

C.D. WALTER ROCHA

EFEITO DE UM MODULADOR DA RESPOSTA IMUNE (LEVAMISOLE)
NA EVOLUÇÃO DA INFLAMAÇÃO GENGIVAL

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

P I R A C I C A B A

1 9 7 9

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

... à esposa Lila e às filhas Patricia e
Giovanna, pelo amor, compreensão, in
centivo e carinho, que ao longo des
tes anos puderam tornar esta caminha
da calma e feliz,

... ofereço este trabalho.

... aos meus pais, pessoas simples e honestas, pelos ensinamentos dos bons princípios, pela manutenção de um lar humilde e cristão, em reconhecimento pelo muito que me fizeram;

... aos meus irmãos, pela compreensão a mim dedicada;

... à Mariana, Levy e Liney, por terem sempre me incentivado;

... ao Dr. Oswaldo Moura e D^a Rosa Benedetti pelo apoio moral e incentivo,

... dedico-lhes este trabalho.

... ao Prof. Doutor *Lourenço Bozzo*, exemplo de amor à pesquisa, meu mestre, orientador e amigo, a quem devo estes ensinamentos, pela sua valiosa assistência, dedicação, segurança e estímulo,

... o meu respeito e gratidão.

... ao Prof. Doutor Antonio Carlos Neder, DD. Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba e Coordenador do Curso de Pós-Graduação ao Nível de Mestrado, em Farmacologia Aplicada à Clínica Odontológica, pela oportunidade oferecida, possibilitando-me uma ampliação de conhecimentos e uma base segura na minha vida universitária,

... as minhas homenagens.

AGRADECIMENTOS

- ... à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, pelo Curso de Pós-Graduação;
- ... à Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pela indicação do meu nome para a realização do Curso de Pós-Graduação;
- ... ao Diretor da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, Prof. Hélio de Souza, pelo estímulo dedicado à minha pessoa;
- ... aos Professores Benedito Ferreira da Silva e Amauri Gabriel da Silva, pelo apoio científico no início de minha carreira no magistério e incentivo durante a Pós-Graduação;
- ... aos colegas professores e funcionários do Departamento de Morfologia e Fisiologia da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, pela amizade e convivência;
- ... aos professores de Farmacologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Thales Rocha de Mattos Filho, Samir Tufic Arbex, José Ranali, Amado Leonísio de Azevedo e Maria de Lourdes Garboggini da Gama, pela orientação segura e esclarecedora no decorrer do curso.
- ... aos colegas do Curso de Pós-Graduação: Ondina de Souza Terra, Rosimar de Castro Barreto, Eduardo Dias de Andrade e Sebastião de Souza Filho, pela amizade e solidariedade;
- ... ao Prof. Dr. Murilo Marçal Vieira e sua equipe de espe

- cialização em Periodontia, pelo atendimento criterioso e solícito aos guardas-mirins;
- ... à Prof^a Dr^a Sônia Vieira, pela orientação e correção dos estudos estatísticos;
 - ... aos colegas Selmo de Ávila Lima, Cleuton Landre e Mauro Braga, pela colaboração durante a fase experimental deste trabalho;
 - ... à odontolanda Eleuza Pereira da Rocha, pela colaboração eficiente no atendimento aos guardas-mirins;
 - ... ao Sr. Antonio Kerches de Campos, Técnico de Laboratório da Disciplina de Patologia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelos excelentes trabalhos histopatológicos;
 - ... à Sr^a Ivany do Carmo Guidolin Gerola, Bibliotecária da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela revisão da listagem bibliográfica;
 - ... ao Prof. Ulysses de Oliveira Martins, pelos excelentes serviços datilográficos;
 - ... à Sr^a Sônia Maria Aparecida Simionato Victória Favero, pela organização e montagem dos processos;
 - ... à Guarda-Mirim de Piracicaba, nas pessoas do Comandante Frederico Ciappina Neto, Dr^a Iliana Athié Lima, Sônia Margarida Costa Leite Ribeiro e queridos guardas-mirins, pela atenção, amizade e liberdade que me distinguiram;
 - ... ao Centro de Patologia Clínica Preventiva (PREVLAB) nas

peçoas do Dr. Alcione Moya Aprilante e Dr. Celso de A. Mendonça, pelos exames de sangue efetuados;

- ... ao Sr. Mário Herling de Oliveira pela confecção dos Gráficos;
- ... ao Sr. Sebastião Rodrigues de Barros, pelos serviços de impressão e encadernação;
- ... a todos os funcionários e professores da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela maneira hospitaleira e amigável com que me receberam, integrando-me perfeitamente na filosofia de trabalho desta casa.

*

* *

INDICE

I - INTRODUÇÃO	Pag. 01
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	Pag. 03
III - PROPOSIÇÃO	Pag. 14
IV - MATERIAL E MÉTODOS	Pag. 17
V - RESULTADOS	Pag. 25
VI - DISCUSSÃO	Pag. 62
VII - CONCLUSÃO	Pag. 67
VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Pag. 69

*

*

*

I - INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

A participação dos vários tipos de reações imunológicas na patogênese da doença periodontal, tem sido o objetivo de um grande número de trabalhos de pesquisa. Recentes publicações têm mostrado resultados e discussões, que procuram estabelecer, de maneira mais concreta, as implicações dessas respostas imunológicas no desenvolvimento dessas periodontopatias (BAHN, A.N., 1970; BARAM, P. & ARNOLD, L., 1970; COHEN, S. & WINKLER, S., 1974; GENCO, R.J. & cols., 1974; HORTON & cols., 1973; NISENGARD, R., 1974; PLATT, D. & cols., 1970; IVANYI, L. & LEHNER, T., 1977; BUDTZ-JØRGENSEN, E. & cols., 1978).

As doenças periodontais inflamatórias, tanto aquelas limitadas à gengiva (gengivites) como aquelas que afetam o periodonto de sustentação (periodontites) e que estão relacionadas com o acúmulo de placa, apresentam inicialmente um quadro típico de inflamação aguda, evoluindo naturalmente, num período de tempo variável, para uma lesão em que há um aumento no número de células mononucleares, principalmente linfócitos (PAYNE, W.A. & cols., 1975).

Na sequência dessa evolução, instala-se então uma lesão caracterizada pela predominância de plasmócitos com ausência de significante perda óssea, podendo permanecer estável por um longo período de tempo, ou, converter-se em uma lesão destrutiva progressiva. Os fatores implicados nesta conversão, ainda permanecessem discutíveis (PAGE, R. C. & SCHROEDER, H.E., 1976), embora todos os indícios sejam sugestivos de que reações imunes participem do processo.

II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A - Implicações de Fatores Humorais

O tecido gengival, tanto normal quanto inflamado encontra-se banhado de imunoglobulinas originárias dos plasmócitos locais e derivados do plasma sanguíneo (BERGLUND, S.E., 1971; SCHLUGER, S. & cols., 1977).

A constatação de anticorpos circulantes para microrganismos orais, assim como de depósitos de imunoglobulina e de componentes do complemento na gengiva humana, sugerem que o complexo antígeno-anticorpo desempenha um papel importante na patogênese da doença periodontal inflamatória (SCHLUGER, S. & cols., 1977; GENCO, R.J. & cols., 1974).

Os antígenos envolvidos nestas reações são presumivelmente derivados da placa bacteriana, entretanto não há evidência disto. É bem possível que alguns destes antígenos sejam de origem bacteriana e outros sejam antígenos decorrentes da degradação dos próprios tecidos periodontais (GENCO, R.J. & cols., 1974).

A identificação de plasmócitos populando a gengiva tem sido estabelecida e a natureza das imunoglobulinas parcialmente elucidadas. Os plasmócitos sintetizando Ig G, constituem sem dúvida, a maioria da população, havendo contudo poucas células produtoras de Ig M e Ig A. Em algumas secções de gengiva humana inflamada, células produtoras de Ig E podem ser ocasionalmente encontradas (SCHLUGER, S. & cols., 1977; GENCO, R.J. & cols., 1974).

A presença de plasmócitos na gengiva normal indica que anticorpos específicos podem estar frequentemente presentes no tecido em resposta à constante presença bacteriana, mantendo assim uma defesa permanente no indivíduo sadio (SCHNEIDER, T.F. & cols., 1967).

A especificidade destas imunoglobulinas sintetizadas pelos plasmócitos presentes na gengiva inflamada e normal, não está ainda esclarecida, embora uma porção dela seja para antígenos específicos de microorganismos da placa (GENCO, R.J. & cols., 1974; PLATT, D. & cols., 1970; SCHNEIDER, T.F. & cols., 1967).

É pouco provável que os mecanismos do hospedeiro sejam inativos em um tecido sofrendo injúrias contínuas e maciças por antígenos bacterianos, como é o caso da gengiva. É portanto, muito mais provável que muitos dos antígenos bacterianos, que persistem no sulco gengival e ao longo do dente sejam inativados por imunoglobulinas específicas (PLATT, D. & cols., 1970).

SCHNEIDER & cols., (1967) demonstraram que secções de gengiva inflamada têm capacidade para se ligar especificamente à microorganismos orais, demonstrando desta forma a presença de anticorpos com capacidade específica para estes microorganismos.

BERGLUND (1971) demonstrou que a imunoglobulina obtida de gengiva inflamada pode formar complexos-ímmunes com antígenos de microorganismos da placa, evidenciando que os complexos-ímmunes na gengiva podem ser fatores importantes na mediação da doença periodontal inflamatória, desde que tais complexos podem promover uma ativação do sistema complemento.

Também têm sido evidenciadas quantidades significantes de anticorpos circulantes para microorganismos orais (MERGENHAGEN, S.E. & cols., 1965; NISENGARD, R.J. & cols., 1968; STEINBERG, A.I., 1970; STEINBERG, A.I. & GERSHOFF, S., 1968).

Apesar de todas estas observações e informações pouco se conhece com relação à especificidade das imunoglobulinas produzidas pelos plasmócitos na gengiva, no decorrer da doença periodontal (SCHLUGER, S. & cols., 1977).

Sabe-se que, apenas uma pequena porção das imunoglobulinas produzidas pelos plasmócitos é específica para

microorganismos orais (GENKO, R.J. & cols., 1974; PLATT, D. & cols., 1970; SCHNEIDER, T.F. & cols., 1967), sendo que o maior volume desse material tem uma especificidade que não pode ainda ser determinada.

Tem sido sugerido que a quantidade de anticorpos produzidos está diretamente relacionada com o número de antígenos aplicados. Assim sendo, se houver um número de 8 (oito) constituintes antigênicos na placa, apenas uns 5% dos plasmócitos do tecido gengival estariam em atividade para produzir anticorpos específicos para estes antígenos, o que levaria a supor que a grande quantidade de Ig na gengiva seria não reativa ou não específica para os antígenos da placa, ou seriam anticorpos em resposta a antígenos irrelevantes ou sem sentido, ou até mesmo, anticorpos contra antígenos resultantes da destruição periodontal (SCHLUGER, S. & cols., 1977; GENCO, R.J. & cols., 1974).

RANNY & ZANDER (1970) demonstraram claramente que existe uma participação humoral do sistema imune na evolução da doença periodontal, sensibilizando macacos (saguís) com injeções subcutâneas de albumina de ovo emulsificada com adjuvante de FREUND completo. Após verificar que os animais tinham respondido com a produção de anticorpos, estes foram estimulados, em diversas sequências de tempo, pela colocação de um fio de linha embebido em albumina de ovo, dentro do sulco gengival. Uma lesão aguda destrutiva foi produzida no periodonto desses animais sensibilizados pela colocação deste fio embebido em antígeno. Quando os procedimentos de estimulação foram repetidos 3 (três) vezes por semana, durante 3 (três) meses, muitos dos achados característicos da doença periodontal foram produzidos. Estes achados incluíram: inflamação crônica com dilatação vascular e presença, no tecido conjuntivo, de um infiltrado de linfócitos e plasmócitos, proliferação do epitélio sulcular para dentro do tecido conjuntivo subjacente e microulceração da bolsa periodontal.

Os trabalhos realizados em humanos também parecem

suportar a idéia de que os fatores humorais tenham uma participação importante na evolução da doença periodontal. NISENGARD & cols. (1968), mostraram que um extrato de *actinomyces viscosus* produzia uma hipersensibilidade imediata em uma grande porcentagem de humanos com periodontite. Nos pacientes com gengivite ou periodonto normal, a produção de hipersensibilidade imediata foi bem menor.

Para que ocorra uma reação de hipersensibilidade imediata à antígenos bacterianos orais, na doença periodontal, imunoglobulinas tipo Ig E deveriam estar localizadas no tecido gengival (NISENGARD, R., 1974; NISENGARD, R. J. & cols., 1971). A quantidade de Ig E parece também estar relacionada com a severidade da inflamação, isto é, na gengiva severamente inflamada a presença de Ig E deveria ser maior (NISENGARD, R.J. & cols., 1971).

Além disso, STEINBERG (1970), através de um método de hemoaglutinação, observou que anticorpos séricos são mais encontrados em indivíduos com doença periodontal para certos antígenos, que em pacientes controles, normais.

Se os anticorpos participam nas alterações teciduais patológicas que acompanham a inflamação crônica, eles deveriam ou poderiam fazê-lo através da formação de complexos imunes e das reações imunopatológicas do tipo I (reação anafilática) ou tipo III (reações do complexo imune). Embora existam várias maneiras pelas quais os complexos imunes possam ser patogênicos, sérias dúvidas ainda permanecem, como por exemplo, se eles atualmente desempenhariam um papel importante nas gengivites e periodontites humanas (SCHLUGER, S. & cols., 1977).

BERGLUND (1971), demonstrou que os complexos imunes podem ser formados pela reação de imunoglobulinas gengivais com antígenos de microorganismos da placa bacteriana.

Existem evidências que suportam o conceito de que complexos imunes são formados na gengiva durante a doença

periodontal. Estes complexos podem fixar o complemento, resultando num aumento da permeabilidade vascular e no estabelecimento de uma resposta inflamatória aguda. Estes são eventos observados no início da doença periodontal e que podem exercer efeitos protetores. Mais tarde, estes complexos podem ser fagocitados por leucócitos, levando a uma liberação dos enzimas lisossômicos dessas células, com uma destruição tecidual adicional. Além disso, também é importante esclarecer que o complexo antígeno-anticorpo, bem como os anticorpos livres exercem profundos efeitos sobre as células T ou nas reações imunes mediadas por células (GENCO, R.J. & cols., 1974).

Prova definitiva da presença desses complexos requerem detecção e identificação dos antígenos, e isto nem sempre tem sido possível, e em sendo assim, a possível significância dos complexos imunes na doença periodontal até o presente momento permanece discutível (SCHLUGER, S. & cols., 1977).

A predominância de plasmócitos na doença periodontal, combinada com as dificuldades de se demonstrar um papel maior dos complexos imunes na sua patogênese, tem levado a uma reavaliação dos mecanismos, através dos quais, linfócitos B e plasmócitos podem participar no dano tecidual. Existem evidências recentes de que linfócitos T e B estimulados, produzem e liberam linfocinas, as quais se presume, contribuem à patogênese da doença periodontal (MACKLER, B. F. & cols., 1974, a e b).

B - Implicações da Hipersensibilidade Mediada por Células

Depois de trabalhos de (IVANYI, L. & LEHNER, T., 1970, 1971; IVANYI, L. & cols., 1972), a hipersensibilidade mediada por células (Reação tipo IV), que até então, apresentava uma pouca evidência direta na patogênese da do

ença periodontal associada à placa, passou a receber uma melhor atenção no sentido de se esclarecer a sua real participação nesta lesão. Estes pesquisadores, através de culturas de sangue periférico de pacientes com periodonto normal, com gengivite e com periodontite, foram capazes de mostrar que os leucócitos, quando mantidos "in vitro" e na presença de vários antígenos de placa, podem sofrer transformações blásticas, e que a extensão desta resposta está relacionada com o estado periodontal. *Odontomyces viscosus*, *Veillonella alcalescens*, *Bacteroides melaninogenicus* e *Fusobacterium fusiforme* induzem uma estimulação específica em linfócitos de pacientes com gengivite e com periodontite moderada ou severa. Pacientes com periodontite moderadamente severa respondem com uma intensidade bem maior do que indivíduos com gengivite. Entretanto, a transformação linfocítica, em pacientes com severa periodontite, foi deprimida quando comparada com a periodontite suave ou moderada. A resposta dos pacientes com severa periodontite foi comparável com a resposta encontrada em pacientes do controle normal (IVANYI, L. & LEHNER, T., 1970, 1971).

Esta falta de resposta, entretanto, não resulta de uma ausência de células sensibilizadas, pois leucócitos desses indivíduos, quando mantidos em culturas com soro de indivíduos normais, ou com gengivite, ou periodontite moderadamente severa, respondem. Além disso, quando o soro de indivíduos com doença periodontal que não respondiam, era adicionado às culturas daquelas outras células que respondiam, a resposta era inibida. Isto mostra que, o soro de indivíduos com periodontite, contém fatores que bloqueiam a resposta de células linfóides (SCHLUGER, S. & cols., 1977).

O estágio avançado da doença periodontal revelou, uma associação entre a transformação linfocítica e citotoxicidade ou inibição de macrófagos (IVANYI, L. & cols., 1972).

Os trabalhos de (IVANYI, L. & LEHNER, T., 1970.1971; IVANYI, L. & cols., 1972), marcam um grande avanço nos nossos conhecimentos sobre lesão periodontal inflamatória.

Eles foram os primeiros a documentar uma distinta diferença do comportamento do sistema imune, em indivíduos com periodonto normal e inflamado.

Subsequentemente a estas observações HORTON & cols. (1974), confirmaram e estenderam estas observações, demonstrando que culturas de leucócitos de sangue periférico de indivíduos com doença periodontal, quando estimulados com depósitos de placa dental humana, ou fitohemaglutinina, produzem um fator solúvel, linfotóxica, a qual é citotóxica para fibroblastos "in vitro". O efeito citotóxico foi determinado pelo grau de inibição na incorporação de ¹⁴C marcado de L-leucina na cultura "in vitro" de gengiva humana ou fibroblasto de rato exposto à cultura semelhante. Assim sendo, a produção de linfotóxicas por leucócitos estimulados com antígenos presentes nos depósitos de placa dental, pode refletir um mecanismo de destruição tecidual por linfócitos sensibilizados, presentes nos tecidos de indivíduos com doença periodontal.

Trabalhos mais recentes, têm procurado, através de exames em indivíduos, nos quais se produziu uma gengivite experimental, avaliar e correlacionar o possível papel da hipersensibilidade mediada por células na doença periodontal (COHEN, S. & WINKLER, S., 1974; NISENGARD, R.J., 1977).

A sequência das mudanças nas respostas imunes mediadas por células, foram examinadas em 10 (dez) indivíduos jovens, sadios, que se abstiveram das medidas rotineiras de higiene oral por 28 dias. O acúmulo de placa sobre os dentes e a inflamação gengival foram correlacionadas com um crescimento na transformação linfocítica e reações de inibição na migração de macrófagos. Estes indivíduos exibiram uma resposta bifásica com 2 (dois) picos, no dia 14, e entre os dias 28 e 35, a vários microorganismos contendo endotoxinas gran-negativas: ao *Actinomyces viscosus*, e ao *Lactobacilo acidófilo*. Estas mesmas respostas foram também encontradas com derivados de proteína purificada. Ambas as respostas celulares foram de duração limitada e voltaram

aos valores normais por volta do 56º dia. Estes resultados sugerem que um foco de organismos comensais podem atuar como adjuvante, aumentando tanto as respostas imunes mediadas por células, como as não mediadas (LEHNER, T. & cols. 1974).

Os experimentos com pacientes periodontais têm sido usado para mostrar que a hipersensibilidade mediada por célula desempenha um importante papel na patogênese da doença gengival e periodontal inflamatória. Todavia, a este tempo, este conceito era inconsistente com observações de outras fontes. Por exemplo: exceto por um breve período de 1 a 2 semanas, a partir do começo do acúmulo de placa, a doença gengival e periodontal inflamatória em humanos não se assemelha a uma resposta de hipersensibilidade retardada. Há que se observar também, que, durante o curso da lesão, mesmo que dure décadas, há predominância de plasmócitos, e não de outras células mononucleares típicas das reações de hipersensibilidade retardada (PAGE, R.C. & SCHROEDER, H.E., 1976; SCHROEDER, H.E. & PAGE, R.C., 1972).

Trabalhos de MACKLER & cols., (1974, a e b) foram capazes de mostrar que linfócitos T e B respondem mitogenicamente e antigenicamente, e que estas células produzem linfocinas e desencadeiam reações de citotoxicidade.

Se nós aceitamos o conceito de que as linfocinas induzidas pela placa-estimulação de linfócitos imunes contribuem para a patogênese da doença periodontal, então, ambas as células T e B podem presumivelmente contribuir para a inflamação gengival, destruição tecidual e reabsorção óssea via produção de linfocinas (MACKLER, B.F. & cols. 1974b).

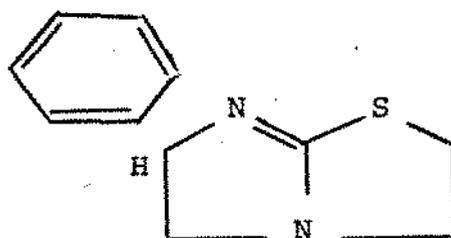
Através da revisão da literatura fica claro que a inflamação gengival e reações imunológicas, celular ou humoral, são fenômenos praticamente inseparáveis, e que a utilização de substâncias moduladoras desses fenômenos, poderia ser uma opção no tratamento ou prevenção das lesões periodontais de natureza inflamatória. Entre estas substâncias moduladoras ou estimuladoras do sistema imune está o

LEVAMISOLE*

C - Química, Farmacologia e Metabolismo do Levamisole

O Levamisole é um agente químico simples, introduzido inicialmente como anti-helmíntico de largo espectro, capaz de restaurar respostas imunes prejudicadas, preferencialmente do tipo mediado por célula (SYMOENS, J. & ROSENTHAL, M., 1977; TRIPODI, D. & cols., 1973; VERHAEGEN, H. & cols., 1973; THIENPONT, D. & cols., 1966; WILLOUGHBY, D.A. & WOOD, C., 1977; BRUGMANS, J. & cols., 1973).

O cloridrato de Levamisole é hidrosolúvel, de peso molecular 240,75, estável em meio aquoso ácido, e sua fórmula estrutural está representada na Figura 1 (SYMOENS, J. & ROSENTHAL, M., 1977).



(S)-(-)-2,3,5,6 - Tetrahidro -6- fenil-
-imidazol - 2,1 - b Cloridrato de tiazol

FIGURA 1 - Fórmula estrutural do LEVAMISOLE

Desde que RENOUX & RENOUX, 1971, observaram as propriedades imunoterapêuticas do Levamisole, mais de 400 trabalhos, clínicos e experimentais, foram realizados, procu

LEVAMISOLE* (Produzido pela JANSSEN PHARMACEUTICA - DIVISÃO da JOHNSON & JOHNSON)

rando estabelecer os mecanismos básicos de ação dessa droga.

Uma revisão completa desses resultados, realizada em 1977 por SYMOENS, J. & ROSENTHAL, M., mostra que o Levamisole influencia as defesas do hospedeiro mediante a modulação das respostas imunes mediadas por células. Ele restaura as funções dos polimorfonucleares, dos macrófagos e das células T, tais como a fagocitose, migração ao acaso, quimiotaxia, inibição da migração, citotoxicidade mediada por células, produção de linfocina e de ácido nucleico. Seus efeitos são evidentes em células hipofuncionais de pacientes comprometidos, sendo que raramente afeta, de maneira significativa as pessoas, animais ou células normais. É provável que o Levamisole aumentando as funções imunes celulares (quimiotaxia, inibição da migração, fagocitose, citotoxicidade, atividade supressora - T, etc.); estimula fatores inflamatórios precoces, remove o antígeno persistente e controla a hiperatividade da célula - B.

Isto explicaria porque ocorreu algumas vezes exacerbações durante os primeiros 60 dias de tratamento e porque uma inflamação latente, tal como a gengivite, pode tornar-se aparente durante o tratamento com Levamisole (IVANVI, L. & LEHNER, T, 1977).

Em resumo, parece que esta droga é o primeiro membro de uma série de agentes simples, quimicamente definidos com atividades estimuladoras sobre o sistema imune, preferencialmente do tipo mediado por célula (SYMOENS, J. & ROSENTHAL, M., 1977).

III - PROPOSIÇÃO

PROPOSIÇÃO

A análise do estado atual da questão, mostra que, apesar de não se saber exatamente a extensão da implicação da resposta imune na patogênese das lesões periodontais, e la existe. Tanto a resposta imune do tipo humoral, como do tipo mediado por células, têm sido demonstradas no periodonto. É provável que a resposta do hospedeiro à antígenos bacterianos seja inicialmente protetora, resultando numa neutralização ou destruição dessas substâncias antigênicas, ou até mesmo prevenindo a difusão desses produtos bacterianos para dentro dos tecidos periodontais. Por outro lado, pode também ocorrer uma inevitável destruição tecidual, em consequência dessas reações imunológicas.

Portanto, qualquer medida preventiva ou curativa dessas alterações destrutivas do periodonto, deveria pressupor uma eliminação desses antígenos presentes na placa bacteriana, ou então, uma interceptação dos sistemas efetores das reações imunológicas (HORTON, J.E. & cols., 1974).

A remoção da placa e a perseverança de se manter através de uma higienização bem orientada, um índice de placa bem próximo de 0 (zero), tem mostrado resultados espetáculares em diferentes tipos de pacientes. Entretanto, a generalização de tais medidas a grupos populacionais maiores e sem controle mais rigoroso, não tem dado os mesmos resultados. E quando se pensa num problema de saúde tão geral como a doença periodontal num país das dimensões e condições atuais do Brasil, fica plenamente justificada qualquer tentativa de se interceptar ou de se interferir no desenvolvimento de reações imunológicas das estruturas periodontais, como meio de se evitar sua destruição. Fundamenta do nestes fatos, o presente trabalho procura investigar experimentalmente a possibilidade de se alterar a evolução da doença gengival inflamatória, através da ação de um agente modulador da resposta imune como o Levamisole, num gru

po de pacientes jovens, do sexo masculino, de idade variável de 11 a 15 anos.

IV - MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado em 2 (duas) etapas para que se pudesse observar os efeitos imediatos e mediatos dos tratamentos realizados.

1 - Primeira Etapa

1.1 - Amostragem

Para o desenvolvimento do experimento foram selecionados 48 (quarenta e oito) pacientes do sexo masculino, com idade entre 11 e 15 anos, portadores de gengivite crônica, clinicamente evidente. Estes pacientes, pertencentes à Guarda Mirim de Piracicaba, formavam uma amostra relativamente homogênea, com relação às condições periodontais, convivendo a maior parte do tempo nas mesmas condições ambientais, recebendo um mesmo tipo de alimentação, sendo todos de um nível social semelhante. Estes 48 pacientes foram aleatoriamente divididos em 4 (quatro) grupos experimentais (A, B, C e D), com 12 indivíduos em cada grupo. Foi entregue a todos eles, um mesmo tipo de escova dental, um mesmo tipo de dentifrício, recebendo todos a mesma orientação sobre os métodos de escovação e higienização bucal.

1.2 - Experimento

Os diferentes grupos experimentais receberam o seguinte tratamento:

GRUPO A - Foi feita uma raspagem dental com polimento coronário, e os pacientes tratados com Levamisole.

GRUPO B - Foi feita uma raspagem dental, com polimento coronário, e os pacientes tratados com Placebo.

GRUPO C - Foi feito somente tratamento com Levamisole.

GRUPO D - Controle - Tratados somente com Placebo.

Esquematizando melhor, o experimento poderia ser apresentado da seguinte forma:

Tratamento Grupo	RASPAGEM DENTAL	LEVAMISOLE	PLACEBO
A	X	X	
B	X		X
C		X	
D			X

1.3 - Medicação

Como medicamento foi usado o Stimamisol* (produzido pela JANSSEN PHARMACEUTICA - BRASIL - Divisão da Jhonson & Jhonson) na forma de comprimidos, contendo cada comprimido 50,0 mg de Levamisole. O esquema posológico seguiu

a orientação delineada em trabalhos clínicos anteriores, com dose diária na base de 2,5 mg/kg de peso corporal, dividida em 2 (duas) tomadas, após as refeições. Como o peso médio dos pacientes era de aproximadamente 40 kg, os indivíduos tratados com Levamisole tomavam, via oral, 2 (dois) comprimidos ao dia, 1 após cada refeição principal, nos seguintes dias: 1º, 2º, 8º, 9º, 29º, 30º, 36º e 37º.

Os grupos B e D tratados com placebo, seguiram exatamente o mesmo esquema preconizado para os grupos A e C.

1.4 - Avaliação

Para avaliar as variações da possível modulação da resposta imunológica, foram utilizados os seguintes critérios:

A) Índice Gengival (LOE, H. & SILNESS, J., 1963)

B) Índice de Placa (SILNESS, J. & LOE, H., 1964)

Estes índices foram tomados de todos os pacientes, com intervalos semanais, nos seguintes dias: 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42.

Em cada visita, nos dias acima especificados, os pacientes eram cuidadosamente examinados e, de acordo com as manifestações clínicas dos diferentes graus de inflamação, era estabelecido o Índice Gengival (IG). Da mesma forma, a higiene oral era medida através do Índice de Placa (IP), avaliando-se o aumento da quantidade de placa bacteriana sobre a superfície do dente e da margem gengival.

1.5 - Exame Hematológico

Nos pacientes dos grupos (A, B, C e D) foram efetuados exames hematológicos no 42º dia do experimento. Os pacientes foram encaminhados ao "Centro de Patologia Clínica Preventiva" - Prevlab -, onde foi feita coleta de sangue periférico, por punção venosa (veia cefálica) e, realizado uma contagem diferencial de glóbulos brancos. Foram escolhidos, ao acaso, 6 pacientes de cada grupo, num total de 24 (vinte e quatro).

2 - Segunda Etapa

2.1 - Amostragem

Na 2ª etapa do experimento, realizada 7 (sete) meses após o término da 1ª fase, foram selecionados 12 pacientes, sendo 3 de cada um dos grupos iniciais A, B, C e D. Estes 12 pacientes foram novamente divididos em 4 grupos: E, F, G e H.

2.2 - Experimento

GRUPO E: Pacientes que haviam tomado Levamisole na 1ª etapa e que tomaram novamente nesta 2ª fase.

GRUPO F: Pacientes que haviam tomado Levamisole na 1ª etapa e que tomaram Placebo na 2ª fase.

GRUPO G: Pacientes que não tomaram Levamisole na 1^a etapa e que tomaram nesta 2^a fase.

GRUPO H: Pacientes que não tomaram Levamisole em nenhuma fase do tratamento.

Esquemmatizando, a fim de facilitar o entendimento, esta 2^a fase poderia ser representada da seguinte forma:

TRATAMENTO GRUPO	1 ^a FASE	2 ^a FASE
E	Levamisole	Levamisole
F	Levamisole	Placebo
G	Placebo	Levamisole
H	Placebo	Placebo

2.3 - Tratamento Periodontal da Segunda Etapa

Em todos os pacientes dos 4 grupos, foram realizados, no dia 0 (zero), avaliações do Índice Gengival e do Índice de Placa. Em seguida, estes pacientes foram submetidos a uma rigorosa raspagem dentária e polimento coronário, por profissionais especializados. A todos os pacientes foi entregue um mesmo tipo de escova e de creme dental e uma reorientação quanto aos métodos de higienização bucal. Durante 14 dias estes pacientes foram controlados e motivados, quase que diariamente, a executarem uma perfeita escovação dental, a fim de se promover uma redução do índice gengival (IG) e do índice de placa (IP) aos níveis mais

baixos possíveis. Além da remoção mecânica com escovação, a placa dental foi controlada quimicamente com bochechos diários de Clorexidina (Digluconato de Chlorexidina a 0,2%).

2.4 - Esquema Posológico da Segunda Etapa

Após este tratamento periodontal cuidadoso por 14 dias, foi feita uma nova avaliação do I.G. e do I.P. e iniciado (ou reiniciada) a medicação com Levamisole. Aos pacientes dos Grupos E e G foi administrado Levamisole, via oral, 2 comprimidos ao dia, 1 após cada refeição principal, nos dias 14, 15, 21 e 22. Do dia 14 ao dia 28, todos os pacientes deixaram de escovar os dentes, não realizando qualquer procedimento de higienização bucal, a fim de que se pudesse avaliar possíveis interações do acúmulo de placa e da inflamação gengival, nos pacientes submetidos a este esquema experimental.

2.5 - Avaliação dos Resultados da Segunda Etapa

Nesta 2ª etapa do experimento foram colhidos, então, os seguintes índices, para análise posterior:

- a) Índice Gengival e Índice de Placa, no dia zero (IG₀; IP₀).
- b) Índice Gengival e Índice de Placa, no dia 14 (IG₁₄ ; IP₁₄).
- c) Índice Gengival e Índice de Placa, no dia 28 (IG₂₈ ; IP₂₈).

2.6 - Exame Histopatológico

No 28º dia desta etapa, foram também realizados biópsias gengivais, em todos os 12 pacientes, procurando-se sempre executar a biópsia no segmento bucal, antero-superior, entre o Incisivo Central Superior Direito e o Canino Superior Direito. As biópsias foram feitas sob anestesia local, procurando-se obter o máximo de uniformidade de área, de volume, e de extensão destas biópsias. Foram fixadas em Formol Salino a 10%, incluídas em parafina, seccionadas com 7 microns, coradas por H.E., Tricrômico de Gomori e Azul de Toluidina a 0,025%, pH 4,0.

Os aspectos histopatológicos foram examinados num Fotomicroscópio Zeiss - II.

V - RESULTADOS

RESULTADOS

RESULTADOS DA PRIMEIRA ETAPA DO EXPERIMENTO

1 - Índices de Placa (IP)

A avaliação dos possíveis efeitos moduladores do Levamisole na evolução da doença gengival inflamatória realizada através do Índice de Placa (IP) segundo SILNESS, J. & LOE, H., 1964, apresentou os resultados expressos nas Tabelas 1.1, 1.2, 1.3 e 1.4.

A Tabela 1.5 mostra os resultados da análise de variância dos Índices de Placa relativos ao 42º dia.

O Gráfico 1, expressa as variações das médias dos Índices de Placa dos diferentes grupos, durante as 6 (SEIS) semanas consecutivas desta etapa do experimento.

TABELA 1.1 - Índice de Placa de 12 meninos do Grupo A durante 6 (seis) semanas consecutivas.

DIAS GRUPO A	0	7	14	21	28	35	42
1	1,37	1,95	1,83	1,83	1,58	2,12	2,41
2	0,08	1,25	1,66	0,95	1,00	1,33	1,16
3	2,16	2,58	2,37	2,12	2,70	2,25	2,83
4	2,16	2,00	1,62	1,41	1,41	2,04	2,12
5	1,12	0,95	1,45	0,79	1,75	1,20	1,70
6	1,45	1,66	1,70	1,83	2,00	1,83	2,08
7	2,04	0,79	1,25	1,50	1,62	1,58	2,12
8	1,79	1,95	1,75	1,70	1,83	2,16	2,16
9	1,83	1,95	1,54	1,41	1,83	1,45	1,33
10	1,20	0,83	2,08	1,41	1,87	2,00	2,33
11	1,87	1,12	1,25	1,20	1,50	1,45	1,41
12	1,75	1,54	1,70	1,79	2,20	2,20	2,20
INDICE MÉ- DIO SEMA- NAL	1,56	1,54	1,68	1,49	1,77	1,80	1,98

TABELA 1.2 - Índice de Placa de 12 meninos do Grupo B durante 6 (seis) semanas consecutivas

DIAS GRUPO B	0	7	14	21	28	35	42
1	1,70	1,41	1,75	1,58	1,66	2,33	2,20
2	1,45	1,83	1,41	1,83	1,37	2,16	2,25
3	1,33	2,20	1,33	1,20	1,58	1,41	1,58
4	1,54	0,95	0,95	1,29	1,37	1,29	1,41
5	1,58	1,58	1,12	1,12	1,29	1,45	1,54
6	2,08	1,87	1,37	1,29	1,70	1,75	1,50
7	2,16	2,16	1,70	2,25	1,91	2,54	2,54
8	1,54	2,12	2,00	2,16	2,41	2,33	2,16
9	1,58	1,91	1,75	1,50	1,87	1,00	1,25
10	1,37	1,29	1,12	1,12	1,12	1,12	1,12
11	1,79	1,79	1,25	1,20	1,58	1,16	1,25
12	2,16	1,54	1,62	2,25	2,33	2,08	2,16
ÍNDICE MÉ- DIO SEMA- NAL	1,69	1,72	1,44	1,56	1,68	1,71	1,74

TABELA 1.3 - Índice de Placa de 12 meninos do Grupo C durante 6 (seis) semanas consecutivas

DIAS GRUPO C	0	7	14	21	28	35	42
1	1,04	0,29	0,66	1,00	0,83	0,58	0,79
2	1,08	1,62	1,62	1,54	1,62	1,45	1,62
3	2,25	2,04	2,50	2,20	2,66	2,37	2,41
4	0,91	0,70	1,04	1,08	0,87	0,91	1,12
5	2,29	2,04	2,41	2,08	1,95	2,04	2,33
6	1,62	1,54	1,62	2,12	2,00	2,12	2,12
7	2,37	1,58	2,12	2,08	2,16	2,37	2,33
8	2,45	2,50	2,62	2,66	2,75	2,66	2,62
9	1,95	2,29	2,16	2,08	2,41	2,62	2,70
10	1,62	0,75	1,45	1,37	1,45	1,75	0,95
11	1,83	1,91	1,91	1,58	1,58	2,04	2,04
12	1,62	1,20	2,20	2,20	1,75	1,75	1,83
ÍNDICE MÉ- DIO SEMA- NAL	1,75	1,53	1,85	1,83	1,83	1,88	1,90

TABELA 1.4 - Índice de Placa de 12 meninos do Grupo D durante 6 (seis) semanas consecutivas

DIA GRUPO D	0	7	14	21	28	35	42
1	1,04	1,04	1,04	1,04	0,83	0,83	0,91
2	2,41	2,41	2,37	2,37	2,25	2,25	2,25
3	2,08	1,87	1,75	1,75	1,70	1,83	1,75
4	1,29	1,37	1,16	1,16	1,08	1,12	1,08
5	1,29	1,25	1,25	1,25	1,04	1,08	0,75
6	1,75	1,54	1,37	1,37	1,08	1,20	1,08
7	1,16	1,37	1,33	1,33	1,33	1,25	1,12
8	2,25	2,25	2,16	2,20	2,16	2,20	2,08
9	1,41	1,41	1,37	1,37	1,08	1,08	1,12
10	2,25	2,16	2,04	2,04	1,75	1,75	1,66
11	2,25	2,00	1,87	1,87	2,16	2,04	1,91
12	1,41	1,37	1,25	1,25	1,20	1,12	1,08
ÍNDICE MÉ- DIO SEMA- NAL	1,71	1,67	1,58	1,58	1,47	1,47	1,39

TABELA 1.5 - Análise de Variância dos Índices de Placa relativos ao 42º dia dos Grupos A, B, C e D apresentados nas Tabelas 1.1, 1.2, 1.3 e 1.4.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
MEDICAMENTO (M)	1	1,6725	1,6725	5,81
RASPAGEM (R)	1	0,5547	0,5547	1,93
INTERAÇÃO M x R	1	0,2107	0,2107	0,73
TRATAMENTO	3	2,4379	0,8126	2,82
RESIDUO	44	12,6621	0,2877	
TOTAL	47			

C.V. = Causas de Variação

G.L. = Grau de Liberdade

S.Q. = Soma dos Quadrados

Q.M. = Quadrado Médio

F (1,44) 5% = 4,06

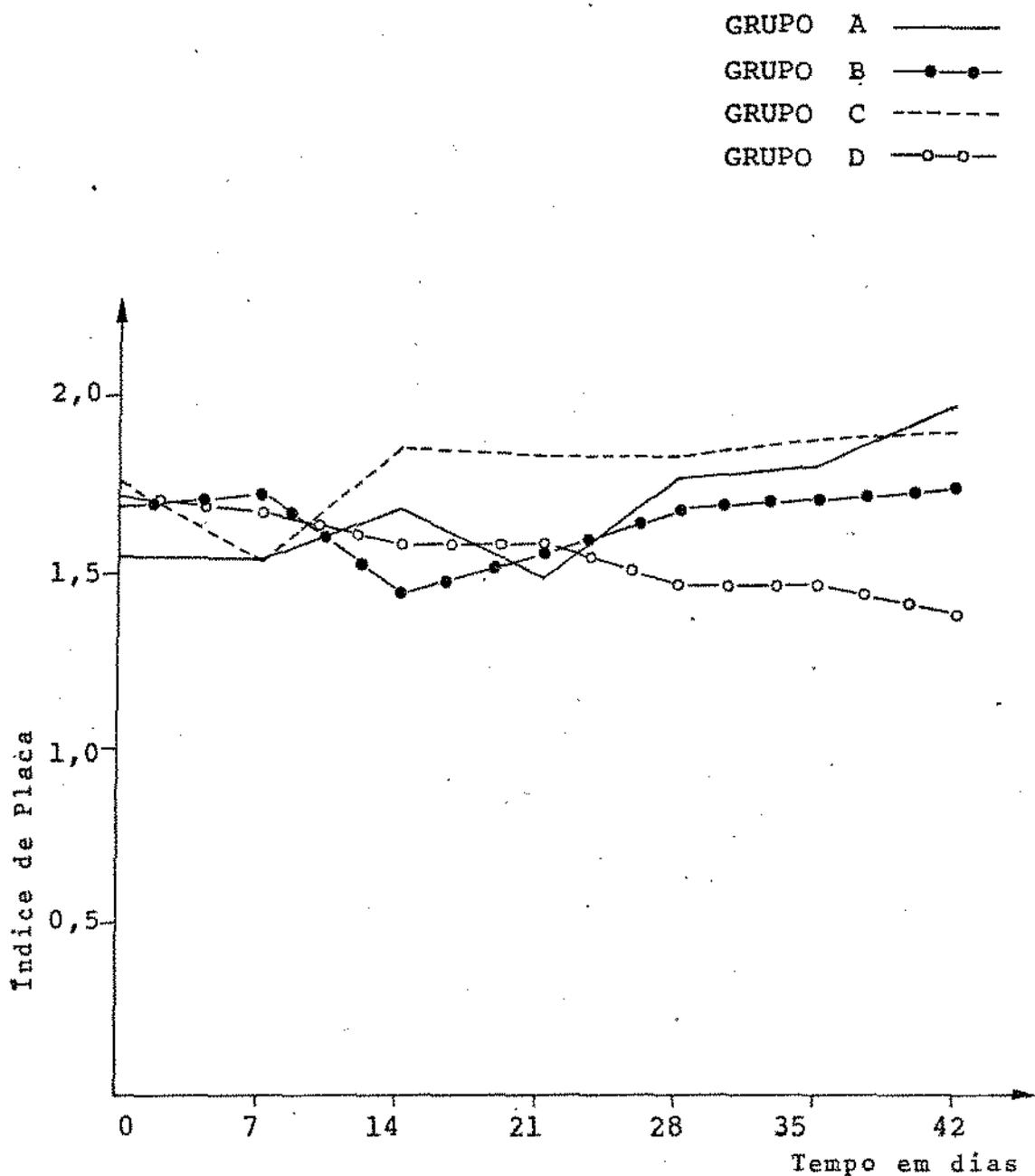


GRÁFICO 1 - Gráfico dos Índices de Placa em média de 48 me
 ninos, divididos em 4 (quatro) grupos de 12 me
 ninos, durante 6 (seis) semanas consecutivas.

2 - Índice Gengival (IG)

A evolução da doença gengival inflamatória nos 4 grupos de pacientes foi avaliada através do Índice Gengival (IG) segundo LOE, H. & SILNESS, J., 1963, e os resultados estão expressos nas Tabelas 2.1, 2.2, 2.3 e 2.4.

Os resultados da análise de variância dos Índices Gengivais (IG) relativos ao 42º dia, estão mostrados na Tabela 2.5.

O Gráfico 2, expressa as variações das médias do Índice Gengival dos diferentes grupos durante 6 (seis) semanas consecutivas desta etapa do experimento.

TABELA 2.1 - Índice Gengival de 12 meninos do Grupo A durante 6 (seis) semanas consecutivas

DIAS GRUPO A	0	7	14	21	28	35	42
1	1,00	0,75	0,54	0,45	0,58	0,62	1,00
2	0,62	0,87	0,37	0,20	0,45	0,41	0,33
3	1,83	1,29	1,33	1,04	0,91	0,95	1,37
4	1,62	1,16	1,08	0,62	1,04	0,95	1,16
5	0,45	0,45	0,20	0,25	0,29	0,54	0,83
6	1,95	1,95	2,29	1,87	2,20	2,37	2,16
7	1,45	0,87	0,95	1,08	0,91	0,87	1,20
8	1,58	0,95	0,83	0,87	1,12	1,66	1,66
9	1,16	1,12	0,95	0,58	0,75	0,83	0,91
10	1,58	1,00	0,91	0,70	0,79	0,95	1,25
11	1,16	0,79	0,83	0,37	0,50	0,58	0,37
12	1,29	1,12	0,75	0,83	0,91	0,91	1,04
ÍNDICE MÉ- DIO SEMA- NAL	1,30	1,02	0,91	0,73	0,87	0,97	1,10

TABELA 2.2 - Índice Gengival de 12 meninos do Grupo B durante 6 (seis) semanas consecutivas.

DIAS	0	7	14	21	28	35	42
GRUPO B							
1	1,50	1,16	0,54	0,70	0,58	1,04	1,08
2	1,70	1,25	1,37	1,08	1,70	1,33	1,29
3	1,20	0,79	0,54	0,58	0,54	0,62	0,58
4	1,16	0,79	0,45	0,83	0,70	0,83	0,87
5	1,12	0,91	0,79	0,58	0,54	0,62	0,50
6	1,91	1,29	1,12	0,87	1,33	1,33	1,16
7	1,58	1,58	1,08	1,29	1,08	1,37	1,37
8	1,45	0,79	1,12	0,95	1,04	0,83	0,91
9	1,00	1,08	1,25	1,04	1,08	1,04	0,54
10	1,12	0,75	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79
11	1,66	1,16	1,70	1,29	1,62	1,45	1,45
12	1,58	1,00	0,95	0,62	0,95	0,70	0,70
ÍNDICE MÉDIO SEMANAL	1,41	1,04	0,97	0,88	0,99	0,99	0,93

TABELA 2.3 - Índice Gengival de 12 meninos do Grupo C durante 6 (seis) semanas consecutivas.

DIAS GRUPO C	0	7	14	21	28	35	42
1	0,58	0,58	0,54	0,45	0,62	0,41	0,62
2	1,29	1,04	1,04	0,83	0,87	1,04	1,37
3	1,50	1,29	0,83	1,04	1,33	1,41	1,41
4	1,08	1,00	0,75	1,00	0,54	0,54	0,87
5	1,70	1,16	1,12	1,25	1,33	1,20	1,29
6	1,41	1,29	1,20	1,50	1,37	1,41	1,41
7	2,12	1,79	1,37	1,37	1,83	1,70	1,75
8	2,33	2,33	1,95	2,08	2,04	2,00	2,20
9	2,00	1,79	0,95	1,58	1,37	1,41	1,29
10	0,95	0,75	0,58	0,33	0,37	0,45	0,41
11	1,70	1,87	1,45	1,66	1,66	1,70	1,54
12	1,29	1,29	0,95	0,95	1,08	0,91	1,00
ÍNDICE MÉ DIO SEMA NAL	1,49	1,34	1,06	1,17	1,20	1,18	1,26

TABELA 2.4 - Índice Gengival de 12 meninos do Grupo D durante 6 (seis) semanas consecutivas.

DIAS GRUPO D	0	7	14	21	28	35	42
1	1,04	1,04	1,04	1,04	0,83	0,83	0,91
2	1,66	1,66	1,62	1,62	1,50	1,45	1,45
3	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75	1,75	1,70
4	1,33	1,33	1,20	1,20	1,08	1,08	1,12
5	0,95	0,95	0,95	0,95	0,83	0,83	0,75
6	1,25	0,91	0,75	0,75	0,50	0,62	0,50
7	0,75	0,87	0,75	0,75	0,75	0,70	0,70
8	1,70	1,70	1,66	1,75	1,70	1,62	1,58
9	1,16	1,04	1,04	1,04	0,83	1,00	0,95
10	1,45	1,45	1,50	1,50	1,33	1,50	1,25
11	1,66	1,54	1,50	1,50	1,41	1,41	1,29
12	0,83	1,04	0,95	0,95	0,87	0,83	0,75
ÍNDICE MÉ DIO SEMA NAL	1,29	1,27	1,22	1,23	1,11	1,13	1,07

TABELA 2.5 - Análise de variância dos Índices Gengivais relativos ao 42º dia dos Grupos A, B, C e D apresentados nas Tabelas 2.1, 2.2, 2.3 e 2.4.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
TRATAMENTO	3	0,6454	0,2151	1,15
RESIDUO	44	8,2015		
TOTAL	47			

C.V. = CAUSAS DE VARIAÇÃO

G.L. = GRAU DE LIBERDADE

S.Q. = SOMA DOS QUADRADOS

Q.M. = QUADRADO MÉDIO

$F(3,44) 5\% = 2,82$

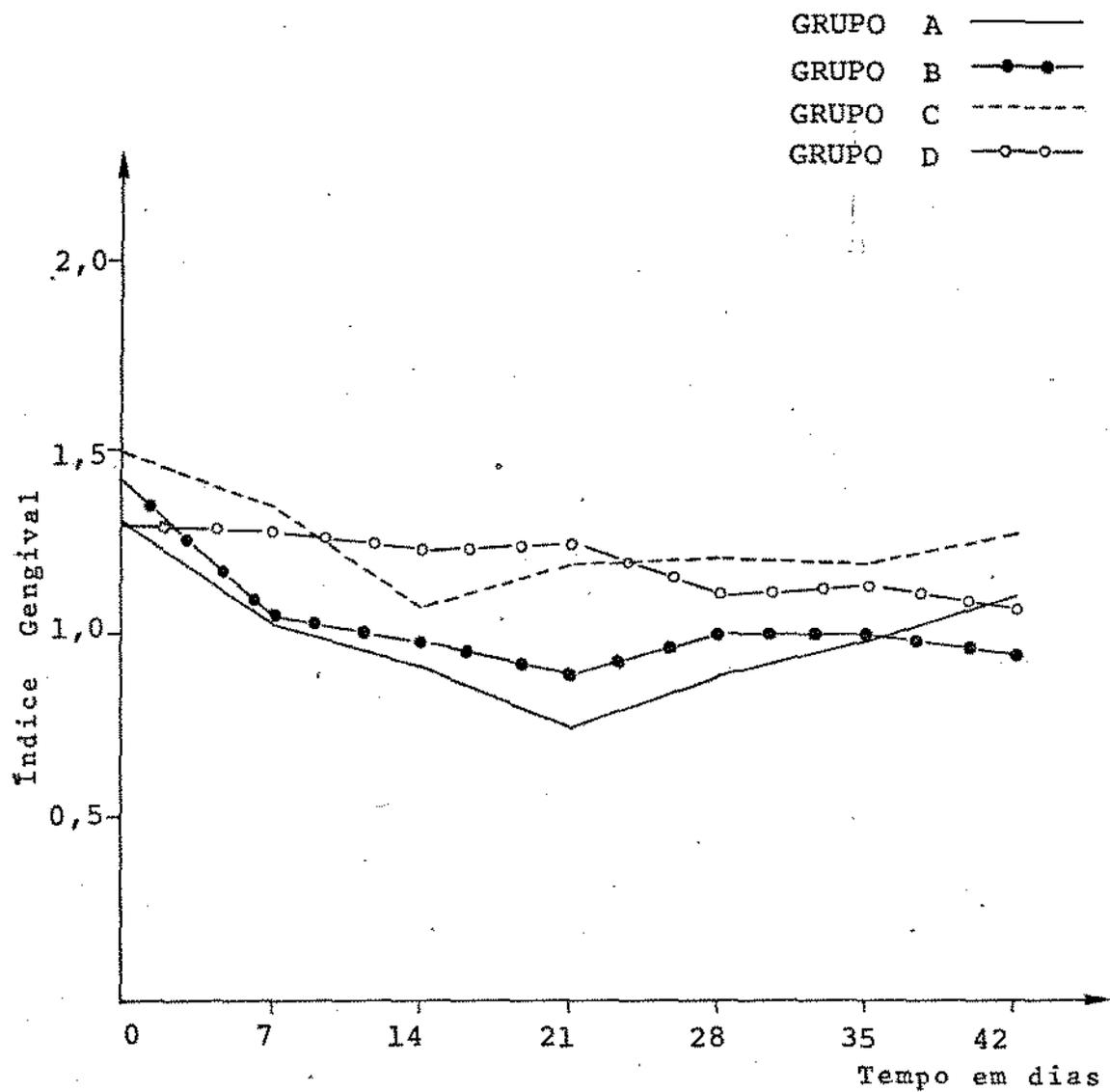


GRÁFICO 2 - Gráfico dos Índices Gengivais em média de 48 me-
 ninos, divididos em 4 (quatro) grupos de 12 me-
 ninos, durante 6 (seis) semanas consecutivas.

3 - Exame Hematológico

A contagem total de glóbulos brancos por milímetro cúbico de sangue, a contagem diferencial dos glóbulos brancos, assim como a distribuição percentual dos leucócitos foi realizada em laboratório especializado e apresentou, nos diferentes grupos de pacientes, os valores expressos nas Tabelas 3.1, 3.2, 3.3.

Ressalte-se que este exame foi realizado no 42º dia da 1ª etapa do tratamento.

TABELA 3.1 - Contagem de leucócitos por mm^3 em 6 pacientes de cada grupo (A, B, C, D) no 42º dia.

GRUPO	CONTAGEM DE LEUCÓCITOS						TOTAL
A	6.000	17.000	5.000	4.300	9.000	8.800	50.100
B	9.000	9.000	3.000	5.000	7.800	9.000	42.800
C	3.600	6.000	11.000	8.000	6.600	6.600	41.800
D	8.600	16.000	12.000	8.000	10.000	7.300	61.900

TABELA 3.2 - Contagem de cada tipo de leucócito por mm^3 em 6 pacientes de cada grupo (A, B, C, D) no 42º dia.

GRUPO	NEUTRÓFI LO	LINFÓCI TO	BASÓFILO	EOSINÓFI LO	MONÓCITO	TOTAL LEUCÓCI TOS mm^3
A	29.220	13.268	198	4.672	2.742	50.100
B	21.668	17.018	0	1.944	2.170	42.800
C	19.358	18.136	0	2.250	2.056	41.800
D	34.870	18.751	100	5.425	2.754	61.900

TABELA 3.3 - Distribuição percentual de cada tipo de leucócito em 6 pacientes de cada grupo.

GRUPO	NEUTRÓFILO	LINFÓCITO	BASÓFILO	EOSINÓFILO	MONÓCITO
A	52,33	32,00	0,50	10,00	5,16
B	48,66	41,83	0,00	4,66	4,83
C	45,00	44,83	0,00	5,33	4,83
D	54,66	32,00	0,08	8,33	4,83

FAIXAS NORMAIS para a idade entre 11 e 15 anos

Neutrófilo = 55,0

Linfócito = 36,0

Basófilo = 0,5

Eosinófilo = 2,0

Monócito = 5,0

RESULTADOS DA SEGUNDA ETAPA DO EXPERIMENTO

4- Índice de Placa

5- Índice Gengival

Nesta segunda etapa, os IP e IG foram obtidos nos dias 0, 14 e 28, isto é, imediatamente anterior ao início de um intensivo programa de escovação, remoção mecânica e controle químico de placas (dia 0); 14 dias após este rigoroso controle diário de placa (dia 14); e no dia 28, ou seja, após um período de 2 semanas de completa abstenção de escovação dental ou qualquer outro meio de higienização bucal.

Os Índices de Placa de cada paciente, de cada grupo estão expressos nas Tabelas 4.1, enquanto que as médias desses índices, em cada grupo, estão apresentados na Tabela 4.2.

Da mesma forma, os Índices Gengivais, individuais e por grupo estão expressos na Tabela 5.1, enquanto que as médias desses índices, em cada grupo, estão apresentadas na Tabela 5.2.

Os Gráficos 3 e 4 permitem uma visualização mais compreensiva das oscilações desses Índices de Placa e Gengival, nos diferentes grupos de pacientes.

Para complementar melhor o estudo da evolução da inflamação gengival nos diferentes grupos, foram feitas fotografias coloridas de cada paciente, nos dias 14 e 28. As figuras 2 e 3 mostram os aspectos clínicos da gengiva de um paciente do Grupo E, nos dias 14 e 28. A Figura 2 mostra o aspecto clínico da gengiva após 14 dias de intensa escovação e controle de placa, enquanto a Figura 3 foi feita no dia 28, isto é, após 2 (duas) semanas de total ausên

cia de qualquer medida de higienização bucal. Esta Figura 3 mostra ainda a intensidade da inflamação da gengiva, superior anterior bucal, instantes antes de ser feita a biópsia.

As Figuras 4 e 5, 6 e 7, 8 e 9, mostram os aspectos das gengivas nos dias 14 e 28, de pacientes dos Grupos F, G e H, respectivamente.

TABELA 4.1 - Índice de Placa na Fase 2 de 12 meninos sendo 3 meninos do Grupo E, 3 do Grupo F, 3 do Grupo G, 3 do Grupo H, relativos aos dias 0, 14, e 28.

		DIAS		
		0	14	28
GRUPOS				
E	{ 1	2,00	0,62	1,04
	{ 2	1,04	0,04	0,87
	{ 3	1,75	0,25	0,87
F	{ 1	1,29	0,00	1,08
	{ 2	0,66	0,08	0,87
	{ 3	1,04	0,08	0,87
G	{ 1	1,66	0,41	1,70
	{ 2	0,50	0,08	0,87
	{ 3	1,95	0,25	1,58
H	{ 1	0,75	0,12	0,91
	{ 2	1,62	0,45	1,33
	{ 3	0,79	0,12	0,87

TABELA 4.2 - Médias dos Índices de Placa na Fase 2 relati
va aos dados registrados na Tabela 4.1

GRUPOS	DIAS		
	0	14	28
E	1,59	0,30	0,92
F	0,99	0,05	0,94
G	1,37	0,24	1,38
H	1,05	0,23	1,03

TABELA 5.1 - Índice Gengival na Fase 2 de 12 meninos, sendo 3 meninos do Grupo E, 3 do Grupo F, 3 do Grupo G e 3 do Grupo H, relativo aos dias 0, 14 e 28.

		DIAS		
GRUPOS		0	14	28
E	1	1,37	0,45	0,54
	2		0,12	0,25
	3		0,37	0,62
F	1	0,66	0,12	0,37
	2		0,08	0,12
	3		0,12	0,33
G	1	1,58	0,45	0,83
	2		0,16	0,45
	3		0,12	0,50
H	1	0,25	0,08	0,33
	2		0,45	0,66
	3		0,16	0,33

TABELA 5.2 - Média dos Índices Gengivais na Fase 2 relati
va aos dados registrados na Tabela 5.1.

GRUPOS	DIAS		
	0	14	28
E	0,90	0,31	0,47
F	0,70	0,10	0,27
G	1,06	0,24	0,59
H	0,60	0,23	0,44

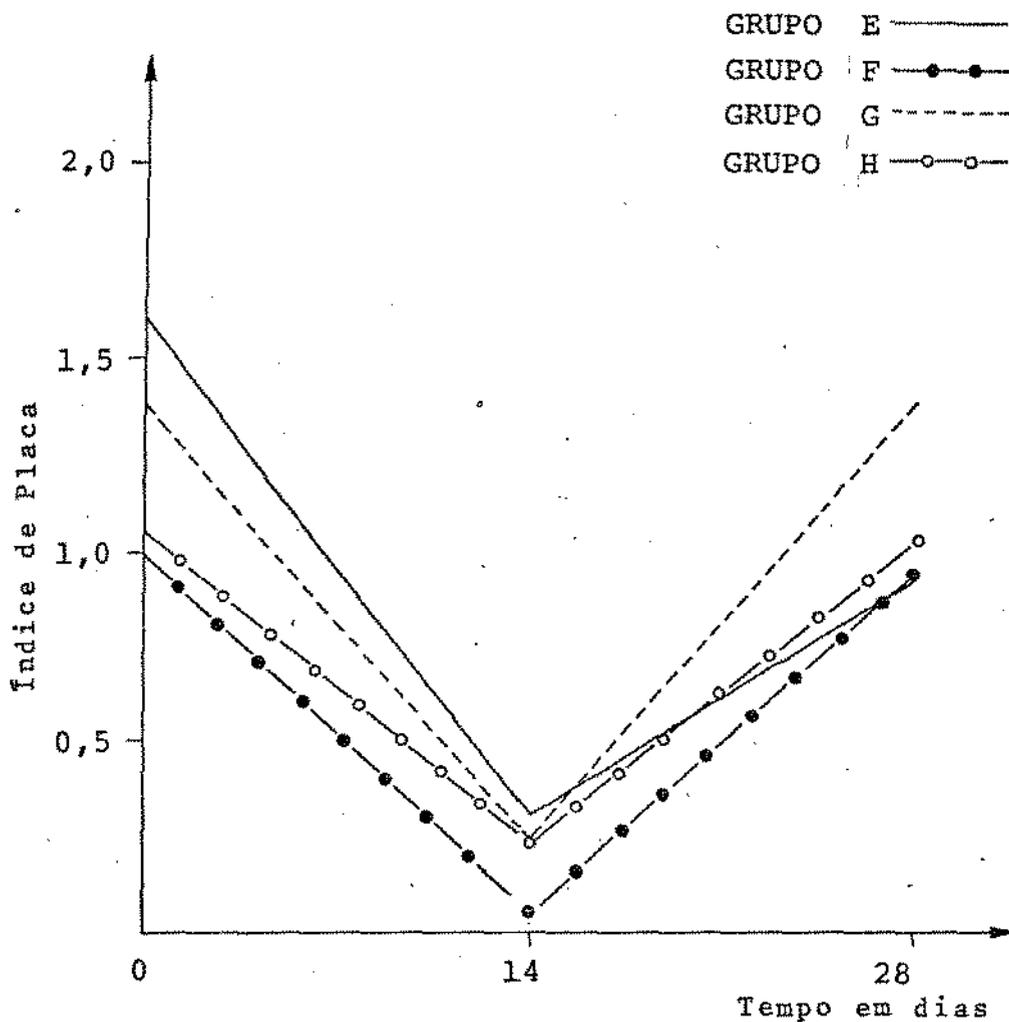


GRÁFICO 3 - Gráfico dos Índices de Placa em média de 12 me ni nos, divididos em 4 (quatro) grupos de 3 me ni nos, durante o período de 28 dias.

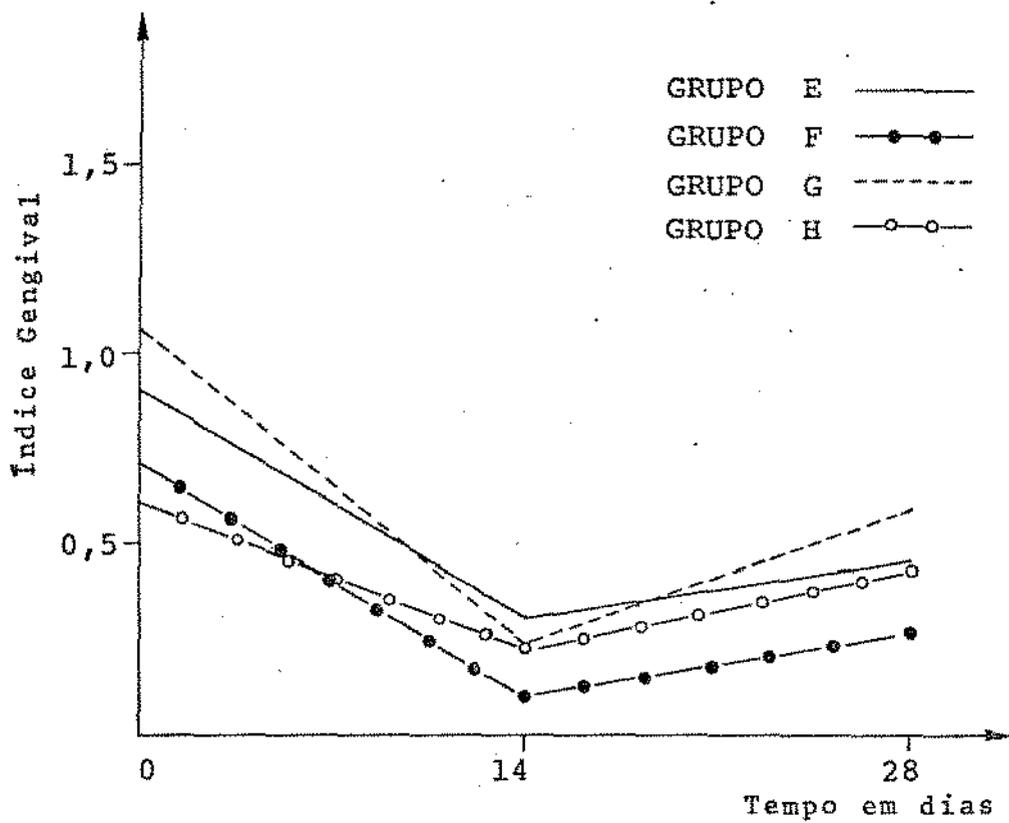


GRÁFICO 4 - Gráfico dos Índices Gengivais em média de 12 meninos, divididos em 4 (quatro) grupos de 3 meninos, durante o período de 28 dias.



FIGURA 2 - Aspecto clínico gengival de representante do Grupo E no 149 dia.

FIGURA 3 - Aspecto clínico gengival do mesmo paciente no 289 dia. A seta indica a região onde se efetuou a biópsia.



FIGURA 4 -Aspecto clínico gengival de representante do Grupo F no 149 dia.

FIGURA 5 -Aspecto clínico gengival do mesmo paciente no 289 dia. A seta indica a região onde se efetuou a biópsia.



FIGURA 6 -Aspecto clínico gengival de representante do Grupo C no 149 dia.

FIGURA 7 -Aspecto clínico gengival do mesmo paciente no 289 dia. A seta indica a região onde se efetuou a biópsia.



FIGURA 8 -Aspecto clínico gengival de representante do Grupo H no 149 dia.

FIGURA 9 -Aspecto clínico gengival do mesmo paciente no 289 dia. A seta indica a região onde se efetuou a biópsia.

6 - Exames Microscópicos

O exame microscópico das secções de gengiva dos pacientes dos 4 (Quatro) grupos, revelou a presença constante de um processo inflamatório crônico, com discretas variações, não sô entre gengivas de grupos diferentes, como também entre diferentes gengivas de um mesmo grupo. Isto é, os aspectos histopatológicos encontrados nas gengivas dos pacientes dos 4 grupos não mostraram variações significativas que permitissem caracterizar qualquer dos grupos. (Fig. 10)

Basicamente, os achados microscópicos foram repetitivos em quase todas as secções e com pequenas variações de intensidade se constituíam em proliferação e espessamento do epitélio tanto da gengiva marginal como da gengiva aderida; uma camada superficial de paraqueratose; ausência de camada granulosa; aumento do número de células da camada espinhosa, expansões digitiformes irregulares e uma membrana basal relativamente íntegra e uniforme. (Fig. 10)

Por entre as células epiteliais pode-se notar uma discreta infiltração de células inflamatórias. No tecido conjuntivo foram encontrados todos os detalhes que caracterizam microscopicamente um processo inflamatório crônico. Com pequenas variações de intensidade, os tecidos afetados incluíam áreas de destruição tecidual com substituição de extensas áreas da lâmina própria normal da gengiva, por uma densa infiltração de células inflamatórias. (Fig. 12)

Paralelamente, ou em contiguidade a estas áreas difusas ou focais de degradação do colágeno, podia-se observar a presença de feixes bem estruturados e entremeados de fibroblastos em intensa atividade proliferativa, assim como uma moderada proliferação vascular. (Fig. 12)

O infiltrado inflamatório encontrado em todos os grupos apresenta uma população variável de linfócitos, plasmócitos e macrófagos. (Fig. 12)

Embora fossem encontradas difusamente com maior frequência na gengiva marginal, estas células inflamatórias foram também observadas como focos isolados em toda extensão da gengiva inserida. (Fig. 10)

A coloração pelo Azul de Toluidina permitiu identificar, de maneira clara e fácil, alguns detalhes morfológicos de diversas estruturas, particularmente dos mastócitos que aparecem intensamente metacromáticos. O número de mastócitos em todos os grupos era relativamente alto, não apresentando variações significantes em qualquer dos grupos de pacientes. (Fig. 11)

Algumas dessas células mostravam uma granulação metacromática integralmente contida no seu citoplasma, enquanto outras apresentavam-se alteradas com uma evidente liberação dos seus grânulos. (Fig. 13)

Em resumo, os achados microscópicos mostravam consistentemente a ocorrência de fenômenos de proliferação fibroblástica e angioblástica, paralelamente à formação e manutenção de um denso infiltrado de plasmócitos, macrófagos, e linfócitos em diferentes estágios de transformação blástica. (Fig. 12)



FIGURA 10- Detalhes macroscópicos das gengivas de pacientes dos quatro grupos, no 28º dia da 2ª etapa do experimento. Col. H.E.; A.O. - 25 X.

- E- Pacientes do grupo tratado com Levamisole nas 2 etapas
- F- Pacientes do grupo tratado com Levamisole na 1ª etapa.
- G- Pacientes do grupo tratado com Levamisole na 2ª etapa.
- H- Pacientes do grupo não tratado.

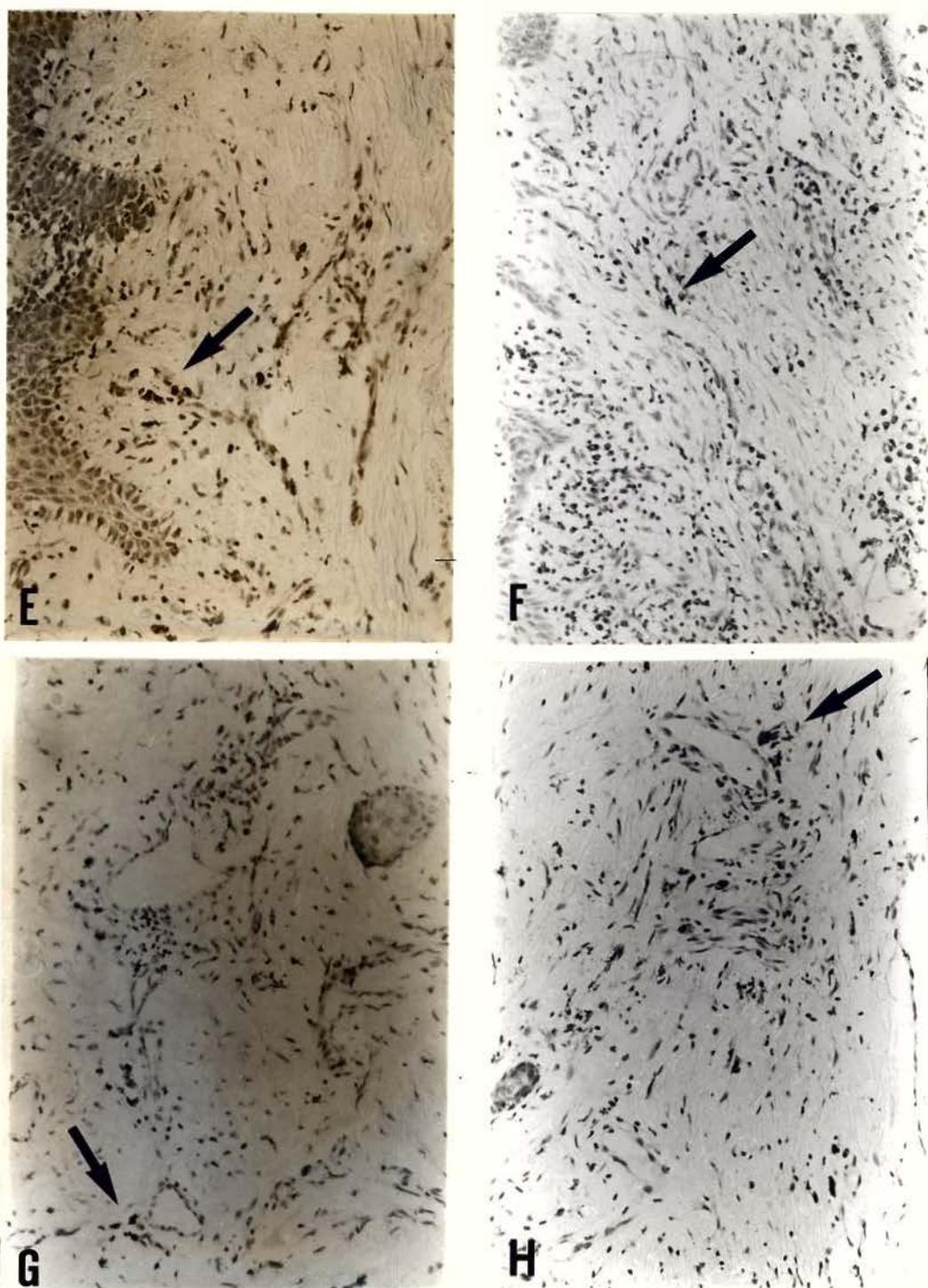


FIGURA 11- Detalhes microscópicos do tecido gengival corado pelo Azul de Toluidina, para identificação de mastócitos, indicado pelas setas. A.O. - 63 X.

E- Pacientes do Grupo tratado com Levamisole nas 2 etapas.
 F- Pacientes do Grupo tratado com Levamisole na 1^ª etapa.
 G- Pacientes do Grupo tratado com Levamisole na 2^ª etapa.
 H- Pacientes do Grupo não tratado.

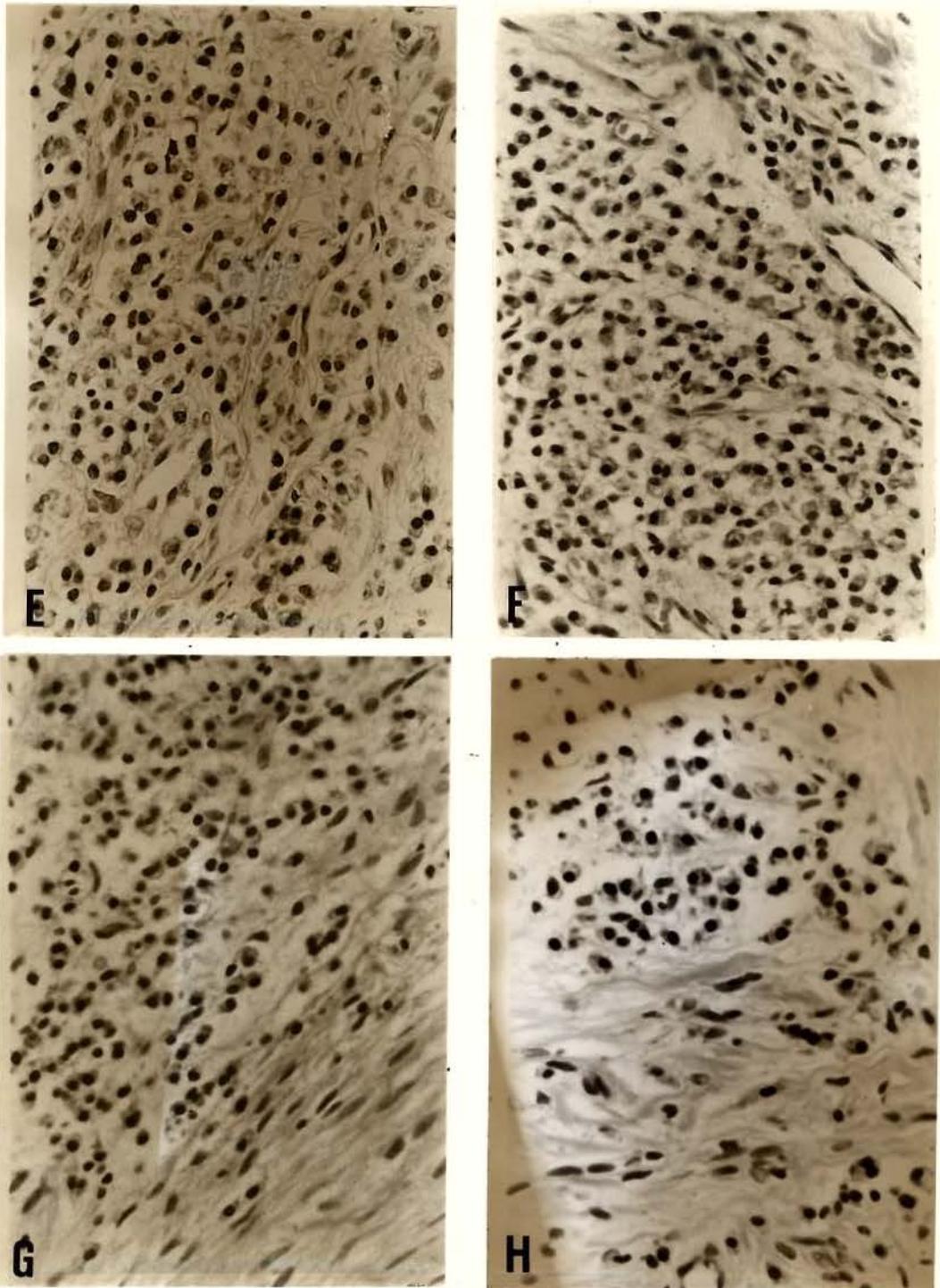


FIGURA 12-Detalhes microscópicos das gengivas de pacientes dos quatro grupos, no 28º dia da 2ª etapa do experimento. col. H.E.; A.O. - 160 X.

- E-Paciente do grupo tratado com Levamisole nas 2 etapas.
- F-Paciente do grupo tratado com Levamisole na 1ª etapa.
- G-Paciente do grupo tratado com Levamisole na 2ª etapa.
- H-Paciente do grupo não tratado.

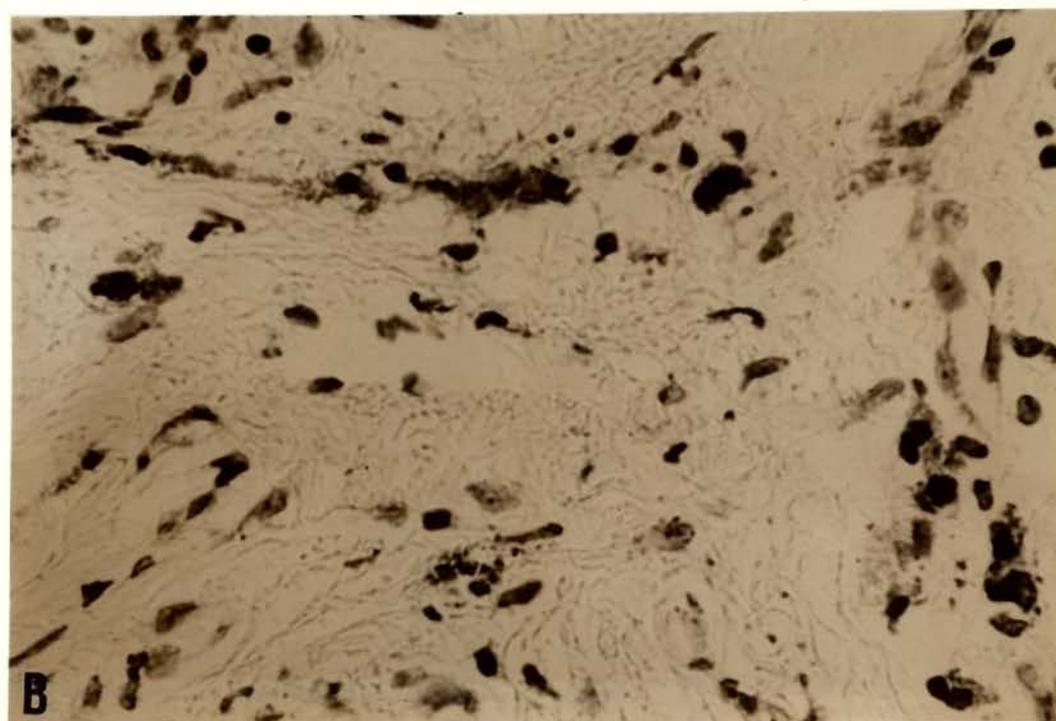
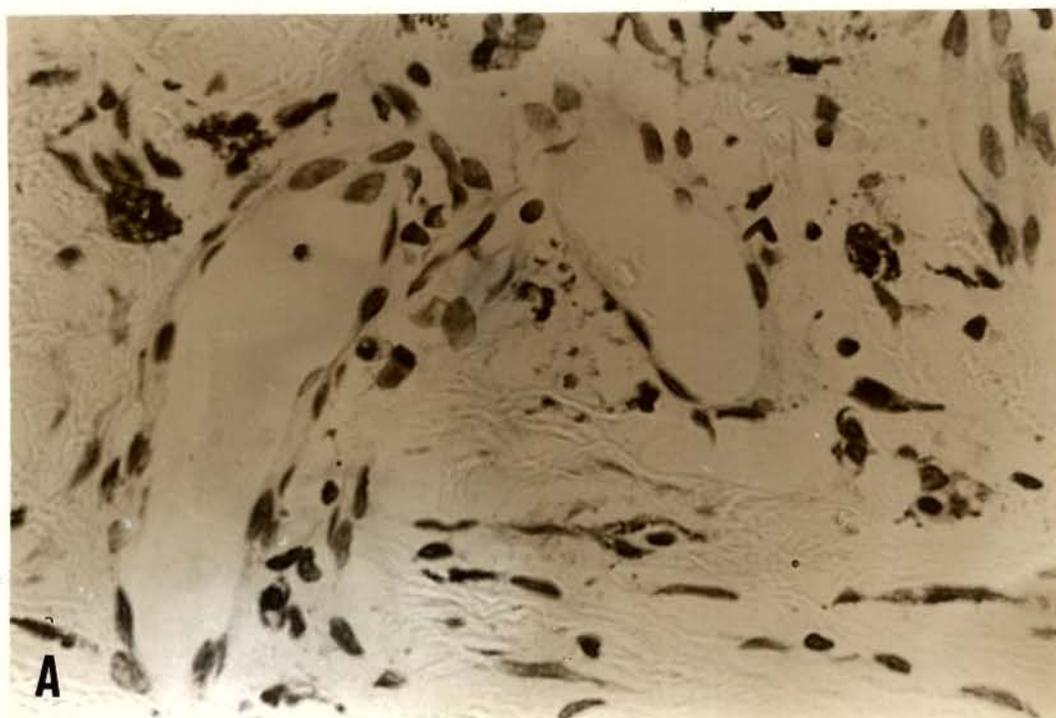


FIGURA 13- Col. Azul de Toluidina; A.O. - 160 X.

A- Mastócito com granulações metacromáticas no citoplasma.

B- Liberação dos grânulos citoplasmáticos no interstício conjuntivo.

VI- DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

Primeiramente serão discutidos os resultados obtidos na etapa inicial do tratamento, analisando-se as variações dos Índices de Placa (IP) e dos Índices Gengivais (IG), do dia zero (0) ao dia 42, dos diferentes grupos (Tabelas 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 2.1, 2.2, 2.3 e 2.4).

Observando-se os índices médios, no início (dia 0), no meio (dia 21) e no fim (dia 42) pode-se notar que os 4 grupos tiveram uma redução no IG por volta do 21º dia, sendo que os grupos A, B e C tiveram uma redução respectivamente de 0,57, 0,53, e 0,32, enquanto no grupo D foi muito discreta (apenas 0,06). Do dia 21 ao dia 42, o grupo D manteve a mesma discreta redução, enquanto os grupos A, B e C tiveram seus IG aumentados de 0,37, 0,05 e 0,09, respectivamente.

Comparando-se os IGs dos grupos A e B poder-se-ia dizer que o tratamento com Levamisole promoveu, a partir do 21º dia do tratamento, uma intensificação da resposta inflamatória gengival dos pacientes do grupo A, o que confirma os achados de IVANYI & LEHNER (1977), que utilizando pacientes adultos (19 a 54 anos) portadores de gengivite, observaram que o tratamento com Levamisole provocava um significativo aumento da resposta inflamatória gengival, enquanto os pacientes tratados com placebo não apresentavam muitas variações.

No presente trabalho, ambos os grupos tratados com Levamisole (A e C) mostraram do 21º ao 42º dias um aumento de ambos os Índices, gengival e de placa. Os grupos tratados com placebo, a partir do dia 21 não mostraram grandes variações. Os gráficos 1 e 2, permitem uma avaliação global desses índices nos 4 grupos.

Com relação aos Índices de placa, a análise de variância apresentada na Tabela 1.5 mostra que o valor de F, para medicamento é significativo ao nível de 5%.

Estes resultados permitem afirmar que a média relativa aos pacientes que receberam Levamisole foi significativamente maior do que a média relativa aos pacientes que receberam raspagem dentária. Com respeito à interação medicamento e raspagem, o resultado da análise não foi estatisticamente significativa.

A modulação da inflamação gengival avaliada através do IG, cuja análise de variância está apresentada na Tabela 2.5, mostra que o valor de F, para tratamento é não significativo ao nível de 5%. Este resultado permite afirmar que a média relativa aos pacientes tratados com Levamisole não foi significativamente maior do que a média relativa aos pacientes que receberam raspagem dental,

Exame Hematológico

Os resultados dos exames hematológicos não apresentaram qualquer evidência que se pudesse relacionar com o efeito dos tratamentos realizados. Pela Tabela 3.1, onde estão mostrados os números de leucócitos por pacientes e por grupos, existe uma variação muito grande, não só entre pacientes de um mesmo grupo, como entre os próprios grupos. Pelas Tabelas 3.2 e 3.3, também a variação é muito grande, tanto com relação aos valores absolutos de cada tipo de leucócito, como em relação aos percentuais. Em resumo, não se pode afirmar, com base nestes resultados, que os grupos tratados com o Levamisole tenham apresentado qualquer alteração significativa, tanto no número total como do número de algum tipo específico de leucócito, o que coincide exatamente com as observações de BUDTZ-JORGENSEN, ELLEGAARD, ELLEGAARD, JORGENSEN e KELSTRUP (1978).

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS DA SEGUNDA ETAPA

Decorridos 7 (sete) meses de intervalo, os pacientes selecionados para a segunda etapa, tiveram seus IP e IG novamente avaliados no dia em que foi reiniciado o experimento (dia zero), no dia 14, isto é, após 2 (duas) semanas de cuidadosa higienização bucal, e no dia 28, isto é, após outras 2 (duas) semanas de completa abstenção de qualquer procedimento de limpeza dental. Os dados apresentados nas Tabelas 4.1, 4.2, 5.1 e 5.2, assim como os Gráficos 3 e 4 permitem uma avaliação dos efeitos promovidos pelos tratamentos realizados. Apesar da redução do número da amostra, existem alguns resultados importantes. Primeiramente, pode-se observar que no dia 0 (zero), a média dos IG dos pacientes que haviam tomado Levamisole na 1^a etapa, e que agora formavam os grupos E e F, se somados (1,60) aproximam muito da soma das médias dos outros 2 (dois) grupos G e H (1,66) que não tomaram Levamisole na 1^a etapa. Isto significa que decorrido um intervalo, no caso, 7 (sete) meses, a inflamação gengival não apresentou variações que sugerissem algum tipo de modulação imunológica pelo Levamisole, nos grupos tratados. Por outro lado, através da análise dos IP e IG, nos dias 14 e 28, pode-se notar que estes índices baixaram uniformemente do dia 0 (zero) até o dia 14, devido a uma eficiente escovação e controle químico de placas. Do dia 14 ao dia 28, em que houve abstenção completa de escovação, os Índices aumentaram substancialmente, mostrando agora, que efetivamente, houve uma intensificação da resposta inflamatória nos pacientes tratados com Levamisole, o que é corroborado pelo trabalho.

Somando-se os IG do dia 28 dos 2 (dois) grupos tratados com Levamisole nesta 2^a etapa (E e G), obtem-se um IG de 1,06 contra 0,71 dos grupos não tratados (F e H). Paralelamente, o IP dos Grupos E e G, passaram de 0,54 no dia 14 para 2,30 no dia 28, enquanto nos grupos F e H, estes va

lores passaram de 0,28 (no dia 14) para 1,97 (no dia 28). A simples observação permite notar que o tratamento com Levamisole promoveu também um aumento do IP, muito maior do que ocorreu nos pacientes tratados com placebo.

Exame Histopatológico

As biópsias realizadas no dia 28 da 2^a etapa do experimento não mostraram detalhes histopatológicos que identificassem a ação do Levamisole nos grupos tratados. Isto é, embora clinicamente, os índices de placa e gengival mostrassem no dia 28, um aumento considerável em relação ao dia 14, notadamente nos 2 (dois) grupos tratados com Levamisole. Ao microscópio estes aumentos não puderam ser caracterizados. Os eventos histológicos envolvidos na resposta inflamatória eram típicos de um processo crônico e se faziam presentes em todas as secções de todas as biópsias. E estes caracteres repetitivos, com pequenas variações de intensidade, tornam inconsistentes quaisquer tentativas de se querer diferenciar um grupo do outro. As Figuras 10, 11 e 12 mostraram claramente tais detalhes.

VII- CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

- 1 - O tratamento de 24 pacientes jovens, portadores de gengivite, com Levamisole durante 42 dias, provocou uma diferença significativa no IP, em relação aos pacientes não tratados.
- 2 - O IG embora aumentasse consideravelmente do 21 ao 42º dia do experimento, apresentou, ao final da 1ª etapa do tratamento, valores que são não significantes ao nível de 5%.
- 3 - O tratamento com Levamisole durante 42 dias não provocou alterações no número de leucócitos do sangue periférico, detectáveis na contagem global de leucócitos.
- 4 - Embora o tratamento com Levamisole tivesse provocado uma intensificação do processo inflamatório gengival, não provocou uma modificação do seu caráter.

VIII- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAHN, A.N. Microbial potential in the etiology of periodontal disease. J. Periodont., 41:603, 1970.
- BARAM, P. & ARNOLD, L. Immunologic aspects of periodontal disease. J. Periodont., 41:617, 1970.
- BERGLUND, S.E. Immunoglobulins in human gingiva with specificity for oral bacteria. J. Periodont., 42:546, 1971
- BRUGMANS, J.; SCHUERMANS, V.; DE COOK, W.; THIENPONT, D.; JANSSEN, P.; VERHAEGEN, H.; VAN NIMMEM, L.; LOUWAGIE, A.C.; STEVENS, E. Restoration of host defense mechanisms in man by Levamisole. Life Sci., 13:1499, 1973.
- BUDTZ-JORGENSEN, E.; ELLEGAARD, B.; ELLEGAARD, J.; JORGENSEN, F.; KELSTRUP, J. The effect of Levamisole on experimental gingivitis in juvenile periodontitis. J. Periodont. Res., 13: 460, 1978.
- COHEN, S. & WINKLER, S. Cellular immunity and the Inflammatory response. J. Periodont., 45:348, 1974.
- GENCO, R.J.; MASHIMO, P.A.; KRYGIER, G.; ELLISON, S.A. Antibody-mediated effects on the periodontium. J. Periodont., 45:330, 1974.
- HORTON, J.E.; OPPENHEIM, J.J.; MERGENHAGEM, S.E. Elaboration of lymphotoxin by cultured human peripheral blood leukocytes stimulated with dental plaque deposits. Clin. expl. Immun., 13:383, 1973.
- _____; _____. A role for cell-mediated immunity in the pathogenesis of periodontal disease. J. Periodont., 45:351, 1974.
- IVANYI, L. & LEHNER, T. Stimulation of lymphocyte transformation by bacterial antigens in patients with periodontal disease. Archs oral Biol., 15:1089, 1970.

- _____ & _____. Lymphocyte transformation by sonicates of dental plaque in human periodontal disease. Arch oral Biol., 16:1117, 1971.
- _____ & _____. The effect of levamisole on gingival inflammation in man. Scand. J. Immun., 6: 219, 1977.
- _____ ; WILTON, J.M.A.; LEHNER, T. Cell-mediated immunity in periodontal disease: cytotoxicity, migration inhibition and lymphocyte transformation studies. Immunology, 22: 141, 1972.
- LEHNER, T.; WILTON, J.M.A.; CHALLACOMBE, S.J.; IVANYI, L. Sequential cell-mediated immune response in experimental gingivitis in man. Clin. expl. scand., 21:481, 1974
- LOE, H. & SILNESS, J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. Acta Odont.scand., 21:533, 1963.
- MACKLER, B.F.; ALTMAN, L.C.; ROSENSTREICH, D.L.; OPPENHEIM, J.J. Induction of lymphokine production by EAC and of blastogenesis by soluble mitogens during human B cell activation. Nature, 249: 834, 1974a.
- _____ ; WAHL, S.; _____ ; _____ ; MERGENHAGEN, S.E. Blastogenesis and lymphokine synthesis by T and B lymphocytes from patients with periodontal disease. Infect Immun., 10: 844, 1974b.
- MERGENHAGEN, S.E.; DE ARAUJO, W.C.; VARAH, E. Antibody to leptotrichia in human sera. Archs oral Biol., 10:29, 1965
- NISENGARD, R.J. Immediate hypersensitivity and periodontal disease. J. Periodont., 45: 344, 1974.
- _____. The role of immunology in periodontal disease. J. Periodont., 48: 505-16, 1977.
- _____ ; BEUTNER, E.H.; GAUTO, M. Immunofluorescence studies of IgE in periodontal disease. Ann. N. Y. Acad. Sci., 177: 39, 1971.
- _____ ; _____ ; HAZEN, S.P. Bacterial hypersensitivity

- and periodontal disease. J. Periodont., 39:46, 1968.
- _____; _____. Immunologic studies of periodontal disease. IV. Bacterial hypersensitivity and periodontal disease. J. Periodont., 39: 329, 1968.
- PAGE, R.C. & SCHROEDER, H.E. The pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease. Lab. Invest., 34: 235, 1976.
- PAYNE, W.A.; PAGE, R.C.; OGILVIE, A.L.; HALL, W.B. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. J. Periodont., 10:51, 1975
- PLATT, D.; CROSBY, R.G.; DALBOW, N.H. Evidence for the presence of immunoglobulins and antibodies in inflamed periodontal tissues. J. Periodont., 41:215, 1970.
- RANNY, R.R. & ZANDER, H.A. Allergic periodontal disease in sensitized squirrel monkeys. J. Periodont., 41:12, 1970
- RENOUX, G. & RENOUX, M. Effect immunostimulant d'un imidothiazole dans l'immunisation des souris contre l'infection par *Brucella abortus*. C. r. Acad. Sci., 272d:349, 1971.
- SCHLUGER, S.; YOUDELIS, R.A.; PAGE, R.C. Periodontal disease. Philadelphia, Lea & Febiger, 1977.
- SCHNEIDER, T.F.; TOTO, P.D.; GARGIULO, A.W.; POLLOCK, R.J. Specific bacterial antibodies in the inflamed human gingiva. Periodontics, 5:217, 1967.
- SCHROEDER, H.E. & PAGE, R.C. Lymphocyte-fibroblast interactions in the pathogenesis of inflammatory gingival disease. Experientia, 28:1228, 1972.
- SILNESS, J. & LOE, H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. Acta. odont. scand., 22:213, 1970.
- STEINBERG, A.I. Evidence for the presence of circulating antibodies to an oral spirochete in the sera of clinic patients. J. Periodont., 41: 213, 1970.

- _____ & GERSHOFF, S. Quantitative differences in spirochetal antibody observed in periodontal disease. J. Periodont., 39: 286, 1968.
- SYMOENS, J. & ROSENTHAL, M. Levamisole in the modulation of the immune response: The current experimental and clinical state. J. Reticuloendothel., 21:175, 1977.
- THIENPONT, D.; VANPARIJS, O.F.J.; RAEYMAEKKERS, A.H.M.; VAN DERBERK, J.; SCHELLENKENS, K.N.L.; JANSSEN, P.A.J. Tetramisole (R-8229) a new potent broad spectrum anthelmintic. Nature, 209: 1084, 1966.
- TRIPODI, D.; PARKS, L.C.; BRUGMANS, J. Drug-induced restoration of cutaneous delayed hypersensitivity in anergic patients with cancer. New Engl. J. Med., 289: 354, 1973
- VERHAEGEN, H.; DE CRÉE, J.; DE COCK, W.; VERBRUGGEN, F.. Levamisole and the immunoresponse. New Engl. J. Med., 289: 1148, 1973.
- WILLOUGHBY, D.A. & WOOD, C., eds. The history and development of levamisole. Forum immun., 1(1): 3-11, 1977.