 - Aspecto macroscópico da região de molares inferiores, mostrando diminuição do

volume gengival 5 dias após a interrupção do tratamento com csa.

Fig. 4 - Aspecto macroscópico da gengiva de rato 10 dias após a interrupção do

tratamento com csa. O aumento volumétrico ainda é evidente, apresentando incipiente contorno dentário, na face vestibular dos molares inferiores.

Fig. 5- Aspecto macroscópico 15 dias após a interrupção do tratamento com csa. O

volume gengival, ainda é semelhante ao período anterior.

Fig. 6- Aspecto macroscópico da região de molares inferiores, mostrando redução do

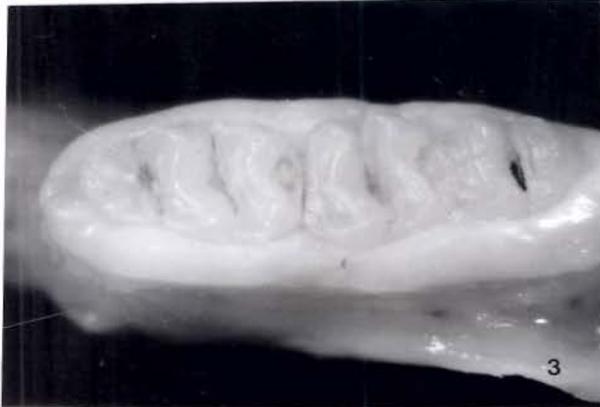
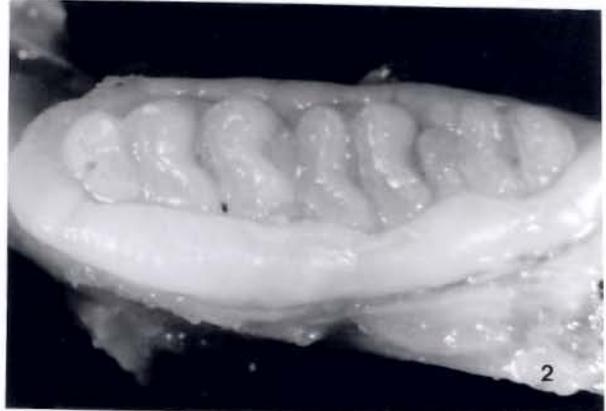
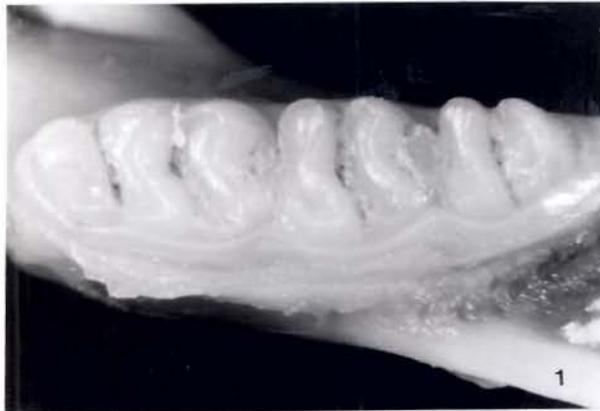
aumento gengival 30 dias após a interrupção do tratamento com csa. O volume gengival é menor em relação aos períodos anteriores.

Fig. 7- Aspecto macroscópico do aumento gengival, região de molares inferiores de rato,

60 dias após a interrupção do tratamento com csa. As papilas interdentais e os contornos dentários são mais nítidos.

Fig. 8- Aspecto macroscópico do aumento gengival, 90 dias após a interrupção do

tratamento com csa. A gengiva nas regiões de 1º e 2º molar exhibe aspecto de normalidade, e na região de 3º molar ainda é visível aumento gengival.



ILUSTRAÇÕES MICROSCÓPICAS

Todos os cortes foram feitos no sentido vestibulo-lingual

Fig. 9- Gengiva marginal da face vestibular do molar de rato normal. O epitélio gengival oral (o) apresenta interdigitações e o epitélio sulcular (s), mostra fenda no sentido apical. O tecido conjuntivo (c), é denso. H.E. aumento 80x .

Fig. 10- Detalhe da figura anterior. Observa-se tecido conjuntivo denso (c), fibroblastos, epitélio juncional, sulcular e oral. H.E. aumento 210x.

Fig. 11- Face vestibular do aumento gengival 60 dias após o tratamento com csa. O epitélio gengival oral (o) está mais espesso, com interdigitações mais evidentes. O conjuntivo (c) é denso. H.E. aumento de 80x.

Fig. 12- Maior aumento da figura anterior, mostrando epitélio oral acantótico (o) e tecido conjuntivo denso (c), com grande número de fibroblastos (seta). H.E. aumento 80x.

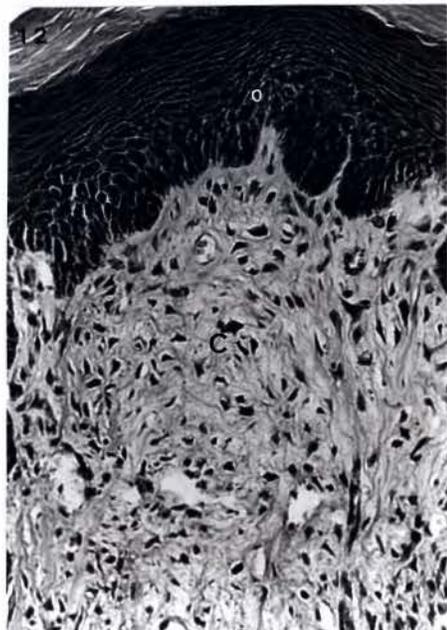
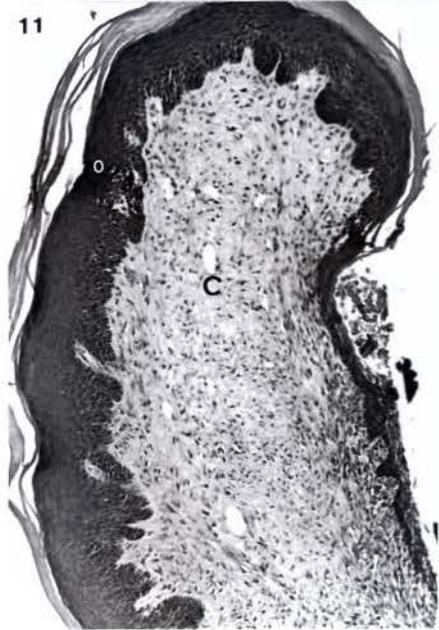


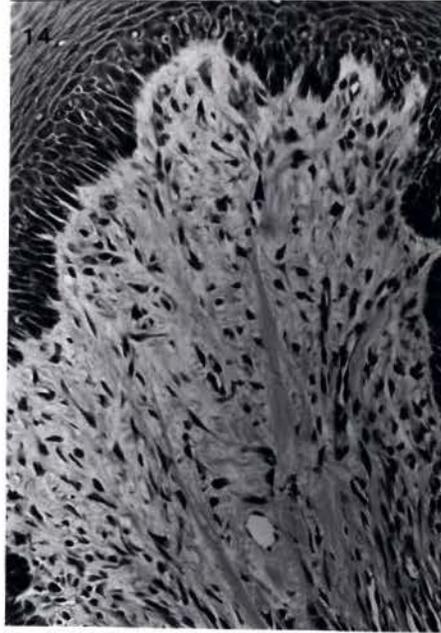
Fig. 13 - Face vestibular do aumento gengival, 5 dias após a interrupção do tratamento com csa. Nota-se diminuição do aumento em relação ao período anterior. O epitélio gengival oral (o), apresenta-se acantótico, com poucas interdigitações, e tecido conjuntivo denso (c). H.E. aumento 80x.

Fig. 14 - Detalhe da figura anterior, mostrando parte do epitélio gengival oral (o), e tecido conjuntivo denso com grande número de fibroblastos (seta). H.E. aumento 210x.

Fig. 15 - Face Vestibular do aumento gengival, 10 dias após a interrupção do tratamento com csa. Nota-se diminuição do volume gengival, em relação ao período anterior. O epitélio gengival oral (o), acantótico, apresentando interdigitações para o conjuntivo (c). H.E. aumento 80x.

Fig. 16- Maior aumento da figura anterior. Observa-se epitélio gengival oral acantótico (o), e tecido conjuntivo denso (c). H.E. aumento 210x.

13



15



16



Fig. 17- Face vestibular do aumento gengival 15 dias após a interrupção do tratamento com csa. H.E aumento 80x.

Fig. 18- Maior aumento, mostrando epitélio gengival oral acantótico (o) e tecido conjuntivo denso (c). H.E aumento 210x.

Fig. 19- Face vestibular do aumento gengival 30 dias após a interrupção do tratamento com csa, mostrando epitélio gengival oral (o) com interdigitações e conjuntivo denso (c). H.E aumento 80x.

Fig. 20- Detalhe da figura anterior mostrando epitélio gengival oral acantótico (o) com interdigitações e conjuntivo denso (c) e fibroblastos fusiformes e estrelados (setas). H.E aumento 210x.

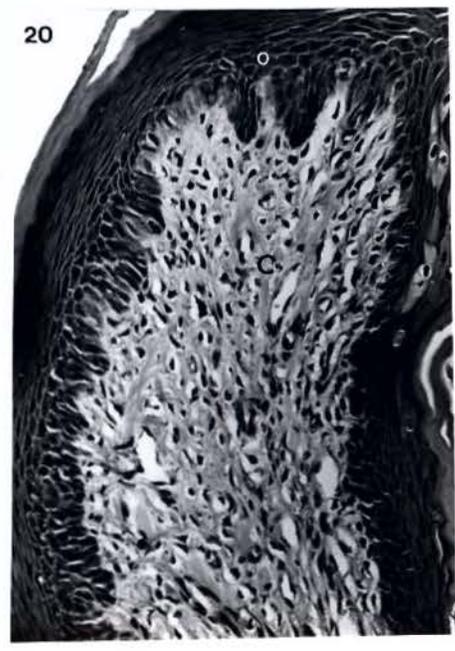
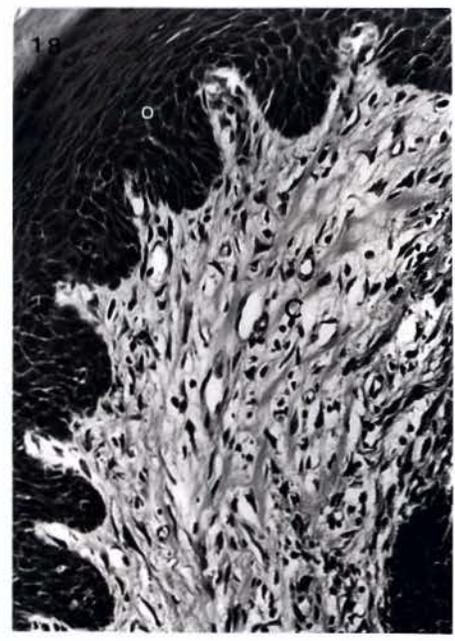


Fig. 21- Face vestibular do aumento gengival após 60 dias da interrupção do tratamento com csa. Nota-se epitélio gengival oral (o) acantótico e tecido conjuntivo denso (c). H.E aumento 80x.

Fig. 22- Detalhe da figura anterior mostrando epitélio gengival oral (o) acantótico, e tecido conjuntivo denso (c) menos celularizados que os períodos anteriores. H.E aumento 210x.

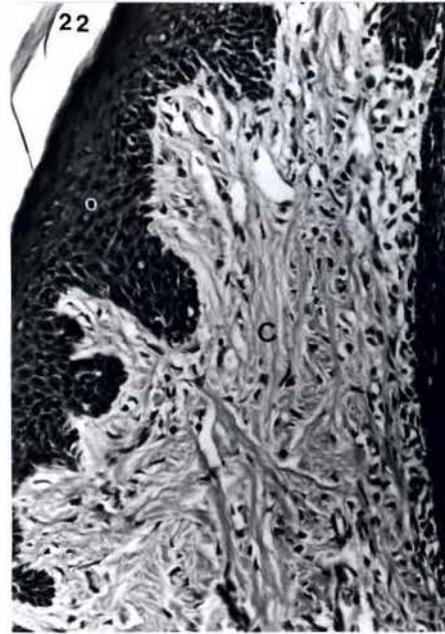
Fig. 23- Face vestibular do aumento gengival após 90 dias da interrupção do tratamento com csa. Nota-se diminuição da acantose do epitélio gengival oral (o), e tecido conjuntivo denso pouco celularizado (c). H.E aumento 80x.

Fig. 24- Maior aumento da figura anterior, mostrando epitélio gengival oral (o), e tecido conjuntivo denso (c), menos celularizado que os períodos anteriores. H.E aumento 210x.

21



22



23



24



ILUSTRAÇÕES ESQUEMÁTICAS

Figs. 25 a 32

Desenhos esquemáticos dos cortes histológicos da face vestibular das gengivas do primeiro molar inferior de ratos, mostrando o aumento gengival(0 dias) e a sua regressão, após 5, 10, 15, 30 e 90 dias da interrupção do tratamento com csa. A tabela 21 mostra as medidas das ilustrações esquemáticas da crista epitelial, epitélio bucal, altura e larguras A e B, da gengiva de ratos. Essas medidas estão baseadas nas originais em μm transformadas em cm.

Fig.25 e 32 - Controle

Fig.26- 0 dias(60 dias do tratamento com csa)

Figs.27 a 31 - 5 a 90 dias da interrupção do tratamento com csa.

Tabela 21- Medidas das ilustrações esquemáticas da crista epitelial, epitélio bucal, altura e larguras A e B, da regressão do aumento gengival. Essas medidas estão baseadas nas originais (μm) e transformadas em cm.

Grupos	Crista Epitelial		Epitélio bucal		Altura		Largura A		Largura B	
	Vest.	Lingual	Vest.	Lingual	Vest.	Lingual	Vest.	Lingual	Vest.	Lingual
Control	0,5	0,46	0,42	0,39	4,07	2,64	1,69	1,53	1,46	1,24
0 dias	1,37	0,97	0,97	0,90	8,85	5,13	3,16	2,67	2,97	2,53
5 dias	1,29	0,89	0,90	0,84	8,59	5,16	2,89	2,50	2,73	2,30
10 dias	1,29	0,86	0,91	0,84	5,71	5,10	2,68	2,26	2,47	2,07
15 dias	1,14	0,79	0,90	0,80	6,21	4,93	2,40	2,11	2,11	1,84
30 dias	0,97	0,68	0,70	0,60	5,27	3,62	2,11	1,98	1,95	1,57
60 dias	0,63	0,45	0,50	0,42	4,95	2,79	1,97	1,78	1,74	1,32
90 dias	0,62	0,47	0,46	0,41	4,68	2,69	1,86	1,70	1,66	1,31

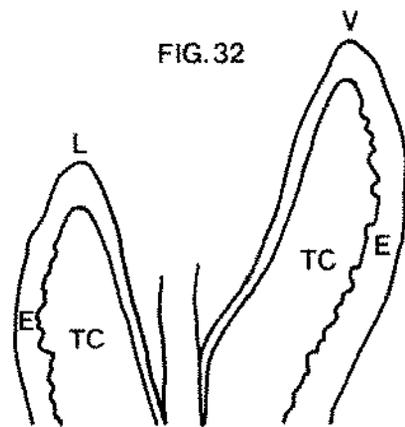
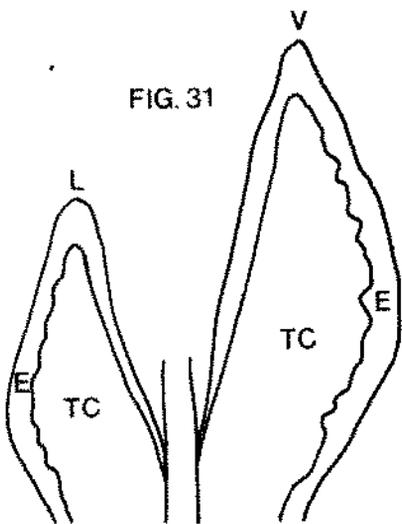
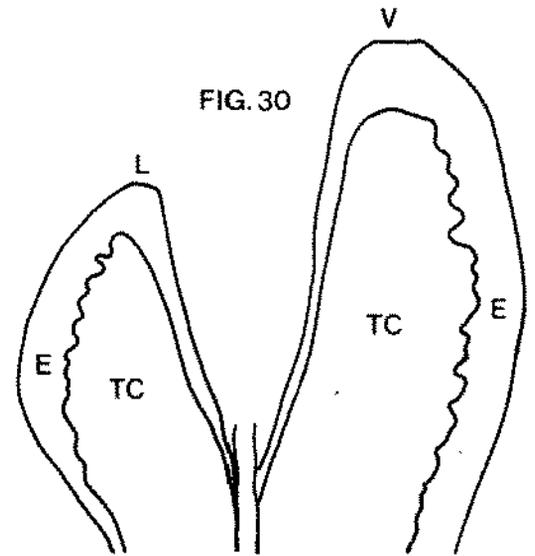
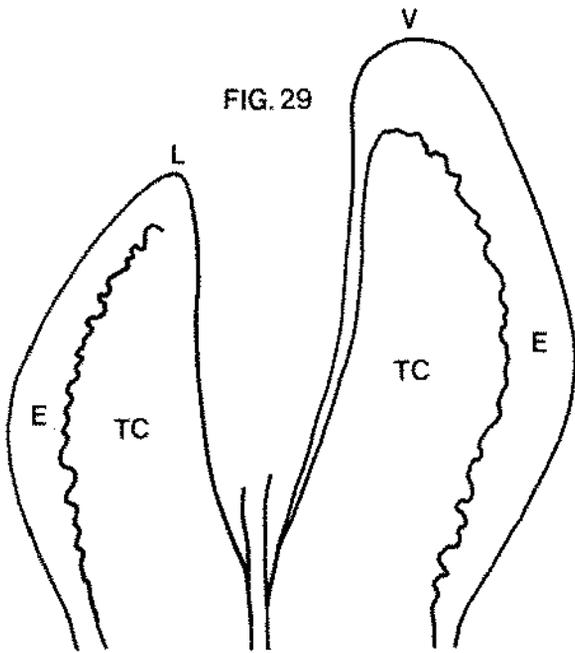


FIG. 25

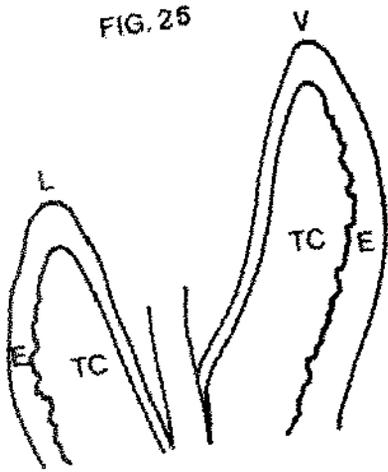


FIG. 26

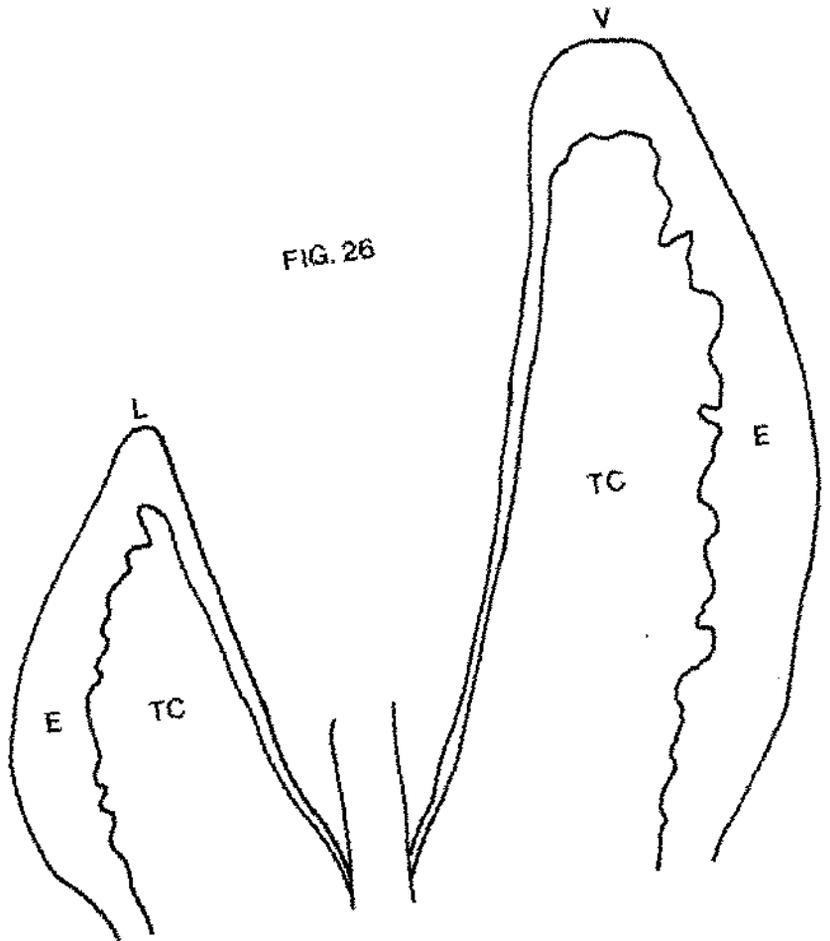


FIG. 27

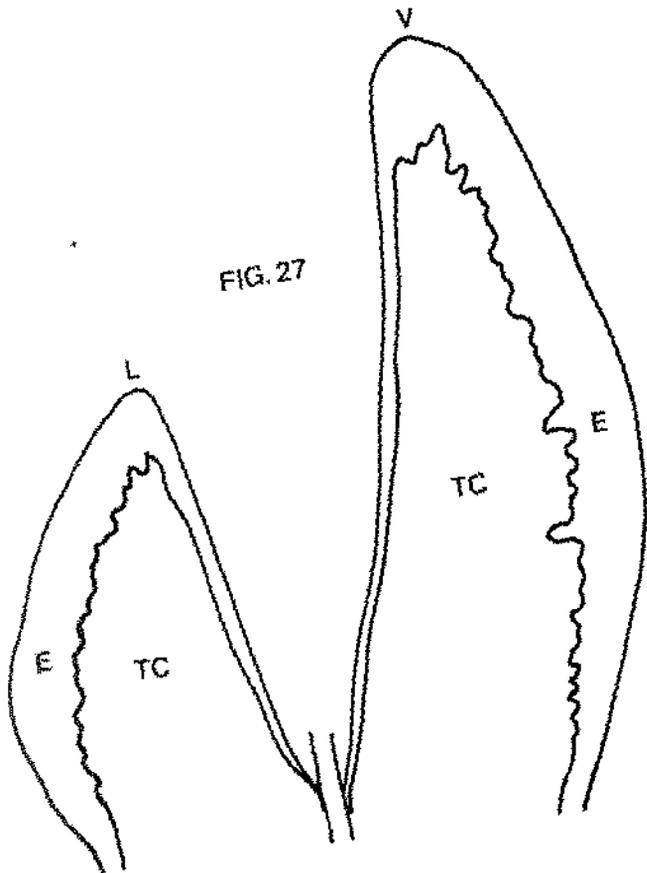
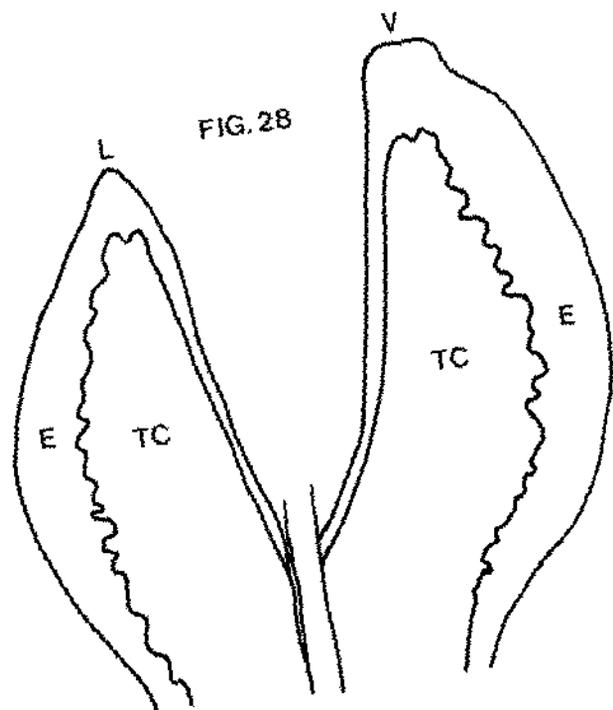


FIG. 28



DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

A associação entre a terapia com csa e o aumento gengival foi relatada no início da década de 80 (RATEISCHACK - PLUSS et al., 1983). Experimentos subsequentes com animais confirmaram este efeito indesejável (RYFFEL et al., 1983).

O mecanismo de ação do aumento gengival induzido pela csa ainda é incerto e conflitante, mas postula-se que seja devido à estimulação sobre a população de fibroblastos (ROSTOCK et al., 1986), aumento da síntese de proteínas da matriz extracelular (PISANTY et al., 1988), ou inibição da atividade de collagenase (TIPTON et al., 1989). McGAW et al., (1988), sugerem que o aumento gengival causado pela csa pode ser resultado do aumento da proliferação celular, aumento da atividade de síntese de matriz extracelular, decréscimo da degradação dessa matriz ou uma combinação de todos esses fatores, assim como o aumento da espessura do epitélio gengival. Observações clínicas, sugerem que a incidência e severidade do aumento gengival em pacientes tratados com ciclosporina parecem estar associados a interação de vários fatores, como índice de placa bacteriana, dosagem e duração da terapia imunossupressora, concentrações teciduais e plasmáticas da droga e seus metabólitos, idade do paciente e talvez um comprometimento sistêmico subjacente (SEYMOUR & JACOBS, 1982).

Sugere-se também interação entre csa, hormônios sexuais e fibroblastos gengivais (DALEY et al., 1986; SOORIYAMOORTHY et al., 1990).

DOSAGEM E VIAS DE ADMINISTRAÇÃO DA CICLOSPORINA

Neste trabalho a csa foi injetada diariamente no tecido subcutâneo da região dorsal, na concentração de 10 mg/kg de peso corporal, e todos os animais apresentaram aumento gengival. Esta concentração foi baseada no trabalho de WASSEF et al. (1985), que mostrou que a dose de 10 mg/kg de peso corporal/dia é bem tolerada pelo rato, mantendo uma concentração sérica constante. Também baseou-se no trabalho recentemente desenvolvido em nosso laboratório, quando foi usado o teste cutâneo de hipersensibilidade tardia provocado pelo DNCB (2,4 dinitroclorobenzeno), para a avaliação da resposta imunológica de ratos imunossuprimidos pela ciclosporina. O teste foi realizado de acordo com VADAS et al. (1975), e CORSINI et al. (1979). Os resultados obtidos mostraram baixos índices de positividade às reações cutâneas no teste ao DNCB em ratos tratados com ciclosporina, confirmando que a dose de 10 mg/ kg de peso corporal /dia, é imunossupressora e é bem tolerada pelo rato (SPOLIDORIO, 1991).

Em humanos adultos, a concentração da ciclosporina no sangue para uma eficiente imunossupressão, em transplantes renais, está entre 300 e 700 ng/ml, que corresponde aproximadamente a 4,5 e 10 mg/kg de

peso corporal/dia (DELILIERS et al., 1986). No tratamento de diabetes a csa é usada na dose de 70 - 204 ng/ml ou 1 - 3,5 mg/ kg de peso corporal/dia. (DALEY et al., 1986). Em crianças submetidas à transplante hepático, a concentração plasmática para uma eficiente imunossupressão está em torno de 192 ng/ml ou 3 mg/ kg de peso corporal/ dia (ROSS et al., 1986).

Em ratos, cães e macacos, o nível plasmático da ciclosporina para induzir a imunossupressão, deve estar entre 100 e 400 ng/ml (BOREL , 1989).

Para se estabelecer a dose imunossupressora efetiva para cada indivíduo, o monitoramento sérico é importante, e pode ser feito através de radioimunoensaio ou cromatografia líquida de alta pressão (GREEN 1981; BUONPANE, 1990). Em animais de laboratório a csa tem sido usada por via intramuscular, oral, intraperitonal e subcutânea. Em ratos e cães, a administração oral resulta numa deficiente absorção, e inadequada concentração sérica para induzir imunossupressão (WASSEF, 1985; SEIBEL et al., 1989). Com a administração intraperitonal, obtem-se elevados picos séricos de ciclosporina, induzindo muitas vezes hepatotoxicidade e nefrotoxicidade (WASSEF et al., 1985). Na concentração usada nesse trabalho não foram observados efeitos tóxicos da csa. Não foi realizada a avaliação da concentração sérica da csa nos

ratos, pois não dispunhamos do kit (SANDOZ), para a realização do radioimunoensaio.

AUMENTO GENGIVAL

Macroscopicamente o aumento gengival induzido pela csa foi mais proeminente na face vestibular dos dentes inferiores. A gengiva da face lingual tinha volume menor. Observações semelhantes foram descritas em humanos (SEYMMOUR & JACOBS, 1992), ratos (KITAMURA et al., 1990) e cães (SEIBEL et al., 1989), porém, são relatos clínicos sem avaliação quantitativa. O aumento gengival em humanos se desenvolve após 1 a 3 meses do início do tratamento com csa (TYLDESLEY & ROTTER, 1984 ; SEYMOUR et al., 1987). Em cães, o desenvolvimento do aumento gengival na região de papila interdental ocorreu após 3 semanas do início do tratamento com csa, estabelecendo-se a lesão definitiva após 6 semanas. SEIBEL et al., (1989) observaram em cães imunossuprimidos com 10mg/kg de peso corporal/dia aumento gengival 14 dias após o início do tratamento. Neste trabalho, o aumento gengival estava estabelecido 8 semanas após o início do tratamento.

Vários relatos têm estabelecido a relação entre a dose e o nível sérico da ciclosporina com o aumento gengival (DALEY et al., 1986; MCGAW et al., 1987; PERNU et al., 1992; SEYMOUR & SMITH, 1991;

KING et al., 1993 ; ROSS et al., 1989). SEYMOUR et al. (1987) e DALEY et al. (1980), sugerem ação de algum metabólito da droga na indução do aumento gengival. Segundo EARL et al. (1995), o aumento gengival induzido pela ciclosporina pode ser o resultado da interação entre a droga e/ou seus metabólitos com fibroblastos gengivais. A proliferação de fibroblastos gengivais não foi estimulada "in vitro" com csa na concentração de 1000ng/ml por 72h. Entretanto, quando incubou-se fibroblastos gengivais, na mesma concentração por 6 semanas, houve estimulação significativa na proliferação fibroblástica. Estes dados indicam a possível ação direta da csa sobre a proliferação de fibroblastos gengivais, o que explicaria parcialmente a etiologia do aumento gengival induzido pela csa (WILLER SHAUSEN-ZONNACHEN et al., 1992). De acordo com ZEBROWSKY et al. (1986), a proliferação de fibroblastos gengivais "in vitro", varia com a concentração da ciclosporina. Segundo COLEY et al. (1986), 250 ng/ml de ciclosporina não induz a proliferação de fibroblastos em cultura, o que ocorre com 400 a 500ng/ml.

PLACA BACTERIANA E O AUMENTO GENGIVAL

Não está estabelecido o papel da placa bacteriana e consequente inflamação gengival na patogênese do aumento gengival induzido pela ciclosporina. Em humanos, a associação do aumento gengival com a placa

bacteriana tem sido citada na literatura por diversos autores(DALEY et al., 1986; MCGAW et al., 1987; TYLDESLEY & ROTTER 1984; SOMACARRERA et al., 1994). Ainda em humanos alguns autores questionam a influência da placa bacteriana no desenvolvimento do aumento gengival, pois, verificam que com a remoção da placa e cálculo gengival diminui-se o grau de inflamação gengival, mas não o aumento induzido pela ciclosporina (DALEY, 1992 e SEYMOUR & SMITH, 1990). McGAW et al. (1987), sugerem que a placa ou cálculo dental, atuam como reservatório local de ciclosporina.

No presente estudo não se quantificou a placa bacteriana nos ratos tratados com dieta cariogênica. A indução da placa bacteriana nos ratos foi baseada no trabalho de JORGE et al. (1991), que induziram placa bacteriana em ratos jovens através da dieta cariogênica, concluindo que esses animais têm um desenvolvimento sistêmico semelhante ao grupo controle, com aumento significativo de *S. mutans*, e formação marcante de placa bacteriana após 30 dias de tratamento. Esses resultados foram interpretados como decorrência da presença de sacarose na dieta, a qual predispõe um aumento da microbiota da placa e conseqüente formação de polímeros extracelulares pelos microorganismos. Resultados semelhantes com dieta cariogênica foram descritos por RATEITSCHAK-PLUSS & GUGGENHEIM, (1982).

No presente estudo a dieta cariogênica não modificou o aumento gengival causado pela csa. Os aspectos microscópicos foram semelhantes aos demais grupos, com discreto infiltrado inflamatório na região mais apical, subjacente ao epitélio juncional, em alguns cortes histológicos observou-se infiltrado inflamatório mais exuberante, sempre na região mais apical subjacente ao epitélio juncional. Estes dados discordam de KITAMURA et al. (1991), que observaram maior aumento gengival nos ratos submetidos a dieta cariogênica, mas inoculados também com *S. sobrinus*.

XEROSTOMIA E O AUMENTO GENGIVAL

Aventa-se a hipótese de que a concentração da ciclosporina na saliva seja fator importante no desenvolvimento do aumento gengival em humanos (McGAW et al., 1987; SEYMOUR et al., 1987). NIEDERBERGER et al., (1993), demonstra que a csa não pode ser detectada na saliva, por outro lado, COATES et al., (1988) e SANGUI HVI, (1988) detectou csa na saliva pelo método de radioimunoensaio(RIA), e pelo método de cromatografia líquida de alta pressão, técnica essa aplicada por KING et al (1993), para medir a concentração de csa de 18 pacientes submetidos à transplante renal, e encontrou inexpressiva concentração de csa na saliva desses pacientes. No presente estudo, a sialoadenectomia, que mostram

permanente redução do fluxo salivar, não alterou o aumento gengival induzido pela ciclosporina, sugerindo que a concentração de csa na saliva não é relevante no aumento gengival. A xerostomia poderia facilitar a formação de placa e induzir maior crescimento gengival, mas isto não foi observado. Deve-se considerar que o aumento gengival causado pela csa foi bastante pronunciado, mesmo na ausência de csa .

MORFOMETRIA DO EPITÉLIO E TECIDO CONJUNTIVO

Os trabalhos descrevendo os aumentos gengivais baseiam-se em observações não quantitativas, tanto em humanos (SAVAGE et al., 1986; YAMASAKI et al., 1987; PISANTY et al., 1987; BELLAZI et al., 1983; PIZZANTY et al., 1988, 1990), quanto em animais de laboratório(KITAMURA et al., 1990). Neste trabalho, primeiramente analisou-se quantitativamente, através de medidas lineares, o epitélio e o tecido conjuntivo, das gengivas livre vestibular e lingual dos aumentos gengivais, assim como da regressão quando interrompeu-se a administração de ciclosporina. As mensurações lineares dos cortes histopatológicos é relativamente simples podendo ser feitas com auxílio de régua milimetradas (MANDARIN DE LACERDA, 1991), ou através de programas específicos para informática (FISHER & KLINGE, 1994).

Os resultados dessa análise revelaram aumento significativo das dimensões do epitélio (média de 2,5x na face vestibular e 2,0x na face lingual), da altura do tecido conjuntivo(média de 2,17x na face vestibular e 1,94x na face lingual), da largura A (1,86x na face vestibular e 1,73x na face lingual) e da largura B (2,0x na face vestibular e 1,86x na face lingual), 60 dias após o início do tratamento com csa. Através desses valores verificou-se que o epitélio aumentou mais que o conjuntivo tanto na face vestibular quanto na face lingual. Também foram mensurados as áreas dessas estruturas e constatou-se que na face vestibular o epitélio bucal aumentou 3,04 x e o tecido conjuntivo 3,56x, na face lingual o epitélio bucal aumentou 3,69x e o tecido conjuntivo 3,16x, isto é, o epitélio bucal na face vestibular aumentou menos que o tecido conjuntivo e na face lingual o epitélio aumentou mais que o conjuntivo. Não foi aplicado teste estatístico para medir a significância entre os dados do epitélio bucal e tecido conjuntivo, porém, constatou-se que através desses dois sistemas de medidas houve contradição entre os dados. As mensurações lineares acusaram aumento maior do epitélio em relação ao conjuntivo tanto na face vestibular quanto na lingual, enquanto que as medidas das áreas na face vestibular indicaram que cresceu menos que o conjuntivo. Restrições são feitas quando se usa medidas lineares na avaliação de estruturas microscópicas. Nesse caso, mesmo estabelecendo pontos morfológicos nas gengivas para tais avaliações, essas tem que ser precisas e invariável.

Neste trabalho esse fator foi estabelecido com cautela, com todas as leituras seguindo as orientações dos pontos pré-estabelecidos, porém, eventualmente pode ter ocorrido variações de leitura devido a inclinação do corte. A inclinação do corte é de extrema importância e problemático para a aplicação desta técnica, pois, o tecido gengival é anisotrópico, isto é, não apresenta as mesmas características em todas as direções, e nesse caso é aconselhável seguir as premissas metodológicas de cortes de orientação conhecida, chamados de cortes verticais e sobre esses aplicar a estereometria usando um sistema teste pre-estabelecido. Neste trabalho não foi aplicado esta técnica a qual possivelmente ilustraria com mais precisão esses dados. O grau de retração e compressão que os tecidos sofrem com o processo de inclusão, que normalmente exige desidratação do material, também tem que ser levado em consideração, porém, trabalhos morfométricos comparativos podem dispensar o cálculo de retração tecidual. As medidas de áreas são menos problemáticas, porém tem as mesmas restrições citadas para as medidas lineares. FISHER & KLINGE (1994), utilizaram medidas lineares para mensurar cortes histológicos corados com H.E. do aumento gengival induzido pela csa em furão, cujos valores das medidas histométricas do epitélio bucal e epitélio juncional, indicaram aumento em suas dimensões. Esses mesmos autores descrevem o epitélio do aumento gengival induzido pela ciclosporina, como acantótico, com cristas epiteliais alongadas, interdigitando-se com o

conjuntivo. No presente trabalho foram observadas poucas cristas epiteliais alongadas interdigitando-se para o conjuntivo, e quando observadas foram mais expressivas na altura da gengiva inserida, diferenciando dos relatos dos aumentos gengivais em humanos (BARTOLD, 1987; PISANTY et al., 1988), cães (SEIBEL et al., 1989), furão (FISCHER & KLINGER, 1994).

Os relatos da regressão do aumento gengival, em humanos e em animais de laboratório, são de natureza clínica. DALY (1992), através de observações clínicas em humanos e RYFFEL (1982), em cães e ratos, relataram regressão do aumento gengival quando da redução da dose de ciclosporina administrada. Também foi descrito redução de volume, associado a diminuição da placa bacteriana ou outros irritantes locais (DALEY et al., 1986; RATEITSCHAK-PLUSS et al., 1983; WYSOCKI et al., 1983; PERNU et al., 1992). No presente trabalho foi evidente a diminuição de volume gengival macroscopicamente e microscopicamente, quando suspendeu-se a administração da ciclosporina. Através de mensurações lineares, 5 dias após a interrupção do tratamento, observou-se que a crista epitelial e o epitélio bucal diminuíram, o mesmo acontecendo com a altura e largura do tecido conjuntivo. A diminuição foi progressiva, mas mesmo após 90 dias da interrupção do tratamento, as dimensões morfométricas não voltaram a normalidade. Através dos dados da quantificação das áreas totais constatou-se que a face lingual no total cresce igual a face

vestibular, porém, decresce menos após 90 dias da interrupção com o tratamento com csa.

QUANTIFICAÇÃO ESTEREOMÉTRICA DOS COMPONENTES DO TECIDO CONJUNTIVO

Quando se faz a avaliação da densidade volumétrica em preparados histológicos, ao nível de microscopia de luz transmitida, as estruturas mais proeminentes (opacas) são superestimadas, é o efeito HOLMES. Quanto mais espesso o corte maior é o efeito HOLMES, que na execução de métodos estereométricos deve ser considerado. Portanto, o efeito Holmes é um erro sistemático associado a espessura do corte e ao diâmetro do componente estudado (WEIBEL & ELIAS, 1967). A dimensão do erro depende da razão entre o diâmetro da estrutura examinada e a espessura do corte. Segundo ANDERSON & LOWE (1990), o efeito Holmes não tem necessidade de ser aplicado em estudos comparativos da mesma estrutura tecidual, desde que as espessuras dos cortes sejam constantes. Essas observações justificam a ausência do cálculo do erro neste experimento, assim como, não utilização de cortes semifinos. Tem-se que levar em consideração, entretanto, que cortes semifinos, aumentam a resolução e conseqüentemente a confiabilidade da análise estereológica

(WEIBEL,1979). A estereologia também requer cortes histológicos isotrópicos, isto é, o tecido apresenta as mesmas características em todas as direções, portanto, as mesmas considerações citadas anteriormente para a morfometria pode ser aplicada a estereometria.

A quantificação da população de fibroblastos e matriz extracelular do aumento gengival permanece obscuro, existindo poucos estudos e com resultados conflitantes (SEYMOUR & HEASMAN, 1992). Os dados obtidos do aumento gengival induzido pela ciclosporina, revelaram que o tecido conjuntivo da gengiva marginal apresenta maior densidade volumétrica de fibroblastos (1,18x na face vestibular e 1,17x na face lingual), e de fibras colágenas (1,06x na face vestibular e 1,06x na face lingual), quando comparado com o grupo controle. Através destes resultados observou-se que a proporção entre a densidade volumétrica de fibroblastos dos grupos tratados com csa em relação ao controle é semelhante entre as faces vestibular e lingual. Por outro lado verificou-se também que a proporção entre a densidade volumétrica de fibras em relação a densidade volumétrica de fibroblastos no grupo controle foi de 5,83x e no grupo tratado de 5,24x na face vestibular, e na lingual a proporção no grupo controle foi de 5,84x e no tratado 5,31. Esses dados sugerem composição semelhante a do conjuntivo normal porém, com um com um crescimento contínuo e descontrolado.

McGAW & Porter (1988), usaram metodologia semelhante, em cortes ultrafinos do aumento gengival induzido pela ciclosporina em humanos, e não observaram aumento da densidade de fibroblastos, mas observaram aumento de volume citoplasmático dos fibroblastos. HASSEL et al., (1978), analisaram através da estereometria o aumento gengival induzido pela fenitoína em humanos, cujos resultados mostraram que essa lesão não se traduz em hiperplasia dos fibroblastos. Concluíram que o tecido gengival aumentado pela dilantina tinha uma composição semelhante a do tecido normal, porém, com maior volume. Porém WISOCKI et al., (1983), fazendo análise subjetiva, isto é, sem o auxílio da estereometria, de biópsias do aumento gengival humano induzido pela ciclosporina, descreveram aumento do número de fibroblastos, caracterizando a lesão como hiperplasia verdadeira. Resultados semelhantes foram descritos em aumento gengival induzido pela ciclosporina em ratos (KITAMURA et al.,1991) e furão (FISCHER & KLINGE,1994).Mais recentemente, a análise estereométrica do tecido conjuntivo da fibromatose gengival hereditária revelou aumento da população de fibroblastos e da quantidade de fibras colágenas, quando comparado com o tecido conjuntivo da gengiva clinicamente normal (SALLUM, 1993). PISANTY et al., (1988,1989), sugerem que o aumento gengival induzido pela csa, pode ser resultado de um acúmulo de matriz extracelular e acantose epitelial.

Diversos estudos "in vitro" têm documentado a influência da ciclosporina na estimulação e proliferação de subpopulações de fibroblastos (ZEBROWSKY et al., 1986; COLEY et al., 1986). JAMES et al., (1995), analisaram "in vitro", o efeito da ciclosporina nas concentrações de 1 a 10000 ng/ml, em 6 linhagens de fibroblastos gengivais, verificando que a ciclosporina não teve ação significativa sobre a proliferação de fibroblastos e sobre a síntese de proteínas da matriz extracelular. Esses autores sugeriram que "in vivo" a ciclosporina não influencia diretamente o metabolismo dos fibroblastos, atuando através de vias indiretas, associadas à liberação de mediadores da inflamação ou produtos bacterianos. Enfatizaram que o aumento gengival induzido pela ciclosporina, ocorre com maior frequência em regiões onde há maior índice de placa bacteriana e conseqüente maior grau de inflamação, reforçando a hipótese de que o aumento gengival induzido pela csa, ocorra com maior frequência em locais onde a maior acúmulo de placa bacteriana e conseqüentemente maior grau de resposta inflamatória, o que não foi observado neste trabalho. De acordo com HASSEL (1982), usando gatos para indução do aumento gengival pela fenitoína, sugeriu que a hiperplasia, da gengiva seria transitória. Este autor sugere que o maior número de células do aumento gengival, apresenta-se em função do estágio do desenvolvimento da lesão.

Nem todos os pacientes tratados com csa desenvolvem aumento gengival, sugerindo heterogeneidade na resposta dos fibroblastos à csa (TIPTON et al., 1991).

Pacientes que fazem uso da ciclosporina, mas que não desenvolvem aumento gengival, podem não apresentar subpopulações de fibroblastos geneticamente sensíveis à droga, os fibroblastos constituem uma população celular funcionalmente heterogênea, e a composição dos tecidos resulta de uma mistura de subpopulações. Sugere-se que doenças do tecido conjuntivo resultem de uma seleção de subpopulações específicas de fibroblastos caracterizados por aspectos funcionais que levam as modificações da matriz extracelular, que podem ser refletidas pelas manifestações clínicas da doença (HASSELL, 1991; McCULLOCH & BORDIN, 1991). Neste trabalho todos os ratos responderam à csa, com aumento da densidade volumétrica de fibroblastos gengivais. Pode-se sugerir que fibroblastos das gengivas de ratos Wistar são geneticamente sensíveis à ação da ciclosporina. Além do aumento da densidade volumétrica de fibroblastos detectou-se aumento da densidade volumétrica de fibras colágenas, e diminuição de outras estruturas, que incluem espaços em branco, vasos, nervos, células inflamatórias e células não diagnosticáveis. Esses resultados discordam em parte, dos encontrados por WONDIMU et al., (1995), que usou a estereometria para avaliar aumentos gengivais induzidos pela csa em humanos. Esses autores

também constataram aumento da celularidade e aumento de matriz não colagênica, mas diminuição de fibras colágenas.

Segundo TEN CATE (1973), a remodelação do tecido conjuntivo envolve um equilíbrio entre síntese e degradação de colágeno. O acúmulo de colágeno pode resultar do estímulo da síntese e/ou diminuição da degradação. Constatou-se através da microscopia eletrônica que fibroblastos do aumento gengival induzido pela ciclosporina apresentam aumento do volume citoplasmático, do retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi, sugerindo maior atividade de síntese de colágeno (McGAW et al., 1988). Por outro lado HASSEL et al., (1988), analisando várias linhagens de fibroblastos humanos, incubados com dilantina, verificaram variação da resposta de síntese proteica. De acordo com TIPTON et al., (1991), o aumento da síntese de colágeno, a baixa produção de colagenase ou aumento da produção de inibidor tecidual da metaloproteinase (Timp), pode levar a diminuição da atividade colagenolítica, levando a exacerbada deposição de colágeno. Sugere-se portanto que para os casos dos aumentos gengivais induzido por drogas exista deficiência na produção da enzima ou na função da mesma. ZEBROWSKY et al., (1988) relatam que a csa não exerce efeito sobre a atividade colagenolítica de fibroblastos gengivais humanos normais, sugerindo que a atividade colagenolítica não desempenha papel significativo nos aumentos gengivais induzidos por drogas. Porém TIPTON

et al., (1991), relatam que o efeito da csa sobre a atividade colagenolítica aparentemente depende do doador da amostra, da presença de subpopulações celulares susceptíveis e da concentração da droga.

Entretanto, fibroblastos de gengiva normal e de portadores de fibromatose gengival hereditária comportaram-se em cultura de forma semelhante em relação a proliferação celular, quando incubados com diferentes concentrações de csa (NAVARRO et al., 1995). Há portanto muitas controvérsias quanto a resposta de fibroblastos gengivais quando estimulados pela csa.

Em resumo, tanto a dieta cariogênica quanto a xerostomia não influenciaram no desenvolvimento do aumento gengival quando os ratos foram tratados com csa. O aumento gengival nesse caso parece estar relacionado com a dose e duração do tratamento, uma vez que interrompendo o tratamento houve regressão da lesão, apesar de que mesmo após 90 dias tanto clinicamente quanto morfométricamente não voltaram aos aspectos do grupo controle. Microscopicamente, o aumento gengival apresentou aumento das dimensões do epitélio e conjuntivo. O aumento do tecido conjuntivo parece estar associado com o aumento da densidade volumétrica de fibroblastos e fibras colágenas.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e dentro das condições experimentais deste trabalho, pode-se concluir que:

- 1- Todos os ratos tratados com csa (10 mg/kg/dia) durante 60 dias desenvolveram aumento de volume gengival. Macroscopicamente o aumento foi mais acentuado na face vestibular dos molares inferiores.
- 2- A dieta cariogênica e a xerostomia não modificaram o aumento de volume gengival causado pela csa e as características da gengiva normal.
- 3- O aumento gengival induzido pela csa apresentou aumento das dimensões do epitélio bucal, altura e largura do tecido conjuntivo.
- 4- O aumento gengival induzido pela csa apresentou maior densidade volumétrica de fibroblastos, fibras colágenas em relação à gengiva normal.
- 5- Com a interrupção do tratamento com csa houve diminuição progressiva do aumento gengival, não apresentando, as características normais mesmo após 90 dias.
- 6- Com a interrupção do tratamento com csa a densidade volumétrica de fibroblastos voltou a ter valores de normalidade após 10 dias, enquanto que a densidade volumétrica de fibras colágenas continuou com valores acima dos normais mesmo após 90 dias.

SUMMARY

SUMMARY

Cyclosporin is a selective immunosuppressant, used in organ transplants to prevent graft rejection. Csa can cause various side effects including gingival overgrowth. The aim of this work was to evaluate the gingival overgrowth of rats treated daily with 10mg/kg of body weight of csa, during 60 days, subcutaneously, as well as the regression of gingival overgrowth after the interruption of treatment. The effects of a cariogenic diet and xerostomia were also considered. All rats treated with csa developed gingival overgrowth, with increased thickness of the epithelium, height and wideness of the connective tissue. The density of fibroblasts and collagen fibers, also increased. The cariogenic diet and xerostomia did not modify the characteristics of the gingiva of either normal and csa treated rats. 5 to 90 days after the interruption of treatment with cyclosporin, there was a progressive reduction of the gingival volume and of collagen fibers and fibroblasts densities. The reduction was more exuberant in the initial periods, but after 90 days did not return to the normal values.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, D.; DAVIES, G. - Gingival hyperplasia associated with cyclosporin A: a report of 2 cases. *British Dental Journal* 1984; 157: 89-90.

ALLISON, M.C.; POUNDER, R.E. - Cyclosporin for Crohn's disease. *Lancet* 1984; 1: 902-903.

ANDERSON & LOWE, J - Hystometric and image analysis. in: BANCROFT, J.D.& STEVENS,A., ed: Theory and practice of histological technics. 3ed. London, C. Livingstone 1990 cap 30, p. 597-618

ANDERSON JM, DUNNILL MS Observations on the estimation of the quantity of enfhysema in the lings by the point-sample method. *Thorax* 1965; 20: 462.

ANGELOPOULOS, A.P.- Diphenylhydantoin gingival hyperplasia. A clinicopathological review. I. Incidence, clinical features and histopathology *Can Dent Associat* 1975; 41: 176-184.

- ARENDRORF TM, WALKER DM, Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil* 1987; 14: 217 - 227.
- ATKINSON, K.; BIGGS, J.; DARVENIZA, P.; BOLDAND, J.; CONCANNON, A.; DODDS, A. - Cyclosporine - associated central nervous system toxicity after allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation* 1984; 38: 34-37,.
- BADDELEY AJ, GUNDERSEN HJG, CRUZ-ORIVE LM Estimation of surface area from vertical sections *J. Microsc.* 1986; 142: 259 - 276.
- BARAK S, ENGELBERG IS, HISS J Gingival hyperplasia caused by nifedipine histopathological findings *J Periodontol* 1987; 58: 639 - 642.
- BARCLAY S, THOMASON JM, IDLE JR The incidence and severity of nifedipine induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1992; 19: 311 - 14.
- BARTHELEMY, H.; FRAPPAZ, A.; CAMBAZARD, F.; MAUDUIT, G.; ROUCHOUSE, B.; KANITAKIS, J.; SOUTEYRAND, P.; CLAUDY, A. L.; THIVOLET, J. - Treatment of nine cases of penphigus vulgaris with cyclosporine *Journal of the American Academy of Dermatology* 1993; 18: 1262-1266

BARTOLD PM - Cyclosporine and gingival overgrowth *Journal Oral Pathology* 1987; 16: 464 - 468.

BARTOLD, P.M.; HAY, S.; VERNON-ROBERTS, B. - Effect of cyclosporine A on connective tissue deposition in experimental inflammatory lesions *Matrix* 1989; 9: 293-300,

BENDTZEN K, TVEDE N, ANDERSEN V, BENDIXEN G Cyclosporin for polymyositis *Lancet* 1984; 1: 792 - 793.

BENNETT & CHRISTIAN- Cyclosporin nephrotoxicity *Annals of internal medicine* 1985; 99: 851-854.

BENNETT, W.M.; PULLIAM, J.P. - Cyclosporine nephrotoxicity *Annals of Internal Medicine* 1983; 99: 851-854.

BENNETT, W.M.; NORMAN, D.J.- Action and Toxicity of cyclosporine *Annals of Internal Medicine* 1986; 37: 215-224

BERGLUND T, LINDHE J, STERRET JD Clinical and structural characteristics of periodontal tissues in young and old dogs *J Clin Periodontol* 1991; 18: 616 - 623

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 *Current Therapeutic Research* 1981; 30: 5.

BIRKEDAL - HANSEN H, COOB CM, TAYLOR RE, FULLMER HM
Synthesis and release of procollagenase by cultured fibroblast *J Biol Chem* 1976; 251: 3162 - 3168.

BOREL J F, FEURER C, MAGNÉE C, STÄHELIN H Effects of the New Antilymphocytic peptide cyclosporin A in animals. *Immunology* 1977; 32: 1117- 1125.

BOREL JF Pharmacology of cyclosporine (Sandimmune).
Pharmacological properties in vivo *Pharmacological Reviews* 1989; 42: 259 - 371.

BOREL, J. F. - Basic Science Summary in: KAHAN, B. - Cyclosporine: nature of the agent and its immunologic actions. *New York, N.Y. Grune & Stratton* 1988 722-730.

BOREL, J.F.; FEURER, C.; GUBLER, H.V. - Biological effects of cyclosporin. A new antilymphocyte agent *Agents and Action* 1976; 6: 468-475.

BREDFELDT GW Phenytoin induced hyperplasia found in edentulous patients *J Am Dent Assoc* 1992; 123: 61 - 64.

BROWN RS, SEIN P, CORIO R Nitrendipine induced gingival hyperplasia. *Oral Surg* 1990; 70: 593 - 596.

BRYNSKOV S, FREUND L, CAMPANINI MC KAMPMANN JP Cyclosporine pharmacokinetics after intravenous and oral administration in patients with Crown's disease. *Scand. J. Gastroenterol* 1992; 27: 961 - 967.

BUEDING, E., HAWKINS, J.; CHA, Y.N. - Antischistosomal effects of cyclosporin A *Agents and Actions* 1981; 11: 380-383.

BUONPANE, E. - Therapeutic Drug monitoring of cyclosporine *Connecticut Medicine*, 54: 17-19, 1990.

BURCKHARDT JJ, GUGGENHEIM B Cyclosporin A "in vivo" and "in vitro" suppression of rat lymphocyte function. *Immunology* 1979; 36: 753

BUTTLER RT, KALKWARF KL, KALDHAL WB Drug induced gingival hyperplasia: phenytoin, cyclosporine and nifedipine *J Am Dent Assoc* 1987; 114: 56 - 60.

CALNE RY Cyclosporin *Nephron* 1980; 26: 57 - 63.

CALNE RY, ROLLES K, THIRU S, McMASTER P, CRADDOCK GN, AZIZ S, WHITE DGJ, EVANS BD, RUNN DC, HENDERSON RG, LEWIS P
Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidney, 2 pancreases, and 2 liver *Lancet* 1979; 2: 1033 - 1036.

CALNE, R.Y.; ROLLES, K.; WHITE, D.C.; THIRU, D.; EVANS, D.B.; HENDERSON, R.; HAMILTON, D.C.; BOONE, N.; McMASTER, P.; GIBBY, O.; WILLIAMS, R. - Cyclosporin - A in clinical organ grafting *Transplant Proc* 1981; 13: 349-358.

CALNE, R.Y.; THIRU, S.; McMASTER, P.; CRADDOCK, G.N.; WHITE, D.J.G.; EVANS, D.B.; DUNN, D.C.; PENTLOW, B.D.; ROLLES, K. - Cyclosporin - A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet* 1978;1: 1323-1327.

CARREL R, BAT T, CHAPMAN MK Gingival aberration in dilantin treated guinea pigs *J Pedod* 1983; 7: 229 - 240

CHALKEY, HW - Method for the quantitative morphologic analysis of tissues. *Natn. Cancer Inst.* 1943; 4: 47.

CHEYNE, V.D. - A description of salivary glands of the rat and a procedure of their extupation *J Dent Res* 1939; 18: 457-468.

CIANCIO SG, BOURGAULT PC, Clinical pharmacology for dental professionals 3rd ed St. Louis; cv Mosby, 1989; 273 - 246.

COATES JE, LAM SF, MCGAW WT Radioimmunoassay of salivary cyclosporine with use of I - labeled cyclosporine *Clin Chem* 1988; 34: 1545 - 1551.

COLEY, C.; JARVIS, K.; HASSEL, T. - Effect of cyclosporine - A on human gingival fibroblasts in vitro *Journal of Dental Research* 1986; 65: 353 (Abst. 1658).

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

CONARD G J; HAAVIK CO; FINGER KF - The relation ship of 5,5-diphenylhydantoin metabolism of the species - specific induction of gingival hyperplasia in the rat *Arch Oral Biol* 1972; 17: 311 - 329.

CONARD GJ, JEFFERY H, BOSSES L, STEINBERG AD Levels of 5,5 - diphenylhydantoin and its major metabolite in human serum, saliva and hyperplastic gingiva *J Dent Res* 1974; 53: 1323.

CORSINI, A.G.; BELLUCI, S.B.; COSTA, M.G. - A simple method of evaluating delayed type of hypersensitivity in mice *J Immunol Methods* 1979; 30: 195-200.

CRAWFORD DH, EDWARDS JM Immunity to Epstein Barr virus in cyclosporin A treated renal allograft recipients *Lancet* 1981; 1469.

CUNNINGHAM C, WHITING PH, BURKE MD, WHEATLEY DN, SIMPSON JG Increasing the hepatic metabolism of ciclosporine abolishes nephrotoxicity. *Transplant. Proc.* 1983; 15: 2712 - 2715.

DALEY T D, WYSOCKI GP Cyclosporine therapy its significance to the periodontist *J Periodont* 1984; 55: 708 - 712.

DALEY, T.D.; WYSOCKI, D.D.S; COLIN DAY, H.B. - Clinical and pharmacologic correlations in cyclosporine induced gingival hyperplasia *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986; 62: 417-421.

DALLAS BM Hyperplasia of the oral mucosa in an edentulous epileptic *N Z Dent* 1963; 59: 54 - 55.

DALY CG Resolution of cyclosporin-A (csa) induced gingival enlargement following reduction in csa dosage. *J Clin Periodontol* 1992; 19: 143 - 145.

- DARLING MR, ARENDORF TM, SHAIKH AB, STEPHEN L Gingival hyperplasia of an edentulous alveolar ridge in an edentulous epileptic. A case report *NZ Dent J* 1986; 84: 114 - 116.
- DELESSE MA Procédé mécanique pour déterminer la composition des roches *C R Acad Sce* 1848;25: 544.
- DELILIERS, G.L.; SANTORO, F.; POLLI, N.; BRUNO, E.; FUMAGALLI, L.; RISCIOTTI, E. - Light and electron microscopic study of cyclosporin A, induced gengival hyperplasia *J Periodontol* 1986; 57: 771-5.
- DONGARI A, MCDONNELL HT, LANGLAIS RP Drug induced gingival overgrowth *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; 76: 543 - 548.
- DOOLEY G, VASAN N Dilantin hyperplasia: a review of the literatures. *J N Z Soc Periodontol* 1989; 68: 19 - 22.
- DREYER WP, THOMAS OJ Diphenylhydantoinate induced hyperplasia of the masticatory mucosa in an edentulous epileptic patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978; 45: 701 - 706.

DUMMER JS, BOUND LM, SING G, ATCHISON SB, KAPADIA HOM

Epstein Barr virus induced lymphoma in a cardiac transplant recipient

Am J Med 1984; 77: 179.

DUNKIN H G, CARBONI JM, WAKSMAN BH Antigen - induced increase in

migration of large cortical; thymocytes(regulatory cells ?) to the

marginal zone and red pulp of the spleen *J Immunol* 1978; 121 (3):

1075 - 1081.

EISEN, D.; ELLIS, N.C.; DUELL, E.A.; GRIFFITHS, C.E.M., VOORHEES,

J.J. - Effect of topical cyclosporine rinse on oral liquen planus - A

Double blind Analysis. *The New England Journal of medicine*

1990; 2: 290-294.

ELLIOT JF, LIN Y, MIZEL SB, BEACKEY RC, HARNISH DG, PAETKAU V

Induction of interleukin-2 messenger RNA inhibited by cyclosporin-A.

Science 1984; 226: 1439 - 1441.

ELLIS, C.N.; GORSULOWSKY, D.C.; HAMILTON, T.A.; BILLINGS, J.K.;

BROWN, M.D.; HEADINGTON, J.T.; COOPER, K.D.; BAADS GAARD,

O.; DUELL, E.A., ANNESLEY, T.M.; TURCOTTE, J.G.; VOORHEES,

J.J. - Cyclosporine improves psoriasis in a double-blind study *Journal*

of the American Medical Association 1986;256: 3110-3116.

- FERGUSON RM, SUTHERLAND DER, SIMMON SRL Ketoconazole, cyclosporine metabolism and renal transplantation. *Lancet* 1982; 2: 882.
- FEUTREN, G.; QUERIN, S.; TRON, F.; NOEL, L.H.; CHATENOU, L.; LESAURE, P.H.; BACH, J.F. - The effects of cyclosporine in patients with systemic lupus. *Transplantation proceedings*, 18, 643-644, 1986.
- FINNER H, KAYE GJ - Ultrastructural evidence of myofibroblasts in circumscribed fibromatosis. In: YAMASAKI A, ROSE G G, PINERO G J, MAHAN GI Ultrastructure of fibroblasts in cyclosporin A induced gingival hyperplasia *J Oral Pathol* 1987; 16: 129 - 134.
- FISCHEL R, BARBUL A, WASSERKING HL, PENBERTHY LT, RETTURCE G, EFRON G Cyclosporine A impairs wound healing in rats *J Surg Res* 1983; 34: 572 - 575.
- 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 - 249.
- FISHER C The new quantimet. 720. *Microscopy* 1971; 19: 1.

FREEHALLY J, WALLS J, MISTRY N Does nifedipine ameliorate cyclosporin A nephrotoxicity? *B M J* 1987; 295: 310.

FREEMAN DJ, LAUPACIS A, KEOW PA, STILLER CR, CARRUTHERS SE Evaluation of cyclosporine - phenytoin interaction with observations on cyclosporine metabolites. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1984; 18: 887 - 893.

FRISKOPP J, KLINTMALM G Gingival enlargemt. A comparasion between cyclosporine and azatioprine treated renal allograft recipients *Swedish Dental Journal* 1986; 10: 85-92.

FU EARL, NIEH S, CHANG HC, WANG SL, Dose - dependent gingival overgrowth induced by ciclosporin in rats. *J. Periodont.* 1995; 66: 594 - 598.

FULLMER H, GIBSON W, LAZARUS G, MADEN H, WHEDON K Origin of collagenase in periodontal tissues of man *J Dent Res* 1969; 48: 63 - 66.

FURUE M, KATZ SI The effects of cyclosporine on epidermal cells I - cyclosporine inhibits acessory cells functions of epidermal Langerhans cells "in vitro" *J Immunol* 1988; 140: 4139 - 4143.

- GABBIANI G Reparative processes in mammalian wound healing: the role of contractile phenomena *Int Rev Cytol* 1977; 48: 187.
- GLUCKMAN E, ARCESE W, DEVERIGRE A, BOIRON M Cyclosporin A prophylactic treatment of graft versus host disease in human allogenic bone marrow transplantation: preliminary results *Transpl Proc* 1981; 13: 368 - 370.
- GOLUB LM, SIEGEL N, RAMAMURTHY C, MANDEL J Some characteristics of collagenase activity in gingival crevicular fluid and its relationship to gingival disease in humans *J Dent Res* 1976; 55: 1049 - 1057.
- GOULTSCHIN J, SHOSHAN S Inhibition of collagen breakdown by diphenylhydantoin *Biochimica et Biophysica Acta* 1980; 631: 188 - 189.
- GRAFFENRIED BV, KRUPP P Side effects of cyclosporine (Sandimmun) in renal transplant recipients and in patients with autoimmune diseases *Transplantation Proceedings* 1986; 18: 876-883.
- GRANELLI - PIPPERNO A, INABA K, STEIMANN RM Stimulation of lymphokine release from T - lymphoblasts *J Exp Med* 1984; 160: 1792 - 1802.

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

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

GUPTA S, KESHAVARZIAN A, HODGSON H. J. F. Cyclosporin in ulcerative colitis. *Lancet* 1984; 2: 1277 - 1278.

HALL BK SQUIERE CA Ultrastructural quantitation of connective tissue changes in phenytoin Induced gingival overgrowth in the ferret *J Dent Res* 1982; 61: 9442.

HAMILTON DV, EVANS DB, THIRU S - Toxicity of cyclosporin A in organ grafting. In: Cyclosporin ed. D.J.G. White, pp 393 - 411 Elsevier, Amsterdam 1982.

HASSELL TM, ROEBUCK S, PAGE RC, WRAY SH Quantitative histopathologic assessment of developoy phenytoin - induced gingival overgrowth in the cat *J Clin Periodont* 1982; 9: 365 - 372.

HASSELL T M, PAGE R The major metabolite of phenytoin (dilantin) induces gingival overgrowth in cats *J Periodontol Res* 1978; 13: 280 - 283.

HASSELL TM - Epilepsy and the oral manifestation of phenytoin therapy *Basel Switzerland: Karger Publishers*, 1981, 122 - 123.

HASSELL TM, DUDLEY K H, HIRSCH P F, HUTCHENS L H, JOHNSTON M C, MARIARTY J D - Summarary of an international symposium on phenytoin-induced teratology and gingival pathology *J of the American Dental Association* 1979, 99: 652 - 655.

HASSELL TM, GILBERT GH Phenytoin sensitivity of fibroblasts as the basis for susceptibility of gingival enlargement *American Journal of Pathology* 1983; 112: 218 - 223.

HASSELL TM, HARRIS EL, BOUGHMAN JA, COCKEY GC Gingival overgrowth: hereditary considerations. *Compend. Cont. Ed. Dent.* 1990; 14: 511 - 514.

HASSELL TM, PAGE RC, LINDHE J Histologic evidence for impaired growth control in diphenylhydantoin gingival overgrowth in man *Archives of Oral Biology* 1978; 23: 381-384.

HASSELL TM, PAGE RC, NARAYANAN AS, COOPER CG

Diphenylhydantoin (Dilantin) gingival hyperplasia: Drug induced abnormality of connective tissue *Proceedings of the Nacional Academy of Sciences* 1976; 73: 2909 - 2912

HASSELL TM, STANEK EJ Evidence that healthy human gingiva contains

functionally heterogeneous fibroblasts subpopulations *Archives of Oral Biology* 1983; 28: 617 - 625.

HEATH JK, GOWEN M, MEIKLE MC, REYNOLDS JJ Human gingival

tissues in culture synthesize three metalloproteinases and a metalloproteinase inhibitor. *J. Periodont. Res.* 1982; 17: 183 - 190.

HEIJL L, SUNDIN Y Nitrendipine induced gingival overgrowth in dogs *J*

Periodontol 1988; 60: 104 - 112.

HELIN HJ, EDGINTON TS Cyclosporin - A regulates monocyte mecrophage

effector functions by affecting instructor T- cells: Inhibition of monocyte procoagulant response to allogeneic stimulation. *J. Immunol*, 1984; 132: 1074.

HESS AD, DONNENBERG AD, TUTCHKA PJ, SANTOS GW Effect of

cyclosporine - A on human lymphocyte responses "in vitro" *J Immunol* 1983; 130: 717 - 721.

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

HIESTAND PC, GUNN HC, GALE JM, RYFFEL B, BOREL JF Comparison of the pharmacological profiles of cyclosporine, (Nva²)- cyclosporine and (Val²) dihydrocyclosporine *Immunology* 1985; 55: 249 - 255.

HUANG C, MING KL, MAN TF Hepatitis B liver disease in cyclosporine treatment renal allgraft recipients *Transplantation* 1990; 49: 540 - 544.

ISHIKAWA J, GLICKMAN I Gingival response to the systemic administration of sodium diphenylhydantoin (Dilantin) in cats *Journal of Periodontology* 1961; 32: 149 - 158.

JAMES JA, IRWIN CR, LINDEN GJ The effects of culture environment on the response of human gingival fibroblasts to cyclosporin A *J Periodontol* 1995; 66: 339 - 344.

JEFFERY JR Cyclosporine analogues *Clin Bioquim* 1991; 24: 15 - 21.

- JENSEN JR, THESTRUP - PEDERSEN K, ZACHARIAE H, SOGGARD H
Cyclosporin A therapy for mycosid fungoides *Archives of dermatology*
1987; 123: 160 - 163.
- JOHNSON JH Effects of local irritation and dextran and sulfhate
administration on the periodontium of the rat *J Periodont Res* 1975;
10: 332 - 345.
- JONES CM Gingival hyperplasia associated with nifedipine *British Dental
Journal* 1986; 160: 416 - 417.
- JORGE AOC, ALMEIDA NQ, FANTINATO V, SHIMAZU MT Adsorção de
Streptococcus mutans pela cenoura - observações experimentais em
ratos *Rev Odont Unesp* 1991; 20: 67 - 74.
- KAHAN BD Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cyclosporine.
Transpl. Proc. 1989; 21: 9.
- KAHAN BD, VAN BUREN CT, FLECHNER SM, PAYNE WP, BOILE M,
KERMAN RH Cyclosporine immunosuppression mitigates
immunologic risk factors in renal allotransplantation *Transpl Proc*
1983; 15: 2469 - 2478.

KALMAN VK, KLIMPEL GR Effects of cyclosporin on the production of various interferons *Transpl Proc* 1993; 15: 2383.

KANTOR ML, HASSEL TM Increased accumulation of sulphated glycosaminoglycans in cultures of human fibroblasts from phenytoin induced gingival overgrowth *J Dent Res* 1983; 62: 383 - 387.

KATENKAMP D, STILLER D - Cellular composition of the so-called dermatofibroma (histiocytoma cutis) *Pathol Anat Histol* 1975; 367: 225.

KEMÉNY L, KENDERESSY Asz, OLASZ E, MICHEL G, RUZICK AT, FARKAS B, DOBOZY A The interleukin 8 receptor: a potential target for antipsoriatic therapy? *Eur J Pharm* 1994; 258: 269 - 272.

KEOWN PA, LAUPACIS A, CARRUTHERS G Interaction between phenytoin and cyclosporine following organ transplantation. *Transplantation* 1984; 3: 304.

KIMBALL CP The treatment of epilepsy with sodium diphenylhydantoinnate. *JAMA*, 1939; 112: 1244 - 1246.

KING GN, FULLLINFARW R, HIGGINS TJ, WALKER RG, FRANCIS DMA, WIESENFELD D Gingival hyperplasia in renal allograft recipients

receiving cyclosporin - A and calcium antagonists *J Clin Periodontol* 1993; 20: 286 - 293.

KING JD, GIMSON AP Experimental investigation of periodontal disease in the ferret and related lesions in man *British Dental Journal* 1947; 83: 148 - 149.

KITAMURA, K.; KATO, K.; YOSHIDA, M.; MORISAKI, I.; SOBOE, S. - Cyclosporin - A induced gingival overgrowth - strain differences in the rats *Archs Oral Biol* 1990; 35: 483 - 486.

KLINTMALM G B G, IWATSUKI S, STARZL T E Nephrotoxicity of cyclosporin A in liver and Kidney transplant patients *Lancet* 1981; 1: 470-471.

LAUPACIS A, KEOWN DA, ULAN RA, SINCLAIR NR, STILLER CR Hyperbilirubinaemia and cyclosporin - A levels *Lancet* 1981; 2: 1426-1427.

LAUPACIS A, KEOWON PA, ULAN RA, MCKENZIE N, STILLER CR - Cyclosporin A: a powerful immunosuppressant *Canadian Medical Association Journal* 1982; 126(9): 1041 - 1046.

- LEDERMAN D, LUMERMAN H, RENBEN S, FREEDMAN PD Gingival hyperplasia associated with nifedipine therapy *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984; 57: 620 - 622.
- LEGACÉ R, DELAGE C, BOWCHARD H L, SEEMAYERTA Desmoplastic fibroma of bone - An structural study *Am J Surg Pathol* 1979; 3: 423.
- LEONI C, GARCIA RC, ALLISON AC Effects of cyclosporin A on human lymphocytes in culture *J Clin Lab Immunol* 1978; 1: 67.
- LILLEJOT HE, MALEK TR, SHEVACK EM Differential effect of cyclosporin A on the expression of T and B lymphocyte activation antigens *J. Immunol.* 1984; 133: 244.
- LISTGARTEN MA Similarity of epithelial relationship in the gingiva of rat and man *J Periodontol* 1975; 46: 677 - 680.
- LITTLE TM, GIRGIS SS, MASOTTI RE Diphenylhydantoin induced gingival hyperplasia: its response to changes in drug dosage *Dev. Med. Child Neurol* 1975; 17: 421 - 424.
- LIVINGTON S The medical treatment of epilepsy: managing side effects anti - epileptic drugs *Pediatr Ann* 1970; 8: 261 - 266.

LOEB , S ed. Physicians drug handbook. Springhouse, Pennsylvania:
Springhouse 1991: 714 - 8, 354, 1051.

LOMBARDI T, FIORI - DONNO G, BELSER U - Felodipine induced
gingival hyperplasia *Oral Surg* 1990; 70: 593 - 6.

LUCAS RM, HOWELL LP, WALL BA Nifedipine induced gingival
hyperplasia associated with nifedipine therapy *Oral Surg Oral med
Oral Pathol* 1984; 57: 620 - 622.

LUNDERGAN WP Drug - induced gingival enlargements: Dilantin
hyperplasia and beyond *Can Dent Assoc J* 1989; 17: 48 - 52.

MCCULLOCH CAG, BORDIN S Role of fibroblast subpopulations in
periodontal physiology and pathology. *J Periodontal Res* 1991; 26:
144-154.

MACGAW T, LAM S, COATES J Cyclosporin - induced gingival
overgrowth: correlation with dental plaque scores, gingivitis scores
and cyclosporin levels in serum and saliva *Oral surgery Oral med
Oral Pathol* 1987; 64: 293-297.

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

MANDALINISH D, HASSELL TM, FOSTER R, TAPPE N - Fibroblasts from phenytoin gingival overgrowth secrete an inhibition to collagenase *J Dental Research* 62: 192 , 193 American Association for Dental Research. Annual Session. Abstract number 206.

MANDARIN - DE - LACERDA CA Manual de quantificação morfológica: morfometria, alometria, estereometria 2ª ed. Rio de Janeiro, CEBIO, 1994.

MASON J Pharmacology of cyclosporine (Sandimmune). Pathophysiology and toxicology of cyclosporine in humans and animals *Pharmacol Rev* 1989; 42: 423.

MASRI MA Comparative study of skin graft survival rates in BALB/c mice treated with either cyclosporine A, cyclosporine G, or 1/1 combination of both *Transpl Proc* 1992; 24:1661.

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

McKENNA RM, SZTUR MK, JEFFERY JR Inhibition of cytokine production by cyclosporine A and G *Transplantation* 1989;47:343.

MERTIN J, KNIGHT SC, RUDGE P, THOMPSON EJ, HEALY MJR Double blind controlled trial of immunosuppression in treatment of multiple sclerosis *Lancet* 1980; 2: 949 - 951.

MIHATSCH M J, THIEL G, SPICHTIN H T, OBERHOLZER M, BRUNNER F P, HARDER F, OLIVIERI V, BREMER R, RYFFEL B, STOCKLINE E, TORHOST J, GUDAT F, ZOLLINGER HV, LOERTSCHER R Morphological findings in kidney transplants after treatment with cyclosporine *Transplantation Proceedings* 1983;15: 2821-2835.

MIHATSCH M J, RYFFEL B, HERMLE M, BRUNNER FP, THIEL G - Morphology of cyclosporine nephrotoxicity in the rat *Clinical Nephrology* 1986; 25 : 52 - 58.

MILPIED B La Cyclosporine in Dermatologie *Ann Dermatol Venerol* 1988;115: 391-397.

MODRY DL, STINSON EB, OYER PE, JAMIELSON SW, BALDWIN JG, SHIMWAY NE Acute rejection and massive cyclosporine

- requirements in heart transplant recipients treated with rifanipin.
Transplantation 1985; 39: 313 - 314.
- MORISAKI I, MIHARA J, KATO K Phenytoin induced gingival overgrowth
in rats infected with *Streptococcus sobrinus* *Arch Oral Biol* 1990; 35:
753 - 758
- MORRIS PJ The impact of cyclosporin A on transplantation *Adv Sur* 1984;
17: 99.
- MORRIS PJ, FRENCH M, TRING A, OLIVER D, DUNNILL M, A controlled
trial of cyclosporin A *British Transplantation Society* 1981; july 8
(abstract)
- MORTIMER PS, THOMPSON JF, DAWBER RPR, RYAN TJ, MORRIS PJ
Hypertrichosis and multiple cutaneous squamous cell carcinomas in
association with cyclosporin A therapy *Journal of the Royal Society of
Medicine* 1983; 76: 786 - 787.
- MULLER W, HERRMANN B Cyclosporin A for psoriasis *New England
Journal of Medicine* 1979; 301: 555.
- NAGINGTON J, GRAY J Cyclosporin A immunosuppression, Epstein -
Barr antibody and lymphoma *Lancet* 1980; 1: 536-537.

NASCIMENTO A, ALMEIDA RCB, BOZZO L, ALMEIDA OP Interaction of phenytoin and inflammation induces gingival overgrowth in rats
Journal of Periodontal Research 1985; 20: 386 - 391.

NAVARRO C Efeitos da ciclosporina A sobre síntese de proteínas de matriz extracelular de fibroblastos de gengiva normal e de portadores de fibromatose gengival hereditária Piracicaba, 1996 (Tese de Doutorado - Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP).

NEIDLE EA, YAGIELA JA Farmacologia e terapêutica para dentistas. Guanabara Koogan S.A. p: 169-175, 1991.

NEILD GH, REUBEN R, HARTLEY B, CAMERON IJ - Glomerular thrombe in renal allografts associated with cyclosporin therapy *Proc An Soc Nephrol* 247 A (Abst).

NEMLANDER A, AHONEN J, WIKTOROWICZ K, VON WILLEBRAND E, HEKALI R, LALLA M, HÄRRY P Effect of cyclosporine on wound Healing *Trasnplantation* 1983; 36: 1 - 6.

NIEDERBERGER W, LEMAIRE M, MAURER G, NUSSBAUMER K, MAGNER O Distribution and binding of cyclosporine in blood and tissues *Transp. Proc* 1983; 15: 2419 - 2421.

NISHIKAWA S, TADA H, HAMASAKI A Nifedipine induced gingival hyperplasia : a clinical and "in vitro" study *J Periodontol* 1991; 62: 30 - 5.

NOACH EL, WOODBURY DM, GOODMAN LS - Studies on the absorption, distribution, fate and excretion of diphenylhydantoin - *J Pharmacol Exp Ther*, 1958; 122 - 301.

NUSSENBLATT RB, PALESTINE A G, CHAN C, MOCHIZUKI M, YANCEY K Effectiveness of cyclosporin therapy for Behcet's disease *Arthritis & Rheumatism* 1985; 28: 671-679.

NYSKA A, WANER T, PIRAK M Gingival hyperplasia in rats induced by oxodipine a calcium channel blocker *J Periodontol Res* 1990; 25: 65 - 68.

O'VALLE F, MESA FL, GOMES - MORALES M, AGUILAR D, CARACUEL MD, MEDINA - CANO MT, ANDÚJAR M, LÓPEZ - HIDALGO J, GARCIA DEL MORAL, R Immunohistochemical study of 30 cases of cyclosporin A induced gingival overgrowth *J Periodontol* 1993; 65: 724 - 730.

OTA B, BRADLEY M Side effects of cyclosporine in 100 renal allograft recipients *Transpl Proc* 1983; 15: 3150 - 3156.

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

PALESTINE AG, NUSSEMBLATT RB, CHAN C Side effects of systemic cyclosporine in patients not undergoing transplantation *American Journal of medicine* 1984; 77: 652 - 656.

PANUSKA HJ, GORLIN RJ, BEARMEAN JE, MITCHELL DF The effects of anticonvulsivant drugs upon the gingiva: a series of analyses of 1048 patients *J Periodontol* 1961; 32: 15 - 28.

PARODI A, REBORA A Topical cyclosporine in alopecia areata *Archives of Dermatology* 1987;123: 165-166.

PENN I Cancers following cyclosporine therapy *Transplantation Proceedings* 1987; 19: 2211-2213.

PENN I Kaposi's sarcoma in immunosuppressed patients *Journal of Clinical & Laboratory Immunology* 1983; 12: 1 -10.

PERNU HE, PERNU LMH, HUTTUNEN KRH, NIEMINEN PA, KNUUTTILA MLE Gingival overgrowth among renal transplant recipients related to immunosuppressive medication and possible local background factors *J Periodontol* 1992; 63: 548 - 553.

- PETCHER TJ, WEBER HP, RUEGGER A Crystal and molecular structure of an iodo - derivate of the cycle undecapeptide cyclosporin A *Helv Chim Act* 1976; 59: 1480.
- PINCUS JH, GROVE J, MARINO B, GLASER G Studies on the mechanism of action of diphenylhydantoin. *Arch Neurol* 1970; 22: 566.
- PISANTY S, RAHAMIN E, BEN - EZRA D Prolonged systemic administration of cyclosporin A effects gingival epithelium *J Periodontol* 1990; 61(2): 138 - 141.
- PISANTY S, SHOSHAN S, CHAJEK T The effect of cyclosporin A (CSA) treatment on gingival tissue of patients with Behçet's disease *J Periodontol* 1988; 59 (9): 599 -603.
- POPPEL TD, COLLINS JF Phenytoin induced gingival hyperplasia of edentulous apsced. A case report. *Spec Care Dentist* 1987; 7: 106 - 107.
- QUERIDO NBG, TELLES JCB, CARVALHO LE ARAUJO WC Doença periodontal em hamster alimentados com dieta natural m70 *Rev Bras de Pesq med biol* 1971; 4: 5-11.

QUNIBI WY, AKHTAR M, GINN E, SMITH P Kaposi's Sarcoma in cyclosporine - induced gingival hyperplasia *American Journal of Kidney Diseases* 1988; 11: 349-352.

RAMON Y, BEHAR S, KISHON Y, EGELBERT IS Gingival hyperplasia caused by nifedipine: a preliminary report. *Int J Cardiol* 1984 ; 5 : 195 - 204.

RATEITSCHACK - PLUSS EM, GUGGENHEIM B Effects of a carbohydrate free and sugar substitutes on dental plaque accumulation *J Clin Periodontol* 1982; 9(3): 239 - 251.

RATEITSCHAK - PLUS E M, HEFTI A, LORTSCHER R, THIEL G Initial observation that cyclosporin A induces gingival enlargement in man *Journal of Clinical Periodontology* 1983; 10: 237-246.

REBUCK AS, STILLER CR, BRAUDE AC, LAUPACIS A, COHEN RD, CHAPMAN KR Cyclosporin for pulmonary sarcoidosis. *Lancet* 1984; 1: 1174.

REITZ BA, BIEBER CP, RANEY AA, PENNOCK JL, JANIELSON SW, OYER PE, STINSON EB Orthopie heart and combined heart and lung transplantation with cyclosporin A immunossuppression *Transpl Proc* 1981; 13: 393 - 396.

RIED M, GIBBONS DK, VAN BOREN CT, FLECHNER S, KAHAN BP
Cyclosporine levels in human tissue of patients treated for week to
one year *Transplantation Proceedings* 1983; 15: 2434 - 2437.

ROEBUCK S, HASSELL TM, PAGE RG, WRAY S - Incipient phenytoin -
induced gingival enlargement is a hypercellular lesion. *International
Association Dental Research*; 1982, 60 th Session. Abstract number
503.

ROSS PJ, NAZIF MM, ZULLOT, SITELLI B, GUEVARA P Effects of
cyclosporin A on gingival status following liver transplantation. *Journal
of Dentistry for Children* 1989; (Jan - Feb): 56 - 59.

ROSTOCK M H, FRY H R, TURNER J E Severe gingival overgrowth
associated with cyclosporine therapy *Journal of Periodontology* 1986;
57: 294-299.

RYFFEL B Pharmacology of cyclosporine cellular activation: regulation of
intracellular events by cyclosporine *Pharmacol Rev* 1989; 41: 407 -
422.

RYFFEL B The carcinogenicity of cyclosporin *Toxicology* 1992; 73: 1 - 22.

RYFFEL B, DONATSCH P, MANDORIN M Toxicological evaluation of cyclosporin - A *Archives of Toxicology* 1983; 53: 107-141.

RYFFEL B, MIHATSCH MJ Cyclosporine nephrotoxicity *Toxicol Pathol* 1986; 14: 73

RYFFEL, B. - Experimental toxicological studies with cyclosporin A. In: Cyclosporin A. ed. D.J.G. White, pp. 45-71. Elsevier, Amsterdam, 1982.

SANGHVI A, DIVEN W, SELTMAN H, STARZL T, Abbot's fluorescent polarization immunoassay for cyclosporine and metabolites compared with the sandoz "Sandimmune" RIA. *Clin Chem* 1988; 34: 1904 - 1906.

SAVAGE NW, SEYMOUR G J & ROBINSON M.F Cyclosporin induced gingival enlargement. A case report *Journal of Periodontology* 1987; 58: 475-480.

SCHROEDER HE & MUNZEL - PEDRAZZOLE S Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue *J Microsc* 1973; 99: 301 - 329.

SCHULMAN H, STRIKER G, DEEG HJ, KENNEDY M, STORB R
Nephrotoxicity of cyclosporine A after allogeneic marrow
transplantation *N Engl J Med* 1981; 305: 1392 - 1395.

SEIBEL W, YAHIA NA, MCCLEARY LB, LESKO LJ, HASSEL TM
Cyclosporine induced gingival overgrowth in beagle dogs. *Journal of
oral Pathology and medicine* 1989; 18: 240 - 245.

SEYMOUR R A & SMITH D G The effect of a plaque control programme
on the incidence and severity of cyclosporin induced gingival
changes *Journal of clinical Periodontology* 1987; 17.

SEYMOUR R A, SMITH D G, ROGERS SR - The comparative effects of
azathioprine and cyclosporin on some gingival health parameters of
renal transplant patients *J clin Periodontol* 1987; 14: 610 - 613.

SEYMOUR RA Drug induced gingival overgrowth. *Adverse Drug React.
Toxicol. Rev.* 1993; 12 (4) : 215 - 232.

SEYMOUR RA, ELLIS JS, THOMASON JM, MONKMAN S, IDLE JR -
Amlodipine - induced gingival overgrowth *J Clin Periodontol* 1994; 21:
281 - 283.

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

SHULS BS, MICHEL S, WAGNER S Increased expression of epidermal interleukin 8 receptor in psoriasis *J. Immunol* 1993; 151: 4399.

SOMACARRERA ML, HERNANDEZ G, ACERO J, MOSKOW BS Localization of gingival overgrowth in heart transplant patients undergoing cyclosporin therapy *J Periodontol* 1994; 65: 666 - 670.

SOORIYAMOORTHY M, GOWER DB, ELEY BM Androgen metabolism in gingival hyperplasia induced by nifedipine and cyclosporine *J Periodontol Res* 1990; 25: 25 - 30.

SPOLIDORIO, L.C. - Efeito da ciclosporina sobre o processo de reparo em tecido cutâneo de rato. Piracicaba, S.P., 1991 (Tese de Mestrado). Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

STAPLE PH, REED MJ, MASHIMO PA, SEDRANSK N, UMEMOTO T Diphenylhydantoin gingival hyperplasia in macaca arctóide: prevention by inhibition of dental plaque deposition *Journal of Periodontology* 1978; 49: 310 - 325.

STARZL TE, IWATSUKI S, VAN THIL DH, GARTNER JC, ZITELLI BJ,
MALATAK JJ, SCHDE RR, SHAW BW, HAKALA TR, ROSENTHAL
JT Report of Colorado - Pitst sburg liver transplantation studies
Transpl. Proc. 1983; 15: 2581 - 2585.

STARZL TE, WEIL R, IWATSUK S, KLINTMANN G, SCHROTER G P,
KOEP LJ, IWAKI Y, TERASAKI P I, PORTER KA The use of
cyclosporin A and prednisone in cadaver kidney transplantation
Surgery Gynecology & Obstetrics 1980; 151: 17-26.

STEINMULLER, G Cyclosporin and organ transplantation *Cleve Clin Q*
1985; 52: 263 - 270.

STILLER CR, LAUPACIS A, DUPRE J, JENNER M R, KEOWN P A,
RODGER W, WOLFE B M J Cyclosporine for treatment of early
type I diabetes: preliminary results *New England Journal of Medicine*
1983; 308: 1226-1227.

STILLER CR, LAUPACIS A, DUPRE J, JENNER MR, KEOWN PA,
RODGER W, WOLFE BMJ Cyclosporine for treatment of early type I
diabetes: preliminary results *New England Journal of Medicine* 1990;
308: 1226 - 1227.

SUNRAN NB, DELANEY V, DING E, DAVIS R, DASKALAKIS O, FREEDMAN EA, KAALED MB, HONG TH Diabetes meelitus after renal transplantation in the cyclosporine. An analyses of risk factors. *Transplantation* 1991; 51: 343 - 347.

SUTHERLAND D E R, STRAD M, FRYD DS - Comparison of azathioprine - antylynphocyte globulin versus cyclosporine in renal transplantation *Am J Kid Dis* 1984; 3: 456 - 461.

SUTHERLAND DER, CHINN PL, GOETZ FC, ELICK BA, NAJARIAN JJ Experience with cyclosporine versus azathioprine for pancreas transplantation *Transpl Proc* 1983; 15: 1606 - 2612.

SYRJANEN SM, SYRJANEN KJ Hyperplastic gingivitis in a child receiving sodium volproat treatment. *Proc Finn Dent Soc* 1979; 75: 95 - 98.

TEN CATE AR Physiologival resorption of connective tissue associated with tooth eruption. An electron microscopic study *J Periodontol Res* 1971; 6: 168 - 181.

The Canadian Multicentre Transplant Study Group. A randomizrd clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. *New England Journal of Medicine* 1983; 309: 809 - 815.

- THIVOLET J, BARTHELEMY H, RIGOT - MULLER G, BENDELAC A
Effects of cyclosporin on bullous pemphigoid and pemphigus *Lancet*
1993; 1: 334 - 335.
- THOMASON JM, SEYMOUR RA, MAY C The prevalence and severith of
cyclosporin and nifedipine induced gingival overgrowth *J Clin*
Periodont 1993; 20: 37 - 40
- THOMMEN SK Antimalarial activity of cyclosporin A *Agents & Actions*
1981; 11: 770-773.
- TIPTON D A, STRICKLIN G P, DABBOUS M K Fibroblast heterogeneity
in collagenolytic response to cyclosporine *Journal of cellular*
Biochemistry 1991;46: 152-165.
- TIPTON D A, DABBOUS N K - Heterogeneity of gingival fibroblast response
to cyclosporine *J Dent Res* 1986; 65: 331.
- TOCCI MJ, MATCOVICH DA, COLLIER KA, KWOK P, DUMON TF, LINS S,
DEGUDICIBUS S The immunosuppressant FK 506 selectively inhibits
expression of early T cell activation genes *J Immunol* 1989; 143 (2):
718 - 726.

TOWPIK E, KUPIEC-WEGLINSKI JW, TILNEY N L The potential use of cyclosporine in reconstructive surgery *Reconstrutive Surgery* 1985; 76: 312-18.

TRABER R, KUHN M, LOOSLI HR, PACHE W, VON WARTBURG A New cycloseptide ans trechroderme polysporum (Link ox Pers) Rifar : Die cyclosporine B *Helv Chim Acta* 1977; 60: 1568.

TRABER R, LOOSLI HR, HOFMANN H, KUHN M, VON WARTBURG A Isolierung und struktur er mittlung der neuer cyclosporine E, F, G, H und J *Helv Chem Acta* 1982; 65: 1655.

TRESHAN TT, WHETWORTH JA, SCOGGINS BA, BENETT WN Cyclosporine - induced hypertension in sheep *Transplantation* 1990; 49: 144 -148.

TYLDESLEY WR, ROTTER E Gingival hyperplasia induced by cyclosporin A *British Dental Journal* 1984; 157: 305-309.

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

VADAS M A, MILLER J G, WHITELAW A A radioisotopic method to measure delayed type hypersensitivity in the mouse. I. Studies in

sensitized and normal mice. *Int. Arch Allergy Appl Immunol* 1975; 49: 670-92.

VAN DER WALL EE, TUINZING DB, HES J Gingival hyperplasia induced by nifedipine, an arterial vasodilating drug *Oral surgery Oral Med Oral Pathol* 1985; 60: 38 - 40.

VANRENTERGHEM Y, ROELS L, LERUT T Thromboembolic complications and hemostatic changes in cyclosporin treated cadaveric kidney allograft recipients *Lancet* 1985; 1: 999 - 1002.

VATHSALA A, VERAN R, SCHOENBERG L, LEWIS RM, VAN BUREN CT, KERMAN RH, AKAHAN BD Proteinuria in cyclosporine - treated renal transplant recipients *Transplantation* 1990; 49: 35 - 41.

VELTHIUS PJ, JESSERUM RFM Improvement of ichthyosis by cyclosporin *Lancet* 1985; 1: 335.

WANER T, NYSKA A, NYSKA M Gingival hyperplasia induced by oxodipine, a calcium channel blocking agent. *Toxicol Pathol* 1988; 16: 327 - 332.

WASSEF R, COHEN Z, LANGER B Pharmacokinetic profiles of cyclosporine in rats. Influence of route of administration and dosage *Transplantation* 1985; 40(5): 489-93.

WEIBEL ER Morphometry of the human lung. *New York Academy Press*, 1963.

WEIBEL ER Stereological methods *New York Academy Press*, 1979.

WEIBEL ER, ELIAS H Quantitative methods in morphology *Springer*, Berlin, 1967.

WIESENGER D, BOREL JF Studies on the mechanism of action of cyclosporin-A. *Immunobiology* 1983; 156: 274 - 278.

WILLERSHAUSEN - ZÖNNCHEN B, LEMMEN C, SCHUMACHER U Influence of cyclosporine A on growth and extracellular matrix synthesis of human fibroblasts *J Cell Physiol* 1992; 152: 397 - 402.

WILLIAMSON MS, MILLER EK, PLEMONS J, REES T, IACOPINO AM Cyclosporine A upregulates interleukin - 6 gene expression in human gingiva. Possible mechanism for gingival overgrowth *J Periodont* 1994; 65: 895 - 902.

WILSON JT, HANSER DE, RYFFEL B Osteomas in OF -1 mice: No alteration in brologe behaviour during long - term treatment with cyclosporin *J Nath Cancer Instit* 1986; 75: 897.

WISOCKI G P, GRETZINGER HA, LAUPACIS A Fibrous hiperplasia of the gingiva: a side effect of ciclosporin a therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983;

WYSOCKI G, DALEY T P Hypertrichosis in patients receiving cyclosporine terapy *Clin Exp Dermatol* 1987; 12: 191-196.

WYSOCKI GP, DALEY T P Cyclosporine Therapy. It significance to the periodontist *J Periodont* 1984; 55: 708-712.

WYSOCKI GP, GRETZINGER H A, LAUPACIS A, ULAN R A, STILLER G R Fibrous hyperplasia of the gingiva: a side effect of cyclosporin A therapy *Oral Surg Oral Med & Oral Path* 1983; 55: 274-278.

YAMADA S, SATO T, MIAKE K Experimental pathological studies on gingival hyperplasia in rat. Macroscopical and microscopical observations *The Bulletin of Tokio Dental College* 1977; 18: 181 - 193.

YAMALIK N, DELILBASE L, GÜLAY H, CAGLAYAN F, HABERAL M, CAGLAYAN G The histological investigation of gingiva from patients

with chronic renal failure, renal transplants, and periodontitis: a light and electron microscopic study. *J Periodontol* 1991; 62: 737 -744.

YAMASAKI A, ROSE G G, PINERO G J, MAHAN C J Ultrastructure of fibroblasts in cyclosporin A - induced gingival hyperplasia *Journal of oral Pathology* 1987; 16: 129-134.

ZABEL P, LEIMENSTOLE G, CROSS WL, Cyclosporin for acute dermatomyositis *Lancet* 1984; 1: 343.

ZEBROWSKI EJ, SINGER D L, BRUNKA J R Cyclosporin-A, nifedipine and phenytoin: comparative effects on gingival fibroblast metabolism. *Journal of Dental Research* 1986; 65,331 (Abst. 1456).